

ANDREZZA BRAGA SOARES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO SEGMENTAR VENTRICULAR ESQUERDA DE CÃES
NATURALMENTE INFECTADOS COM LEISHMANIOSE VISCERAL: ASPECTOS
ECOCARDIOGRÁFICOS E HISTOPATOLÓGICOS**

**Teresina
Piauí – Brasil
2021**

ANDREZZA BRAGA SOARES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO SEGMENTAR VENTRICULAR ESQUERDA DE CÃES
NATURALMENTE INFECTADOS COM LEISHMANIOSE VISCERAL: ASPECTOS
ECOCARDIOGRÁFICOS E HISTOPATOLÓGICOS**

Tese a ser apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutorado em Ciência Animal.

Área de concentração: **Sanidade e Reprodução Animal**

Orientador: **Prof. Dr. Flávio Ribeiro Alves**

Teresina

Piauí – Brasil

2021

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Serviço de Processos Técnicos

S586a Silva, Andrezza Braga Soares da.
Avaliação da função segmentar ventricular esquerda de cães naturalmente infectados com leishmaniose visceral : aspectos ecocardiográficos e histopatológicos / Andrezza Braga Soares da Silva. – 2021.
89 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias, Teresina, 2021.

“Orientador: Prof. Dr. Flávio Ribeiro Alves.”

1. Cardiologia. 2. Cães. 3. Ecodopplercardiografia.
4. Deformação cardíaca. 5. Leishmaniose. 6. Histopatologia.
I. Título.

CDD 636.089

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO SEGMENTAR VENTRICULAR ESQUERDA DE CÃES
NATURALMENTE INFECTADOS COM LEISHMANIOSE VISCERAL: ASPECTOS
ECOCARDIOGRÁFICOS E HISTOPATOLÓGICOS**

ANDREZZA BRAGA SOARES DA SILVA

Tese aprovada em: 27 / 08 /2021

Banca Examinadora:

Banca examinadora:



Prof. Dr. Flávio Ribeiro Alves (Presidente) / DMV/CCA/UFPI



**Prof. Dr. Antônio Augusto Nascimento Machado Junior (Interno) /
DMV/CCA/UFPI**



Prof. Dr. Osmar Ferreira da Silva Filho (Externo) / NASSAU



Prof. Dr. Bruno Leandro Maranhão Diniz (Interno) / DCCV/CCA/UFPI



Prof. Dr. Francisco das Chagas Araújo Sousa (Externo) / UESPI

Epígrafe,

*“A evolução do homem passa, necessariamente,
pela busca do conhecimento”.*

Agradecimentos,

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por me proporcionar saúde e força para que possa enfrentar diariamente os desafios que me são propostos, de forma que consiga supera-los e obter bons resultados, assim como em tudo que me proponho a fazer.

Agradeço a minha família, avós, tios e primos. Em especial a meus pais, Soares e Socorro, às minhas irmãs, Larissa e Milena, por sempre me darem apoio em minhas decisões, e por sempre estarem ao meu lado em tudo que faço. São vocês a base do meu conhecimento, da minha educação e formação pessoal e profissional. Sempre me ensinaram o caminho do bem, da humildade e da dignidade. Vocês são o exemplo da minha vida, a quem devo tudo isso. Aos meus pais, faltam palavras para agradecer esse amor, onde muitas vezes se renunciaram aos seus sonhos, para que pudesse realizar os meus. Amo vocês!

À Universidade Federal do Piauí, minha segunda casa, que me proporciona excelentes materiais de estudo, ambientes acessíveis, confortáveis e bem equipados para o desenvolvimento de pesquisas. Também, ao corpo docente, fantásticos profissionais que participaram e participam da minha formação acadêmica, principalmente ao meu orientador, professor Dr. Flávio Ribeiro Alves. Professor este a quem devo muito respeito e admiração, e com quem tenho adquirido muito conhecimento na área profissional e como cidadão. Professor amigo, que me recebeu como sua orientanda e que acreditou e continua acreditando em mim, um exemplo a qual procuro seguir.

A banca examinadora na pessoa do professor Francisco das Chagas Araújo Sousa, professor Bruno Leandro Maranhão Diniz, professor Osmar Ferreira da Silva Filho e o professor Antonio Augusto Nascimento Machado Junior por aceitarem o convite e poderem contribuir com esta pesquisa e meu crescimento. A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA-UFPI), e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa durante o período de Doutorado.

Aos funcionários do Laboratório de Anatomia Animal do Centro de Ciências Agrária da Universidade Federal do Piauí e do setor de Diagnóstico por Imagem do Hospital Veterinário Universitário, locais onde foram realizados os trabalhos, por todo apoio durante este tempo. Sem vocês, certamente seria bem mais difícil.

Ao pessoal do Núcleo de Diagnóstico por Imagem Veterinário Especializado (NUDIVE), com quem convivo diariamente, tanto em momentos de trabalho, quanto em momentos de descontração.

Aos meus amigos tanto da universidade quanto de fora, onde não preciso citar nomes, pois são vários, mas são todos especiais, pois de alguma forma, direta ou indiretamente, participaram da construção deste momento, especialmente aos meus colegas de turma da graduação e da pós-graduação, pessoas que sei que sempre posso contar quando precisar.

À todos os colaboradores, alunos, técnicos e profissionais que participaram ativamente da execução desta proposta de tese, aos funcionários e médicos do Hospital Universitário por todo auxílio e participação na pesquisa. Ao Unidade de Vigilância em Zoonose por disponibilizazr e permitir a realização do experimento.

À todos meus amigos e namorado Leandro e sua família, por todo apoio e auxílio na minha vida cotidiana, sem vocês, os obstáculos seriam maiores, obrigada por me proporcionarem paz e amor.

A todos vocês, meus **SINCEROS AGRADECIMENTOS!**

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 Leishmaniose visceral canina (LVC)	20
2.2 O coração: aspectos morfofuncionais.....	24
2.3 Alterações morfofuncionais cardíacas na LVC	25
2.4 Métodos diagnósticos na cardiologia	27
2.5 Técnicas avançadas na ecocardiografia: strain (speckle tracking).....	28
3. CAPÍTULO I	31
4. CAPÍTULO II	67
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
6. REFERÊNCIAS	84
7. ANEXOS	97

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

-	Menos
%	Porcentagem
+	Mais
±	Mais ou menos
®	Marca registrada
2D	Bidimensional
ACMQ	<i>Automated Cardiac Motion Quantification</i>
AE/Ao	Relação átrio esquerdo/aorta
Ao	Aorta
Bpm	Batimentos por minuto
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCA	Centro de Ciências Agrárias
Cm	Centímetro
cm/s	Centímetro por segundo
DIVEd	Diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole
DIVEs	Diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole
Dr.	Doutor
ECO	Ecocardiograma
FC	Frequência cardíaca
FE	Fração de ejeção
FRP	Frequência de repetição de pulso
FS	Fração de encurtamento
HVU	Hospital Veterinário Universitário
UVZ	Unidade de Vigilância em Zoonose
Kg	Quilograma
mg/kg	Miligrama por quilograma
MHz	Megahertz
Modo B	Modo bidimensional
Modo M	Modo movimento
Ms	Milisegundo
N°	Número

NUDIVE	Núcleo de Diagnóstico por Imagem Veterinário Especializado
PC	Peso corporal
PDA	Persistência de ducto arterioso
PLVEd	Parede livre do ventrículo esquerdo em diástole
PLVEs	Parede livre do ventrículo esquerdo em sístole
Prof.	Professor
PW	Doppler de onda pulsada
S	Segundo
SIVd	Sépto interventricular em diástole
SIVs	Sépto interventricular em sístole
SR	<i>Strain rate</i>
ST	<i>Speckle tracking</i>
ST	<i>Strain</i>
TRIV	Tempo de Relaxamento Isovolumétrico
UFPI	Universidade Federal do Piauí
VAmáx	Velocidade aórtica máxima
VE	Ventrículo esquerdo
VPmáx	Velocidade pulmonar máxima

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I

- Figura 1** - Prancha fotográfica da execução do ecocardiograma nos animais do Unidade de Vigilância em Zoonose (UVZ-Teresina), onde observa-se os cães com diagnóstico positivo para leishmaniose visceral (A) e a realização do exame em janela paraesternal esquerda (B e C).....**61**
- Figura 2** - Prancha ecocardiográfica com imagens bidimensionais (2D) em modo M de cães com leishmaniose visceral canina. (A) Imagem bidimensional do eixo curto em janela paraesternal direita. (B) O modo M foi utilizado para as medidas da parede septal interventricular, parede ventricular esquerda, dimensões internas do ventrículo esquerdo e as frações de ejeção e encurtamento pelo método de Teichholz. (C) O plano de eixo curto direito bidimensional na base do coração usado para medir a razão AE/AO. (D) O modo M foi utilizado para mensuração da distensibilidade do ramo direito da artéria pulmonar. (E) Plano apical de 4 câmaras e (F) apical 5 câmaras.**61**
- Figura 3** - Prancha com imagens ecocardiográficas do Doppler obtidas a partir de cães com leishmaniose visceral canina. (A) Avaliação por Doppler pulsado das curvas de velocidade do fluxo pulmonar e (B) fluxo aórtico. (C) Avaliação do influxo por Doppler pulsado da valva mitral mostrando o influxo mitral diastólico precoce e o influxo mitral diastólico tardio.....**61**
- Figura 4** - Prancha com imagens ecocardiográficas do Doppler Tecidual Pulsado (DTP) de cães com leishmaniose visceral canina. (A) DTP em plano apical de 4 câmaras, mostrando o anel mitral septal e a parede livre ventricular esquerda (C). (B) Curva de velocidade miocárdica do anel tricúspide.....**61**

Figura 5 - Prancha do exame ecocardiográfico mostrando a deformação (*strain*) longitudinal do Ventrículo Esquerdo (VE) de cães com leishmaniose visceral canina. A deformação global foi adquirida pelo somatório do ciclo cardíaco em três planos apicais obtidos do VE: duas câmaras / AP2 (A), três câmaras / AP3 (B) e quatro câmaras / AP4 (C). O algoritmo do software separa automaticamente o plano apical do VE em 7 segmentos miocárdicos para incluir o septo interventricular e a parede livre do VE. A aprovação de rastreamento de cada segmento miocárdico individual é exibida na tela. Ao final, obtém-se o *strain* longitudinal global (D).
62

CAPITULO II

Figura 1 – Prancha fotomicrográfica do segmento miocárdico do ventrículo esquerdo de cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral, em diferentes situações: A- ausência de miocardite; B- miocardite leve; C- miocardite moderada. Seta preta: linfócitos; seta azul: histiócitos; seta amarela: plasmócitos. Barra: 15µm. Método: coloração por hematoxilina e eosina.....81

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO I

Tabela 1 - Parâmetros cardíacos dos cães naturalmente acometidos com leishmaniose visceral utilizados na pesquisa.	63
Tabela 2 - Parâmetros da função sistólica de cães naturalmente acometidos com leishmaniose visceral	64
Tabela 3 - Parâmetros da função diastólica de cães naturalmente acometidos com leishmaniose visceral	64
Tabela 4 - Resultado do <i>Strain</i> longitudinal do ventrículo esquerdo de cães naturalmente acometidos por LVC	64
Tabela 5 - Média <i>Strain</i> por nível.....	65
Tabela 6 - Correlação de Pearson entre parâmetros das medidas de strain e funções sistólicas, diastólicas e parâmetros <i>strain</i>	65

CAPÍTULO II

Tabela 1 - Prevalência de miocardite e sua classificação entre leve, moderada e intenso nos animais analisados.....	81
Tabela 2 - Prevalência de miocardite por segmento miocárdico do ventrículo esquerdo de cães com leishmaniose visceral e sua classificação entre leve, moderada e intenso.....	81
Tabela 3 - Prevalência de miocardite por animal com leishmaniose visceral e sua classificação entre leve, moderada e intenso.....	82

RESUMO

Avaliação da função segmentar ventricular esquerda de cães naturalmente infectados com leishmaniose visceral: aspectos ecocardiográficos e histopatológicos

A leishmaniose visceral é considerada uma doença infecciosa provocada por microrganismos protozoários do gênero *Leishmania* que invadem células do sistema fagocítico mononuclear de seres humanos, animais domésticos (incluindo o cão) e silvestres. Além de comprometimento cutâneo, alterações cardíacas já podem ser identificadas em exames de rotina e de imagem o que merece aprofundamento com a implementação de técnicas ecocardiográficas avançadas correlacionadas com análises histopatológicas com o intuito de contribuir para o esclarecimento das transformações vivenciadas pelo órgão em infecções parasitárias. A pesquisa foi realizada no Laboratório de Diagnóstico por Imagem Veterinária Especializada (LabDIVE) da Universidade Federal do Piauí em parceria ao Unidade de Vigilância em Zoonose (UVZ) de Teresina – PI onde foram utilizados 20 (vinte) cães com diagnóstico confirmatório para leishmaniose visceral. Os cães foram submetidos à exame ecocardiográfico para avaliação da estrutura e funcionamento cardíaco consistindo na visualização bidimensional (Modo B) e unidimensional (Modo M) do coração. Foram obtidas imagens ecocardiográficas pelo método do *speckle tracking* para análise de deformidade miocárdica dos cães infectados com *Leishmania sp.* A histopatologia foi desenvolvida em parceria com o Hospital Universitário da UFPI. Os tecidos removidos dos animais pós eutanásia foram fixados e submetidos à processamento histológicos para confecção de lâminas para análise por patologista. As avaliações ecocardiográficas gerais demonstraram que há um perfil de disfunção diastólica em segmentos basais do ventrículo esquerdo para os pacientes infectados com parasitas da leishmaniose visceral canina, mesmos segmentos reafirmados pelo estudo de deformação miocárdica através de *speckle tracking*. A avaliação segmentar do ventrículo esquerdo em função da presença de miocardite evidenciou achados de infiltrados inflamatórios em baixa prevalência, se concentrando na região apical septal. Contudo, sugerem a presença de alterações miocárdicas em ventrículo esquerdo como sendo comuns em cães com LVC. Novos estudos avaliando paralelamente a presença de inflamação miocárdica e o comportamento dessas citocinas circulantes em órgãos alvos, com atividade imunológica são indicados para confirmação da resposta imunológica presente no miocárdio de cães acometidos por LVC.

Palavras-chave: Cardiologia, cães, ecodopplercardiografia, deformação cardíaca, leishmaniose, histopatologia.

ABSTRACT

Assessment of left ventricular segmental function in dogs naturally infected with visceral leishmaniasis: echocardiographic and histopathological aspects

Visceral leishmaniasis is considered an infectious disease caused by protozoan microorganisms of the *Leishmania* genus that invade cells of the mononuclear phagocytic system of humans, domestic animals (including dogs) and wild animals. In addition to cutaneous involvement, cardiac alterations can already be identified in routine and imaging exams, which deserves further development with the implementation of advanced echocardiographic techniques correlated with histopathological analyzes in order to contribute to clarifying the changes experienced by the organ in parasitic infections. The research was conducted at the Laboratory of Specialized Veterinary Imaging Diagnostics (LabDIVE) of the Federal University of Piauí in partnership with the Surveillance Unit in Zoonoses (SUZ) of Teresina - PI, where 20 (twenty) dogs with a confirmatory diagnosis for visceral leishmaniasis were used. The dogs underwent echocardiographic examination to assess the cardiac structure and functioning, consisting of a two-dimensional (Mode B) and one-dimensional (Mode M) visualization of the heart. Echocardiographic images were obtained using the speckle tracking method to analyze the myocardial deformity of dogs infected with *Leishmania* sp. Histopathology was developed in partnership with the University Hospital of UFPI. Tissues removed from animals after euthanasia were fixed and submitted to histological processing to make slides for analysis by a pathologist. General echocardiographic evaluations showed that there is a profile of diastolic dysfunction in basal segments of the left ventricle for patients infected with parasites of canine visceral leishmaniasis, the same segments reaffirmed by the study of myocardial deformation using speckle tracking. The segmental evaluation of the left ventricle due to the presence of myocarditis showed findings of low prevalence of inflammatory infiltrates, concentrated in the septal apical region. However, they suggest the presence of myocardial alterations in the left ventricle as being common in dogs with CVL. New studies evaluating in parallel the presence of myocardial inflammation and the behavior of these cytokines circulating in target organs with immunological activity are indicated to confirm the immune response present in the myocardium of dogs affected by CVL.

Key words: Cardiology, dogs, Doppler echocardiography, cardiac deformation, leishmaniasis, histopathology.

1. INTRODUÇÃO

Durante o século XX, a incidência de endemias virais e bacterianas foi subestimada por episódios atípicos envolvendo protozoários, em especial, àqueles pertencentes ao gênero *Leishmania*, assim denominados em referência ao patologista escocês Willian Boog Leishman, que mais tarde nomeou a síndrome provocada pelos parasitas de ‘Leishmaniose’ (VINCENT, 2016). A partir de então, pesquisadores passaram a se deparar com uma série de relatos que apontavam para a mesma síndrome que recebia diferentes designações pelo mundo: calazar, espondia, esplenomegalia tropical, botão do oriente, úlcera de bauru, entre tantos outros nomes que findavam por destacar o que a Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu como a 5ª maior endemia mundial (AMARAL, 2009).

Com o advento da globalização e a evolução de condições favoráveis à doença, a leishmaniose disseminou-se por cerca de 88 países provocando danos à população humana e animal, considerando-a uma zoonose em expansão (SILVA et al., 2017). Por anos, foram desenvolvidos estudos científicos que objetivaram esclarecer os questionamentos envolvendo a patogênese do agente etiológico e com isso, proporcionar o controle da enfermidade. No entanto, com todo o progresso científico, ainda era possível vivenciar epidemias de leishmaniose no mundo (GONTIJO; MELO, 2004).

Clinicamente, a leishmaniose é caracterizada em formas visceral (quando há acometimento sistêmico) e cutânea (quando atinge o sistema tegumentar) sendo causada por diferentes espécies do protozoário (KEVRIC; CAPPEL; KEELING, 2015). A leishmaniose visceral é considerada uma doença infecciosa provocada por protozoários do gênero *Leishmania* que invadem células do sistema fagocítico mononuclear de seres humanos, animais domésticos e silvestres, sendo transmitida através de vetores hematófagos e via iatrogênica (SILVA, 2007; MARCONDES; ROSSI, 2013).

No Brasil, a leishmaniose visceral (LV) contribuiu para incluí-lo entre os países mais afetados no cenário global e mesmo com grande parte dos casos subnotificados, é atualmente responsável por 90% dos relatos da América Latina (BRASIL, 2006). Dentre as regiões mais afetadas, o Nordeste vivenciou episódios de epidemia da doença por agregar fatores favoráveis ao agente, tais como clima tropical, altas temperatura, falta de saneamento básico. Em duas décadas, a enfermidade passou por uma dispersão geográfica no território brasileiro e os casos que até então ficavam restritos em áreas de condição socioeconômica reduzida atingem hoje grandes centros

32 urbanos nas demais regiões brasileiras (BAVIA et al., 2005; CERBINO-NETO; WERNECK;
33 COSTA, 2009)

34 Alguns fatores podem ter contribuído para tamanha propagação, entre eles, a migração
35 de reservatórios para áreas endêmicas e não endêmicas e as mudanças na ecologia dos vetores
36 (DANTAS-TORRES, 2009). Sob o ponto de vista epidemiológico, o cão é o reservatório mais
37 importante devido ao seu elevado parasitismo cutâneo. O comprometimento cutâneo é apenas uma
38 das manifestações clínicas da LV que pode causar desde infecções inaparentes, oligossintomáticas
39 até lesões destrutivas e desfigurantes fundamentando um importante problema na saúde pública
40 (CALZADA et al., 2015).

41 As variáveis manifestações clínicas provocadas pelos parasitas do gênero *Leishmania spp*
42 refletem o seu envolvimento sistêmico, demonstrando tropismo por integrantes do sistema
43 fagocítico mononuclear (fígado, baço, linfonodos e medula óssea) onde a presença do parasito é
44 abundante, no entanto, outros órgãos também têm demonstrado comprometimento
45 morfofuncional, embora que pouco relatados (FALCÃO et al., 2016). Pesquisas sobre as alterações
46 nos rins de pacientes crônicos têm destacado a ocorrência de processo inflamatório infeccioso pela
47 deposição de imunocomplexos levando a insuficiência renal (COSTA et al., 2003; COSTA et al.,
48 2010; BALTAZAR et al., 2016). O fato desencadeou profundo interesse no esclarecimento de
49 outras alterações clínicas já noticiadas.

50 Além dos rins, o parasitismo pulmonar e cardíaco pela LV são realidades já destacadas
51 nos hospitais veterinários e humanos em pacientes com quadro clínico mais severo (ALVES et al.,
52 2010; DAHER et al., 2017). Em 2005, foi notificada a presença de lesões degenerativas e
53 necróticas no átrio direito de um cão infectado com *Leishmania chagasi*, além de outros casos
54 relacionados a presença do parasita no coração (TORRENT et al., 2005; ROSYPAL et al., 2005;
55 ROSA et al., 2013). Os relatos envolvendo aspectos morfológicos em cães e humanos acometidos
56 têm apontado para a mesma evidencia clínica: miocardite (LOPES-PENA et al., 2009; MENDES
57 et al., 2014). Contudo, o emprego de métodos diagnósticos que avaliam a estrutura e
58 funcionamento segmentar do coração *in vivo* é escasso e tende a contribuir com o preenchimento
59 de lacunas na ciência e minimizar os sinais clínicos cardiovasculares na LV.

60 O acometimento cardíaco têm sido alvo de estudos em outras doenças provocadas por
61 protozoários, como é o caso da doença de Chagas. O *Trypanossoma cruzi* ciclo de vida
62 semelhantes ao de parasitas do gênero *Leishmania spp*, mas apresentam tropismo vascular

63 atingindo principalmente o coração, levando ao quadro de cardiopatia chagásica crônica onde há
64 alterações morfofuncionais (BESTETTI et al., 2016). Nessa enfermidade, o emprego da
65 ecocardiografia na identificação das alterações cardíacas está bem estabelecida e conta inclusive
66 com a incorporação de novas tecnologias, como é o caso da técnica de aferição da deformidade
67 miocárdica por mapeamento de pontos ou *strain (speckle tracking)* (SILVA et al., 2005;
68 FURTADO et al., 2015)

69 A análise das alterações cardíacas induzidas pela leishmaniose visceral é limitada e
70 merece aprofundamento com a implementação de técnicas ecocardiográficas avançadas no intuito
71 de contribuir para o esclarecimento das transformações vivenciadas pelo órgão. Partindo deste
72 pressuposto, propõe-se avaliar a função segmentar cardíaca de cães naturalmente infectados com
73 leishmaniose visceral levando em consideração seus aspectos morfológicos e ecocardiográficos.

74 A organização estrutural dessa tese se apresenta da seguinte forma: Introdução, Revisão
75 de literatura, Capítulo I, Capítulo II, Considerações Finais e Referências. O capítulo I, intitulado
76 “**Ecocardiografia padrão, *strain* longitudinal bidimensional por speckle tracking do**
77 **ventrículo esquerdo em cães naturalmente acometidos com leishmaniose visceral**” e o
78 capítulo II intitulado “**Estudo de prevalência da miocardite em segmentos de ventrículo**
79 **esquerdo de cães naturalmente afetados com leishmaniose visceral**”, ambos foram organizados
80 conforme as normas do periódico “**Acta Scientia Veterinariae**” Qualis B1 em Medicina
81 Veterinária e Fator de impacto 0,222.

82

83

84 **2. REVISÃO DE LITERATURA**

85 **2.1 Leishmaniose visceral canina (LVC)**

86 A leishmaniose visceral canina (LVC), historicamente, proporcionou transtornos
87 endêmicos aos países do Velho mundo (Europa, Ásia e África) recebendo a denominação indiana
88 Kala-azar (febre negra) referente ao aspecto ulcerativo das lesões cutâneas formadas (CORREA;
89 CORREA, 1992). Mais tarde, os casos estenderam-se afetando países do continente americano e
90 passaram a preocupar as autoridades médicas locais em razão da complexidade do parasita, e isto
91 despertou o interesse de grandes centros de pesquisa, entre eles, o Instituto Evandro Chagas
92 vigente desde 1936 atingiu importantes resultados acerca da doença no Brasil (LAISON et al.,
93 1985).

94 Os agentes etiológicos da LVC são protozoários tripanossomatídeos do gênero
95 *Leishmania spp*, dentre as principais espécies a *Leishmania (leishmania) chagasi* exerce maior
96 repercussão da doença nas Américas. Tratam-se de parasitas intracelulares obrigatórios das células
97 do sistema monocítico fagocitário podendo ser encontrados tanto no tubo digestivo de vetores
98 artrópodes e meios de cultura laboratorial sob a forma flagelada ou promastigota, quanto em
99 tecidos de hospedeiros vertebrados com a fórmula circular imóvel aflagelada ou amastigota
100 (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012). As duas situações morfológicas integram o ciclo de
101 transmissão da doença juntamente com vetores, hospedeiros e diferentes biótopos (DANTAS-
102 TORRES et al., 2012; DANTAS-TORRES et al., 2015).

103 No Brasil, o principal vetor de transmissão da doença é o flebotomíneo *Lutzomyia*
104 *longipalpis* conhecido popularmente como mosquito palha, birigui ou tatuquira, trata-se de um
105 inseto díptero pequeno (2 a 3 mm de comprimento) com hábitos peridomésticos e intradomiciliares
106 que se alimenta de matéria orgânica, ambiente propício para seus criadouros (MAROLI et al.,
107 2013). A baixa taxa de infecção do mosquito vetor com protozoários *Leishmania spp*, assim como
108 a existência de casos autóctones onde não há *L. longipalpis* sugere a participação de outros vetores
109 na transmissão do agente *L. (l.) chagasi*, como é o caso de carrapatos, pulgas, transmissão venérea,
110 transplacentária e por transfusão sanguínea (COUTINHO et al., 2005; FREITAS et al., 2006;
111 SILVA et al., 2009; NAUCKE; LORENTZ, 2012).

112 A transmissão da doença pelo mosquito está relacionada ao fator sexual, os flebotomíneos
113 machos alimentam-se de frutas maduras, seiva e néctar de plantas, enquanto que as fêmeas são
114 hematófagas e possuem hábito alimentar diversificado, realizando repasto sanguíneo em seres
115 humanos, cães, gatos, equídeos, ruminantes, galinhas, marsupiais, roedores e animais silvestres
116 (PASSOS-DIAS; LOROSA; REBÊLO, 2003; MISSAWA; LOROSA; DIAS, 2008). O cão, dentre
117 outras espécies, exerce importância significativa na manutenção da doença residindo no fato do
118 mesmo apresentar alta prevalência de infecção e elevado número de casos assintomáticos
119 ultrapassando 70% da população infectada (PALTRINIERI et al., 2010).

120 A participação do agente nos vetores e reservatórios é constatada através do ciclo de
121 transmissão da LVC, que inicia quando o mosquito (*L. longipalpis*) pica o hospedeiro vertebrado
122 (por exemplo, o cão) infectado durante o repasto sanguíneo ingerindo junto ao sangue células
123 fagocíticas mononucleares (macrófagos e leucócitos) parasitadas pelas formas amastigotas do
124 protozoário. No mosquito, estes parasitas seguem para o trato intestinal onde sofrem sucessivas
125 multiplicações e adquirem aspecto flagelar (promastigotas). Ao exercer novamente o repasto

126 sanguíneo, o flebotômico inocula as formas promastigotas infectantes que logo são fagocitadas
127 por macrófagos teciduais e neutrófilos retornando ao aspecto aflagelar ou amastigota (NEVES,
128 2000; BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012).

129 A invasão de células fagocíticas é um artifício fundamental para a permanência do
130 parasita no hospedeiro possibilitando resistência aos mecanismos de defesa do sistema imune
131 (MONTALVO et al., 2012). A multiplicação das formas amastigotas, a priori, ocorre no local da
132 picada e dissemina-se na corrente sanguínea causando danos de ação direta sobre os tecidos de
133 carácter inflamatório, e de ação indireta gerada pela deposição de imunocomplexos nos olhos,
134 articulações, vasos sanguíneos e rins. Os órgãos com elevado grau de parasitismo são aqueles
135 relacionados ao sistema monocítico fagocitário (pele, fígado, baço, medula óssea e linfonodos),
136 no entanto, isto não exclui a existência de macrófagos infectados ocasionais em outros tecidos
137 como: sangue, testículos, meninges, rins, pulmões e coração (NEVES, 2000; PANGRAZIO et al.,
138 2009; ALVES et al., 2010; COSTA et al., 2010).

139 Ao exame físico dos pacientes sintomáticos é possível detectar sinais clínicos
140 inespecíficos que se desenvolveram em consequências à patogênese diversificada do parasita, estes
141 incluem lesões de pele (hiperqueratose, descamação cutânea, úlceras e/ou leishmaniomas),
142 linfadenopatia, hepatoesplenomegalia, anemia, perda de peso corporal, intolerância ao exercício,
143 diminuição do apetite, poliúria, polidipsia, lesões oculares, atrofia muscular, onicogribose
144 (distrofia das unhas), claudicação, vômitos, diarreia, paresia de membros podendo evoluir para o
145 óbito (LINHARES et al., 2005; FERNANDEZ-COTRINA et al., 2012). Por outro lado, em alguns
146 cães a infecção segue seu curso de forma assintomática assim permanecendo por anos ou por toda
147 a vida bastando apenas uma alteração em seu sistema imune para levar ao aparecimento dos
148 sintomas (BANETH et al., 2008).

149 As lesões histopatológicas atribuídas à LVC incluem infiltrados inflamatórios e deposição
150 de imunocomplexos nos tecidos. No rim, a glomerulonefrite intersticial resulta de mecanismos
151 imunomediados que desencadeiam danos irreversíveis aos glomérulos o que compromete a função
152 do néfron e evolui o quadro para uma insuficiência renal (COSTA et al., 2003; COSTA et al.,
153 2010). Pesquisadores constataram comprometimento pulmonar e cardíaco, através da identificação
154 de lesões mononucleares perivasculares acompanhadas de infiltrado inflamatório no músculo
155 cardíaco, ao passo que no tecido pulmonar houve espessamento de septos interalveolares devido
156 ao acúmulo de células inflamatórias e epiteliais (ALVES et al., 2010).

157 Os métodos diagnósticos da leishmaniose visceral canina são variáveis e empregam
158 múltiplos antígenos a fim de proporcionar maior sensibilidade e/ou especificidade ao exame.
159 Atualmente, são utilizados o diagnóstico clínico (baseado nos sinais clínicos da doença),
160 parasitológico (possibilitam a visualização do parasito através da punção de órgãos relacionados
161 ao sistema monocítico fagocitário), histopatológico (detecção direta do parasita em secções
162 coradas de tecidos), molecular (baseia-se na amplificação de oligonucleotídeos para formação de
163 uma sequência gênica conhecida do parasito, a exemplo da reação em cadeia da enzima polimerase
164 - PCR) e sorológicos (pautado na reação antígeno/anticorpo, como exemplos, a fixação do
165 complemento, a hemaglutinação, reação de imunofluorescência indireta, reação imunoenzimática,
166 testes imunocromatográfico) (PALTRINIERI et al., 2010; GRAMICCIA, 2011; FARIA;
167 ANDRADE, 2012).

168 Durante anos, o protocolo de tratamento para os cães infectados com LVC, baseou-se na
169 terapia humana mesmo não sendo regulamentada pelo Ministério da Saúde e Ministério da
170 Agricultura Pecuária e Abastecimento através da portaria nº 1.426/2008 que proíbe o tratamento
171 da LVC com medicamentos humanos (DANTAS-TORRES et al., 2012). Contudo, no ano de 2016
172 foi aprovada uma Nota Técnica Conjunta nº 001/2016 MAPA/MS permitindo a utilização da
173 miltefosina no tratamento da LVC, em razão dos resultados favoráveis em países europeus
174 (FERNANDES, 2014; BRASIL, 2016). No entanto, os proprietários ainda demonstram resistência
175 ao emprego deste fármaco nos tratamentos devido ao seu elevado custo no mercado contribuindo
176 para o uso indiscriminado de fármacos voltados para a terapia humana.

177 O Ministério da Saúde preconiza como medidas de controle: o combate às condições
178 favoráveis ao vetor e eliminação de reservatórios domésticos positivos. A primeira é possível
179 graças a utilização de inseticidas (piretróides, permetrina, deltametrina) e redução de microhabitats
180 por meio de educação sanitária. Em contrapartida, a eliminação dos cães positivos (considerados
181 principais reservatórios) como medida enfrenta discussões acerca da sua eficácia no controle da
182 doença. De maneira profilática, a vacinação tem proporcionado um elevado nível de segurança
183 favorecendo a produção de anticorpos para potencializar o sistema imune do hospedeiro e de certa
184 forma, proteger os cães do contágio e da condição de reservatórios (SOLANO-GALLENO et al.,
185 2011; BANETH; SOLANO-GALLENO, 2012).

186 **2.2 O coração: aspectos morfofuncionais**

187 O coração é considerado o principal órgão do sistema cardiovascular, popularmente é
188 conhecido como uma ‘bomba cardíaca’ que impulsiona sangue para o organismo através de

189 movimentos involuntários de contração e relaxamento. Anatomicamente, compreende um arranjo
190 muscular multicavitário revestido externamente por um saco pericárdico capaz de manter o órgão
191 em sua posição topográfica (mediastino) e da ocorrência de atritos externos (KLEIN, 2015).

192 Internamente, o coração é constituído de cavidades receptoras e ejetoras de sangue: átrios
193 e ventrículos. Os átrios estão localizados anterior aos ventrículos separados pelo septo interatrial,
194 possuindo parede muscular relativamente mais delgada e menor complacência sofrendo menos
195 alterações do seu volume durante as contrações cardíacas. O átrio do antímero direito recebe
196 sangue não oxigenado dos tecidos do corpo (exceto do pulmão) e pelo seio coronário, lançando-o
197 ao ventrículo direito por meio da valva atrioventricular direita ou tricúspide. Já o átrio esquerdo
198 recebe sangue oxigenado das veias pulmonares e envia ao ventrículo esquerdo através da valva
199 atrioventricular esquerda, bicúspide ou mitral (GUYTON, 2006; COSTANZO, 2007).

200 Ao passo que os ventrículos situados posteriormente aos átrios são câmaras piramidais
201 revestidos por uma extensa camada muscular permitindo elevada força de propulsão. O ventrículo
202 direito é separado do esquerdo por um septo interventricular espesso e apresenta internamente
203 cordoalhas ou cordas tendíneas (feixes fibrosos que unem as valvas aos músculos papilares),
204 trabéculas cárneas (feixes irregulares do miocárdio que se salientam na superfície interna do
205 ventrículo) e músculos papilares (projeções do miocárdio com função de manter as cordas
206 tendíneas retesadas durante a sístole). Ao receber sangue não oxigenado do átrio direito, o
207 ventrículo direito contrai-se conduzindo o sangue recebido para o tronco da artéria pulmonar
208 através da valva pulmonar (CONTI, 2015).

209 Já o ventrículo esquerdo, provido de uma extensa camada muscular, é maior e participa
210 da formação do ápice cardíaco. Internamente, encontram-se músculos papilares e trabéculas
211 cárneas que se fixam às valvas mitrais através de cordoalhas tendíneas. O sangue oxigenado que
212 entra no ventrículo esquerdo é ejetado para a artéria aorta mediante abertura da valva aórtica. A
213 passagem do sangue dos átrios aos ventrículos se procede seguindo um gradiente de concentração
214 que parte da câmara com maior pressão interna (normalmente o átrio ao receber sangue das veias)
215 para a câmara com menor pressão interna (ventrículos em relaxamento) (GUYTON, 2006;
216 KONIG; LIEBICH, 2016).

217 O músculo cardíaco exerce função essencial nos movimentos de contração e relaxamento
218 possibilitando o fluxo sanguíneo contínuo para os diferentes tecidos do corpo. Sua atividade é
219 controlada e conduzida pelo sistema elétrico do coração, que consiste em uma cadeia de células
220 musculares especializadas capazes de gerar e conduzir impulsos elétricos pelo músculo cardíaco
221 (KLEIN, 2015). Fazem parte desse sistema: nodo sinoatrial, nodo atrioventricular, feixe átrio

222 ventricular e fibras condutoras terminais. Células especializadas cardíacas tem a propriedade de
223 despolarizar espontaneamente para a formação de potenciais de ação, é o caso das células presentes
224 no nodo sinoatrial (SA). Uma vez formado, o potencial de ação rapidamente se espalha através
225 dos átrios promovendo sua contração e posteriormente mobiliza os ventrículos por um sistema
226 especial de células que se localizam entre os átrios e ventrículos, o nodo atrioventricular (AV),
227 favorecendo a contração ventricular (CONTI, 2015).

228 A atividade muscular para formação do ciclo cardíaco é desempenhada pela sequência de
229 contração (sístole) e relaxamento (diástole) do coração. Para a execução dessas tarefas, o coração
230 organiza-se histologicamente em três camadas musculares: epicárdio, miocárdio e endocárdio. O
231 endocárdio reveste internamente as câmaras cardíacas consiste de endotélio e tecido conjuntivo
232 subendotelial, que abriga o sistema de condução do coração. O miocárdio é o componente
233 muscular principal formado por tecido muscular estriado cardíaco. E, o pericárdio, mais externo
234 consiste em uma camada de células mesoteliais anexa ao tecido conjuntivo externo, o qual
235 acomoda vasos sanguíneos e nervos cardíacos (ROSS; REITH; ROMRELL, 1993; EYNARD;
236 VALENTICH; ROVASIO, 2011).

237 A compreensão das características morfofisiológicas do coração torna-se de suma
238 importância para o esclarecimento de eventuais anomalias cardíacas. Entre outras implicações
239 médicas, é importante mencionar que todas as estruturas do coração podem ser afetadas em
240 numerosas situações patológicas e a detecção precoce dessas alterações pode direcionar o paciente
241 à um melhor prognóstico.

242

243 **2.3 Alterações morfofuncionais cardíacas na LVC**

244 A leishmaniose visceral canina se destaca pela variabilidade de sinais clínicos que são
245 inespecíficos e revelam os múltiplos mecanismos patogênicos do parasita (FERNANDEZ-
246 COTRINA et al., 2012). Em suma, as lesões podem ser de ação direta (principalmente sob os
247 tecidos relacionados ao sistema monocítico fagocitário) e de ação indireta gerada pela deposição
248 de imunocomplexos. No primeiro caso, a carga parasitária nos macrófagos teciduais é alta o que
249 facilita a detecção do protozoário e seus produtos nos exames parasitológicos e sorológicos
250 convencionais (RIFI e ELISA) (PANGRAZIO et al., 2009).

251 O envolvimento cardíaco em pacientes com LVC é questionável devido à carência de
252 pesquisas científicas que aprofundem a relação do parasita com o órgão, até o momento foram
253 detectados *Leishmania (l.) chagasi* no tecido cardíaco em baixas concentrações não sabendo ao

254 certo se as alterações encontradas se deram por ação direta da *Leishmania sp.* ou pela resposta à
255 infecção sistêmica (SILVA, 2007). Em contrapartida, alguns autores relatam ausência de
256 comprometimento cardíaco, ao passo que outros fazem referência à uma reatividade inespecífica
257 do coração frente ao processo infeccioso, não fundamentando uma patogênese inerente (MORAIS
258 et al., 1988; FERRARI et al., 2006; SILVA et al., 2009).

259 Dentre as alterações cardíacas já descritas na literatura, o desenvolvimento de um
260 processo inflamatório nas células do miocárdio ou miocardite está entre as mais comuns, podendo
261 agravar o segmento lesado à necrose ou degeneração celular. Destacam-se ainda, outras
262 modificações cardíacas relatadas com menor frequência, sendo elas, anatômicas, histológicas,
263 eletrocardiográficas e ecocardiográficas (DOMINGUES et al., 2011; KUHL, 2014).

264 Através de análises anatomo-patológicas *post-mortem* em cães com quadro crônico para
265 LVC pesquisadores detectaram hipertrofia concêntrica ventricular esquerda com consequente
266 aumento atrial esquerdo. Ademais, também foram descritas petéquias no epicárdio de um cão
267 alternadas com a ocorrência de áreas pálidas lineares proeminentes com margens congestionadas, lesões
268 detectadas com maior extensão no átrio direito. Neste caso, foram observadas formas amastigotas
269 do parasita no miocárdio por meio da Reação em Cadeia da Enzima Polimerase (PCR) (TORRENT
270 et al., 2005; PADUA, 2013). López-Peña e colaboradores (2009) descreveram a presença de
271 palidez multifocal no miocárdio do ventrículo esquerdo e do septo interventricular de uma cadela
272 com 11 anos de idade, positiva para LVC. Em outro caso, foram detectados: dilatação ventricular
273 direita em 53,3% dos animais, hipertrofia ventricular concêntrica esquerda em 20% dos animais,
274 presença de áreas pálidas na superfície epicárdica em 10% e sufusões no endocárdio de ambos os
275 ventrículos em 3,3% dos casos (ROSA et al., 2012).

276 As principais alterações histológicas evidenciadas no tecido cardíaco de pacientes com
277 LVC é a quimiotaxia celular inflamatória, caracterizada pela presença de infiltrado de células
278 inflamatórias no miocárdio (LOPEZ-PENA et al., 2009; ALVES et al., 2010). Já houve também
279 relatos da presença de edema do endocárdio, do miocárdio e do epicárdio, linfomonócitos no
280 miocárdio e epicárdio, e discreta fibrose e necrose observados em seres humanos com
281 leishmaniose (MORAIS et al., 1988). Ferrari e colaboradores (2006) e Alves (2010) encontraram
282 achados histopatológicos semelhantes no tecido dos cães analisados: miocardite multifocal severa
283 com degeneração e necrose das fibras do músculo cardíaco. Por imunomarcção foram detectadas,
284 no miocárdio, formas amastigotas da *Leishmania sp.*

285 Por sua vez, uma pesquisa com hamsters experimentalmente infectados por *Leishmania*
286 *chagasi*, foram encontrados: degeneração discreta de fibras miocárdicas em 55,56% dos animais,
287 edema intersticial em 44,45%, infiltrado inflamatório mononuclear em 38,89% e congestão
288 vascular e deposição discreta de colágeno no miocárdio, ambos em 16,67% dos animais infectados.
289 Entretanto, os autores chegaram à conclusão de que as lesões cardíacas foram causadas por uma
290 reação inespecífica do agente no organismo, visto que, não foram detectadas formas amastigotas
291 no coração (SILVA, 2007).

292 Os exames de eletrocardiograma de 105 cães positivos para LVC revelaram, dentre
293 outras alterações, arritmia sinusal, parada sinusal, marca-passo migratório, bloqueio de ramo
294 direito incompleto e contração atrial prematura (SOUSA et al., 2013). Em outra pesquisa avaliando
295 o ECG de cães com LVC do estado do Tocantins, os resultados encontrados não revelaram
296 transtornos importantes na função cardíaca (LIMA, 2013). No entanto, em pacientes com
297 miocardite é comum encontrar bloqueio de primeiro grau com depressão de segmento ST, fato
298 relatado no exame de uma cadela de três anos infectada (TORRENT et al., 2005).

299 Já no ecocardiograma, a disfunção diastólica do ventrículo esquerdo é a alteração mais
300 frequente envolvendo LVC, e foi detectada em cães com miocardite (DOMENICO et al., 2008;
301 PADUA, 2013). Outro estudo, em humanos com miocardite, foram evidenciados derrame pleural,
302 aumento da espessura do septo interventricular e da parede posterior do ventrículo esquerdo, assim
303 como, reduzida fração de ejeção do mesmo ventrículo (PINHO, 2012). A incorporação de métodos
304 diagnósticos avançados aos casos com LVC são capazes de reforçar os achados já evidenciados
305 de lesões cardíacas agregando confiabilidade aos resultados.

306 **2.4 Métodos diagnósticos na cardiologia**

307 Os parâmetros indicadores de cardiopatias podem ser obtidos utilizando-se de métodos
308 diagnósticos invasivos e não invasivos. Os últimos são mais econômicos, rápidos e não causam
309 tanto desconforto aos pacientes quando comparado aos invasivos, os quais na medicina veterinária
310 são levados em consideração devido ao 'bem-estar animal' (SOARES et al., 2009; THRALL,
311 2014). Alguns dos métodos mais indicados na medicina veterinária para avaliação da
312 morfofisiologia cardíaca são: radiologia, eletrocardiograma e ecocardiograma (diagnóstico por
313 imagem), histopatologia e sorológicos (FARROW, 2006; THRALL, 2007).

314 Os métodos por imagem compreendem a utilização de tecnologias de imagens para
315 realização de diagnósticos. A radiologia convencional surgiu com a descoberta dos raios-X no
316 século XIX e nos anos seguintes dominou como método diagnóstico de eleição, para tal, fez-se

317 necessária o uso de radiação através da penetração de raios no organismo, os quais chegam a um
318 filme revelando um aspecto de cores que variam entre o preto e o branco (raios absorvidos no
319 corpo). O emprego de radiação, assim como de outras formas de energia ionizante, tem caráter
320 nocivo e quando exposto ao corpo por diversas vezes podem gerar danos celulares. No entanto, os
321 raiosX ainda são considerados métodos não invasivos e seguros no diagnóstico de enfermidades,
322 e bastante explorados na medicina veterinária (EISENBERG, 1992; THRALL, 2013).

323 O eletrocardiograma (ECG) compreende uma ferramenta de avaliação da eletrofisiologia
324 cardíaca, através da indução de correntes elétricas que percorrem o miocárdio durante a sístole e
325 diástole. O ECG é preparado através da medição de potencial elétrico entre diferentes pontos do
326 corpo usando um galvanômetro (instrumento utilizado para medir e detectar correntes elétricas de
327 baixa intensidade), gerando um gráfico de tira contínua representado por uma onda P, complexo
328 QRS e uma onda T. No entanto, o ECG como qualquer exame complementar, apresenta limitações,
329 é o caso das dificuldades em reconhecer intervalos e voltagens baixas, a dependência da análise
330 dedutiva e a probabilidade de diagnósticos múltiplos. Contudo, o ECG é capaz de diagnosticar
331 alterações cardíacas antes que ocorram mudanças estruturais observadas em outros exames, como
332 é o caso da radiologia e do ecocardiograma (THALER, 2008; MARTIN, 2010).

333 A ecocardiografia trata-se de um método de diagnóstico para estudo cardíaco que consiste
334 na aquisição de imagens bidimensionais e tridimensionais em tempo real e análise de fluxo
335 sanguíneo através da utilização de ultra-sons, permitindo detectar anomalias morfofuncionais de
336 suas estruturas. Para detecção e avaliação de estruturas em movimento, em especial, o fluxo
337 sanguíneo, faz-se necessário a complementação da ultrassonografia cardíaca com a ferramenta
338 Doppler, trazendo consigo diferentes modalidades: contínuo, pulsátil, colorido, tecidual e power
339 doppler (CARVALHO, CHAMMAS; CERRI, 2008; OTTO; CHWAEGLER; FREEMAN, 2012).
340 Métodos recentes de ecodoppler permitem refinar a análise da função dos ventrículos direito e
341 esquerdo, é o caso do *strain* e *strain rate*, são índices clínicos de deformação miocárdica regional
342 e global que podem ser aferidos pela técnica do rastreamento de pontos ou *speckle tracking* através
343 da ecocardiografia bidimensional (ALMEIDA et al., 2013).

344 As alterações cardiovasculares podem ser mensuradas através de diversas biomoléculas
345 que incluem o perfil lipídico (colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triglicérides), a lipoproteína
346 (a), proteína C reativa (PCR) ultrasensível e a mucroalbuminúria. Na medicina veterinária, faz-
347 se maior utilidade dentre as biomoléculas, a avaliação das troponinas (TnT, TnI, inibidora de actina
348 TnC) por serem altamente específicas em detectar dano celular no músculo cardíaco. É comum a
349 avaliação das troponinas juntamente com a isoenzima MB da proteína creatinina quinase, sendo a

350 mesma encontrada no tecido cardíaco e é a enzima de eleição para diagnóstico de infarto agudo
351 do miocárdio. (VASAN, 2006; MANGGE, 2016).

352 Por fim, além de exames de imagem e moleculares, destacam-se ainda exames
353 histopatológicos que buscam a análise microscópica do tecido injuriado, sendo por isso
354 considerado um método invasivo em razão da sua abordagem, a qual se faz através da extração de
355 um fragmento do tecido seja ele no organismo vivo por biópsia ou peça cirúrgica, ou *post-mortem*
356 após a fixação celular. Para tal análise, torna-se necessária o preparo tecidual através de soluções
357 que mantenham a integridade das células e a utilização de corantes acidobásicos que facilitem o
358 reconhecimento das estruturas e a identificação das possíveis lesões (BANCROFT; GAMBLE,
359 2008; MCCANN et al., 2015).

360

361 **2.5 Técnicas avançadas na Ecocardiografia: strain (speckle-tracking)**

362 A ecocardiografia Doppler revolucionou os métodos de diagnósticos por imagem, por
363 possibilitar a visualização das estruturas em tempo real e dos seus aspectos hemodinâmicos
364 favorecendo a precisão nos diagnósticos clínicos (CARVALHO; CHAMMAS; CERRI, 2008).
365 Diversas são as técnicas atualmente empregadas de efeito Doppler: o colorido, o pulsátil, o
366 contínuo, ‘power doppler’ e o tecidual. O Doppler colorido baseia-se no mapeamento do fluxo em
367 cores variando em razão da escala de cores (designação em cores para direção e velocidade), faixa
368 de velocidade, posição zero da linha de base na escala de cores e acréscimo da variação para a
369 escala de cores, devendo ser levado em consideração que o mesmo segue os princípios do Doppler
370 pulsátil (REIS et al., 2011; EVANS; JENSEN; NIELSEN, 2011).

371 O Doppler pulsátil permite uma amostragem das velocidades do fluxo sanguíneo em uma
372 determinada profundidade cardíaca, com um espectro de velocidade limitado. A medição é
373 realizada considerando os tempos de recepção dos sinais de eco, permitindo visualizar os fluxos a
374 profundidades específicas, sendo a profundidade interesse denominada volume de amostra. Se as
375 velocidades excederem o limite máximo (limite de Nyquist) podem ocorrer erros de exatidão na
376 informação induzida (POPESCU; GINGHINA, 2011). Por outro lado, o Doppler contínuo analisa
377 o somatório das velocidades de todos os fluxos em uma determinada faixa do coração, porém
378 quando há sobreposição dos dados obtidos outros métodos podem ser utilizados para determinar a
379 profundidade da origem do sinal Doppler podendo ser empregados na medição de altas velocidades
380 na estenose e regurgitação das valvas (BOON, 2004; DROST, 2014).

381 A ecocardiografia ‘power doppler’ ganhou atenção para uma técnica de imagem de fluxo
382 de cor adicional que supera as limitações do ultra-som Doppler colorido convencional (US).

383 Devido à sua sensibilidade aumentada ao fluxo, a ecografia Doppler de potência é valiosa em
384 estados de baixo fluxo e quando ângulos Doppler óticos não podem ser obtidos. O ‘power Doppler’
385 aumenta a confiança diagnóstica ao melhorar a avaliação do fluxo parenquimatoso e diminui os
386 tempos de exame em casos tecnicamente desafiadores (BOON, 2004; ALCAZAR et al., 2008).

387 O Doppler tecidual ou tissular é uma técnica capaz de complementar os métodos
388 anteriormente descritos, consiste na obtenção da velocidade de contração das fibras miocárdicas.
389 A codificação em cores das velocidades de movimentação dos miócitos nos permite enxergar as
390 diferenças estruturais do músculo durante a contratilidade cardíaca, além disso o Doppler tecidual
391 pode aumentar a acurácia do ecocardiografia convencional, pois integra a informação da função
392 regional para estimar a função cardíaca global. Para avaliação da deformidade do musculo cardíaco
393 utiliza-se os índices clínicos ‘strain’ e ‘strain rate’, o primeiro consiste na mudança fracional no
394 comprimento de um segmento do miocárdio, normalmente é expresso em porcentagem, já o ‘strain
395 rate’ é a velocidade na qual ocorre a deformação (CASTILLO; HERSZKOWICZ; FERREIRA,
396 2010; ABDUCH et al., 2014).

397 Métodos recentes do Doppler tissular permitem refinar análise da função dos ventrículos,
398 é o caso do speckle tracking (rastreamento de pontos), este por sua vez, possibilita o estudo do
399 strain e do strain rate por meio da escala da ecocardiografia bidimensional avaliando a deformação
400 nos planos longitudinal, circunferencial e radial. Marcadores acústicos naturais, denominados
401 speckles representam padrões específicos do tecido no miocárdio rastreamento seus movimentos
402 em todas as direções. A relevância clínica dos parâmetros de deformação emparelhados com um
403 modo de avaliação fácil despertou enorme interesse na comunidade ecocardiográfica. Isso também
404 se reflete no crescente número de publicações que se concentram em todos os aspectos da
405 ecocardiografia speckle tracking e que testam a potencial utilidade clínica desta nova modalidade
406 (ABRAHAM; DIMAANO; LIANG, 2007; HUNG et al., 2007; ALMEIDA et al., 2013).

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

418

419

420

421

422

423

424

425

3. CAPÍTULO I*

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

442

443 * Artigo elaborado de acordo com as normas do periódico “**Acta Scientiae Veterinariae**” (Qualis
444 B1, Fator de impacto: 0,222).

445

446

447

448

449 **Standard Echocardiography, Two-dimensional Longitudinal Strain by Speckle Tracking of**
 450 **the Left Ventricle in Dogs Naturally Affected With Visceral Leishmaniasis**

451 Andrezza Braga Soares da Silva¹, Renan Paraguassú de Sá Rodrigues², Kelvin Ramon da Silva
 452 Leitão³, Luana de Oliveira Lopes², Maria Angélica Parentes da Silva Barbosa⁴, Joilson Ferreira
 453 Batista¹, Jefferson Rodrigues Araujo⁵, Francisco das Chagas Araujo Sousa⁶, Kassio Vieira
 454 Macedo⁷, Antonio Augusto Nascimento Machado Junior⁸, Flávio Ribeiro Alves⁸

455

456 ¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí (UFPI),
 457 Teresina, Piauí, Brasil. ²Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de
 458 Interesse Regional, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil. ³Graduando em
 459 Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil. ⁴Residência
 460 em Diagnóstico por Imagem, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil. ⁵Setor
 461 de Diagnóstico por Imagem, Hospital Universitário, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Bom
 462 Jesus, Piauí, Brasil. ⁶Departamento de Medicina, Universidade Estadual do Piauí (UFPI), Teresina,
 463 Piauí, Brasil. ⁷Health Science Post-Graduate, UFPI, Teresina ⁸Departamento de Morfofisiologia
 464 Veterinária, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil. CORRESPONDING:
 465 F. R. Alves [flavioribeiro@ufpi.edu.br– Phone: +55 (86) 99958-7925.

466

467

ABSTRACT

468 **Background:** Visceral leishmaniasis is considered an infectious disease caused by protozoan
 469 microorganisms of the genus *Leishmania*, which invade cells of the mononuclear phagocytic
 470 system of humans and domestic and wild animals. From an epidemiological point of view, the dog
 471 is the most important reservoir and a risk factor for the occurrence of the disease in humans, due
 472 to its high cutaneous parasitism. In addition to cutaneous involvement, cardiac alterations can
 473 already be identified in routine and imaging exams, which deserves further development with the

474 implementation of advanced echocardiographic techniques; correlated with histopathological
475 analyzes in order to contribute to the clarification of the transformations experienced by the organ
476 in infections parasitic.

477 **Materials, Methods & Results:** Seventeen adult dogs with positive serological diagnosis for CVL
478 were used. These underwent transthoracic echocardiographic examination to obtain standardized
479 morphological and hemodynamic variables for dogs and humans. The longitudinal myocardial
480 deformation of the left ventricle (LV) was evaluated. The software algorithm automatically
481 divided the cut plane of the short and long axes of the left ventricle into 7 segments, involving the
482 interventricular septum, the free wall and the apex, for tracking points in the myocardium
483 (speckles). The maximum values of the radial strain (ST) and strain rate (SR) profiles in the
484 longitudinal peak systolic were referenced using seven curves, and the mean values were
485 calculated to characterize the global ST and SR during the left ventricular systolic peak. In all, 17
486 myocardial segments were analyzed for each specimen, and the mean values, together with the
487 parameters obtained by the echocardiographic examination, were used for statistical analysis.
488 Among the analyzed cardiac levels, the basal one showed the highest mean value of -14.8,
489 followed by the medial one with -16, followed by the apical one with -17.8. Among the basal level,
490 the lower segment (INF) had the highest mean value, with -13.4; at the medial level, the highest
491 mean value was found in the anterior segment (ANT), with a value of -14.5; in the apical one, the
492 highest value was found in the anterosuperior segment (ANT-SUP), with a value of -16.8. Among
493 the segments, the one with the highest mean value was found in ANT, with a mean of -15.5,
494 followed by INF, with a mean value of -15.8.

495 **Discussion:** General echocardiographic evaluations showed that there is a profile of diastolic
496 dysfunction in basal segments of the left ventricle for patients infected with parasites of canine
497 visceral leishmaniasis, the same segments reaffirmed by the study of myocardial deformation
498 using speckle tracking. The segmental evaluation of the left ventricle due to the presence of

499 myocarditis showed findings of low prevalence of inflammatory infiltrates, concentrated in the
500 septal apical region. However, they suggest the presence of myocardial alterations in LV as being
501 common in dogs with CVL. Segmental analysis in the LV longitudinal axis showed regional
502 (apical 3-chamber and 4-chamber) and global myocardial deformity, with greater numerical
503 variation in the basal segments. Studies in patients with chronic heart disease secondary to
504 protozoan infections have shown that deformities in basal segments have a strong diagnostic value
505 for myocardial fibrosis and myocarditis. The autoimmune process explains the presence of
506 microscopic lesions even in the absence of the parasite in the cardiac tissue, but it does not explain
507 the predilection of the basal areas for the occurrence of fibrosis. New studies evaluating in parallel
508 the presence of myocardial inflammation and the behavior of these cytokines circulating in target
509 organs with immunological activity are indicated to confirm the immune response present in the
510 myocardium of dogs affected by CVL.

511 **Keywords:** infectious diseases, diagnostic imaging, cardiology, dogs, cardiac deformation.

512 INTRODUCTION

513 Visceral leishmaniasis (VL) is an infectious disease caused by protozoa that invade cells
514 of the mononuclear phagocytic system of humans and animals [22,36]. From an epidemiological
515 point of view, the dog is the most important reservoir and risk factor for the occurrence of VL in
516 other species [5].

517 Cardiac parasitism by VL is a reality [3,7]. Reports of morphological changes in affected
518 dogs and humans pointed to the same clinical and histopathological evidence of myocarditis
519 [18,25].

520 The use of imaging tests to identify cardiac alterations is not widely established, however,
521 some techniques can assess cardiovascular co-involvement related to the presence of the parasite,
522 such as echocardiography [36]. Left ventricular dysfunctions have been reported in patients with
523 CVL and have been detected in dogs with myocarditis [9,28]. Other studies performed in humans

524 with myocarditis showed pleural effusion, increased thickness of the interventricular septum and
525 the posterior wall of the left ventricle (LV), as well as a reduction in the ejection fraction [32].

526 The incorporation of advanced features to echocardiography, such as strain by speckle
527 tracking, allows to refine the analysis of ventricular function, enabling the assessment of clinical
528 indices of regional and global myocardial deformation [2,10]. The analysis of cardiac alterations
529 induced by canine visceral leishmaniasis is limited and deserves further investigation using
530 advanced echocardiographic techniques.

531 The aim of this study was to evaluate the segmental function of the left ventricle of dogs
532 naturally infected with canine visceral leishmaniasis by evaluating the myocardial deformity using
533 the speckle tracking strain method.

534 **MATERIALS AND METHODS**

535 This study was carried out at the Specialized Veterinary Diagnosis Nucleus (NUDIVE) of
536 the Federal University of Piauí at the Surveillance Unit in Zoonoses (SUZ) of Teresina-PI. The
537 research was previously approved by the ethics committee of the Teresina Municipal Health
538 Foundation through a declaration of authorization from the co-participating institution for access
539 to the CCZ and donation of animals to the project, as well as being approved by the Ethics
540 Committee on the Use of Animals (CEUA/UFPI) with registration No. 378/17, following the
541 precepts of Law No. 11.794, of October 8, 2008, of Decree No. 6.899, of July 15, 2009, and with
542 rules published by the National Council of Control of the Animal Experimentation (CONCEA).

543 Seventeen (17) adult dogs (1 to 10 years old), weighing between 5 and 15 kg, were
544 collected by the CCZ of mixed breed (MB) with positive serological diagnosis for CVL
545 recommended by the diagnostic methods of the Ministry of Health and used by the CCZ. The
546 animals selected for the research presented a positive diagnosis (seropositivity) for visceral
547 leishmaniasis established by the Ministry of Health, which uses the rapid immunochromatographic
548 test (RIT®) as a screening test and the serological test Indirect Enzyme-linked Immunosorbent

549 Assay (ELISA) as confirmation. In addition, amastigote forms were detected in smears of slides
550 obtained by parasitological examination of bone marrow puncture and lymph node aspirates using
551 the latter as the gold standard for detecting the disease.

552 Subsequently, dogs with a positive serological and parasitological diagnosis for visceral
553 leishmaniasis underwent transthoracic echocardiographic examination using a Philips CX50
554 Compactxtreme Portable Ultrasound Machine-System associated with the S5-1 cardiac sectorial
555 transducer, making echocardiographic images. An access in right and left parasternal window was
556 located between the third and sixth intercostal space, applying coupling gel¹ in this thoracic area
557 to assess cardiac structure and functioning. For this, the animals were previously subjected to
558 trichotomy in the thoracic region and placed in lateral decubitus under a table. The technique
559 consists of two-dimensional (B mode) and one-dimensional (M mode) visualization of the heart
560 triggered by different positions of the transducer (in a ventral approach to the chest) in contact
561 with echocardiographic windows, plus a conductive gel.

562 A portable ultrasound device² (M-Turbo) associated with a sectorial transducer (5.0 MHz)
563 was used, producing echocardiographic images (Figure 1). Echocardiographic examination and
564 standard measurements were performed according to previously established protocols for non-
565 human primates and humans. In the right parasternal projection, measurements were taken of the
566 free wall of the left ventricle and the interventricular septal thickness in diastole and systole
567 (LVFWd, LVFWs, IVSTd, IVSTs), the left ventricular end-diastolic and end-systolic diameter
568 (LVDD and LVDs), 2D aortic root diameter (Ao) and left atrium (LA). Shortening fraction (FS)
569 and ejection fraction (EF — Teichholz method) were calculated. In addition, measurements were
570 made of the end diastolic ratio between the aorta and the left atrium (LA/Ao), pulmonary artery
571 flow velocity (Pmax) and the right branch of pulmonary artery distensibility index (RBPADI) by
572 the M mode in the pulmonary plane.

573 In the left parasternal window, through the apical four-chamber view, peak aortic velocity
574 (AV), isovolumetric relaxation time (IVRT), mitral initial diastolic flow (E wave) (Figure 2),
575 mitral late diastolic flow (A wave) were calculated, E/IVRT ratio, mitral annular movement
576 (MAM) and systolic excursion of the tricuspid annulus plane (SETAP). Pulsed Tissue Doppler
577 (PTD) imaging was performed in the left ventricle (E' and A' waves) and right ventricle (E'RV
578 and A'RV) (Figure 3). Heart rate (HR) was obtained from pulmonary artery Doppler tracking. The
579 flow assessment of the mitral, tricuspid, aortic and pulmonar valves, as well as the great vessels,
580 was performed using color and spectral Doppler in each individual valve. The dimension of the
581 2D sector was adjusted to improve image quality and calibrate the color gain to demonstrate the
582 excellent filling of the investigated chambers and vessels. The highest pulse repetition frequency
583 (PRF) was used to avoid aliasing signals in normal flows.

584 To obtain cardiac strain values, a Philips Portable Ultrasound Machine-System³ (CX50
585 Compactxtreme) was used and the ACMQA.I (Automatic Cardiac Movement Quantification)
586 software was used to analyze the longitudinal myocardial strain of the left ventricle. After
587 conventional echocardiographic examination, the left and right parasternal windows for video
588 acquisition were evaluated at a frame rate of 70 to 110 frames/s, as previously described for
589 humans [1]. The left parasternal window was used to assess the longitudinal axis of the left
590 ventricle (2 chambers, 3 chambers and 4 apical chambers) (Figure 4).

591 The endocardial borders of the left ventricle were manually tracked at the end of diastole.
592 In each section plane, a region of interest was automatically delineated from the endocardial
593 border. The software algorithm automatically divided the cut plane of the short and long axes of
594 the left ventricle into 7 segments, involving the interventricular septum, the free wall and the apex,
595 for tracking points in the myocardium (speckles). The search for points was carried out frame by
596 frame, generating a score that represents the tracking reliability, ranging from poor to excellent,
597 based on blocks that correspond to the algorithm.

598 Six longitudinal profiles of ST (strain rate) and SS (strain speed) values were obtained,
599 corresponding to the average of the values for each segment. The maximum values of the radial
600 profiles of ST and SS at the longitudinal systolic peak were referenced using seven curves, and the
601 mean values were calculated to characterize the global ST and SS during the left ventricular
602 systolic peak. Myocardial synchronism was evaluated according to the difference between the
603 initial and final moment of the systolic peak. In all, 17 myocardial segments were analyzed for
604 each specimen, and the mean values, together with the parameters obtained by the
605 echocardiographic examination, were used for statistical analysis. During all echocardiographic
606 examinations, the animals were kept under continuous electrocardiographic monitoring coupled
607 with ultrasound equipment.

608 R software version 3.5.3 was used to analyze the survey data. The analyzed variables are
609 presented in tables containing mean, standard deviation (SD), coefficient of variation (CV). The
610 Shapiro-Wilk test was used to verify the normality of the variables, with a significance level of
611 0.05. The 95% confidence interval for the mean was constructed for normal variables, when the
612 test found strong evidence against the normality hypothesis, the confidence interval *via bootstrap*
613 with 95% confidence was used. To verify the correlation between variables, Pearson's linear
614 correlation was used.

615 In order to analyze the coverage, through the reference interval (RI), of the confidence
616 interval (95% CI) for the estimated mean, the calculation of the percentage of coverage was used,
617 which is given by $Cov\% = 100 \times (LenI \div LenIC95\%)$, where *LenI* is the length of the interval
618 generated from the intersection between the reference interval and the confidence interval, and
619 *LenIC95%* is the length of the confidence interval.

620 For the CV classification, the one by Pimentel Gomes (1985) [31] was considered, which
621 proposed as follows: low, when less than 10%; medium, between 10 and 20%; high, when between
622 20 and 30%; and very high, when they are above 30%.

623

624

RESULTS

625

626

627

628

629

630

631

632

633

634

635

636

In Table 1, it is observed through the coefficient of variation (CV) that the variables related to cardiac parameters measured by the echocardiographic examination of dogs with visceral leishmaniasis present homogeneity classified between medium and high, all with normal distribution according to the Shapiro-Wilk test (except for the variables LA/Ao and IVRT). Note that the 95% confidence interval (CI) of the Right Ventricular Tissue Doppler parameter (RVTD) A' is poorly covered by the reference interval (8.1%), indicating an abnormality trend for this parameter; the average of 12.53 cm/s is above the upper limit of the reference range. Regarding the variables that only have a reference point, it can be noted that they all belong to the 95% confidence interval, as is the case for the variable weight, with an RI value of 9 kg \in 95% CI [8.56 kg - 10.27 kg]. Regarding systolic function activities, all parameters are within normal limits. The lowest percentage of coverage is 61.8% in the fractional shortening variable (Fshort%); all means are within the reference range (Table 2).

637

638

639

640

Regarding the activity of the diastolic function, the parameters E:E' and Vel A' sep are highlighted, whose mean values are outside the reference range and whose coverage percentages are, respectively, 40.9% and 22.2%, indicating an abnormality trend in these variables; the other parameters are within the normal range (Table 3).

641

642

643

644

645

646

The strain results show that the parameters AP3, AP4 and Strain are outside the normal range with 0% coverage, with their respective means outside the RI and higher than their respective upper normal limits. The same can be seen with the fractional ejection (FE) variable, which is outside the reference limit, with an average lower than the lower limit of normality. Regarding the SV variable of time that only have a reference point, it can be observed that the point belongs to the 95% confidence interval (Table 4).

647 In Table 5, it is observed that among the analyzed levels, the basal has the highest mean
648 value of -14.8, followed by the medial with -16, followed by the apical with -17.8. Among the
649 basal level, the INF segment has the highest mean value, with -13.4; at the medial level, the highest
650 mean value is found in the ANT segment, with a value of -14.5; in the apical, the highest value is
651 found in the ANT-SEPT segment with a value of -16.8. Among the segments, the one with the
652 highest mean value was found in ANT, with a mean of -15.5, followed by INF, with a mean value
653 of -15.8.

654 Table 6 shows that only the variables VDF (ml) (S) and VSF (ml) (S) had significant
655 correlations with AP2 Global, with values of 0.483 and 0.632, respectively; and only E:IVRT (D)
656 had a significant correlation with AP4 Global, with a value of 0.512.

657

658

DISCUSSION

659 The present study deals with an approach of the echocardiographic parameters most
660 frequently found in canines with positivity for the parasite that causes canine visceral
661 leishmaniasis. Other studies carried out in dogs with CVL have demonstrated cardiovascular
662 involvement in animals that have symptoms and parasitology for the disease [3,18,37,38,40]. In
663 human patients, cardiac involvement secondary to *Leishmania infantum* infection is already an
664 important factor to be taken into account in treatments, due to the considerable changes shown in
665 the echocardiographic exams of these patients, which include reports of arrhythmias and
666 pericardial effusion [23,26,35].

667 The presence of sinus arrhythmias has been one of the most frequent findings in patients
668 with CVL [38], however the electrocardiographic examination is limited to the conclusion of
669 existing myocardial alterations, which should be associated with imaging and morphological
670 examinations. The echocardiogram, in turn, detects morphofunctional and blood flow changes

671 [13], including segmental changes in the myocardial wall, thanks to the Tissue Doppler method
672 for evaluating deformity or strain by demarcating points or speckles [8].

673 In the animals analyzed in this study, it was found that the echocardiographic variables
674 LA/Ao and IVRT had an abnormal distribution, with some animals with values outside the
675 reference range, the average being close to the maximum limits established in the literature for
676 healthy dogs. The increase in the left atrial dimension is one of the first indicators of cardiac
677 remodeling secondary to valve diseases with mitral regurgitation, diastolic dysfunction or even the
678 degree of fibrous tissue deposition leading to a reduction in myocardial compliance [21]. These
679 dysfunctional characteristics may reflect the increase in IVRT, leading to losses in the myocardial
680 relaxation phase due to the influences caused by pressure gradients at the time of aortic valve
681 closure and mitral opening [11].

682 Diastolic dysfunction (DD) is the increase in impedance to ventricular filling and is
683 associated with many structural or functional cardiac disorders, both external and internal. In
684 parasitic diseases, damage to the myocardium and consequently functional changes that coincide
685 with DD have been reported [34]. The dogs parasitized with *Leishmania chagasi* in the experiment
686 presented an expressive frequency of DD, and of these, most are in stage II or pseudonormalized
687 stage, where there are signs of increased left atrial pressure.

688 In this situation there is impairment of myocardial relaxation but with preserved
689 compliance added to atrial pressure increase [26]. In studies carried out in dogs with *Trypanosoma*
690 *cruzi* protozoa, diastolic dysfunction was one of the most reported alterations, being further
691 justified by the histopathological results of the myocardium that revealed the intense cardiac
692 fibrosis in the basal walls, consequent to myocarditis due to the chronic infection of the parasite,
693 triggering damage to the myocardial fibers [30,34].

694 The parameters that reinforced the diastolic dysfunction present in the research animals are
695 the E:E' ratio and the A' velocity measured by tissue Doppler of the septal wall, which presented

696 mean results greater than the reference interval for healthy dogs. In a study carried out with the
697 aim of exploring the diagnostic value of tissue Doppler in determining diastolic dysfunction and
698 differentiating the normal group from the pseudonormal group, it was observed that the parameters
699 with the highest diagnostic sensitivity and specificity were the ratio cutoff points $E/E' > 12.34$ and
700 $A' > 7.6$ cm/s [14].

701 Doppler echocardiography provides safe, non-invasive access to left ventricular filling
702 patterns. The E/E' and A' ratio variables have a strong correlation with the invasively measured
703 values, representing a great advance for veterinary cardiology because most patients for whom the
704 estimation of this pressure is necessary to determine their prognosis have decompensated heart
705 disease, presenting great anesthetic risk, making it impossible to carry out invasive procedures,
706 such as the implantation of catheters, to measure ventricular pressure [6].

707 On the other hand, the systolic function of animals positive for visceral leishmaniasis was
708 preserved with parameters within the reference values for healthy dogs. In a study to assess systolic
709 function by ejection fraction and shortening fraction, the 'Leishvet working group' detected that
710 animals without treatment and positive for the disease, maintained preserved systolic function,
711 with alterations in hyperdynamic contraction or dysfunction only mediated by different therapeutic
712 protocols for the disease [4].

713 Cardiac systolic function is closely related to fractional shortening measured by
714 longitudinal strain. This relationship was demonstrated experimentally by Weideman et al. (2002)
715 [41] and in previous clinical studies by Reant et al. (2012) [33], Hayat et al. (2012) [12] and Kleijn
716 et al. (2012) [15]. These authors also found a good correlation, especially with the measurement
717 of the global strain area using three-dimensional speckles tracking echocardiography ($r = 0.81-$
718 0.91). However, according to the longitudinal strain, systolic dysfunction observed in dogs with
719 visceral leishmaniasis, this change combined with diastolic dysfunction, suggests myocardial
720 impairment, interfering in the muscle reaction to contraction and relaxation in a cardiac cycle.

746 ¹Mercur®, São Paulo, SP, Brazil

747 ²Sonosite FUJIFILM, São Paulo, SP, Brazil

748 ³Philips CX50 Compactxtreme, Philips Medical Systems, São Paulo, SP, Brazil

749

750 **Thanks.** The authors would like to thank the Center for Specialized Veterinary Imaging Diagnosis
751 – NUDIVE, at the Federal University of Piauí - UFPI and the Surveillance Unit in Zoonoses –
752 SUZ, for making the animals available. They also thank the Coordination for the Improvement of
753 Higher Education Personnel – CAPES, for the granting of the Doctoral Scholarship.

754

755 **Ethical Approval.** The protocols used in this study were approved by the Animal Experimentation
756 Ethics Committee - CEEA/UFPI (N° 378/2017) and authorized by the Surveillance Unit in
757 Zoonoses, through the Municipal Health Foundation.

758

759 **Declaration of interest.** The authors declare no conflicts of interest.

760

761 REFERENCES

762 **1 Abduch M. C. D.; Alencar A. M.; Mathias Jr W. & Vieira M. L. C. 2014.** Cardiac mechanics
763 evaluated by speckle tracking echocardiography. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*. 1(1): 1-10.

764 **2 Almeida A. L. C.; Gjesdal O.; Mewton N.; Choi E. Y.; Teixido-Tura G.; Yoneyama K. &**
765 **Lima, J. A. C. 2013** Speckle-Tracking pela Ecocardiografia Bidimensional–Aplicações Clínicas.
766 *Revista Brasileira de Ecocardiogr e Imagem Cardiovasc.* 26(1): 38-49.

767 **3 Alves G. B. B.; Pinho F.A.; Silva S. M. M. S.; Cruz M. S. P. & Costa F. A. L. 2010.** Cardiac
768 and pulmonary alterations in symptomatic and asymptomatic dogs infected naturally with
769 *Leishmania chagasi*. *Brazil Journal of Medical and Biological Research*. 43(3): 310-315.

- 770 **4 Balıkcı C. & Kerem U. R. A. L. 2018.** Canine Visceral Leishmaniasis' in Farklı Evrelerinde
771 Ekokardiyografik Ejeksiyon Fraksiyonu ve Fraksiyonel Kısalmının Değerlendirilmesi. *Kocatepe*
772 *Veteriner Dergisi*, 11(1):45-52.
- 773 **5 Calzada J. E.; Saldaña A.; González K.; Rigg C.; Pineda V.; Santamaría A. M.; Rodriguez**
774 **I.; Gottdenker N. L.; Laurenti M. D. & Chaves L. F. 2015.** Cutaneous Leishmaniasis in dogs:
775 is high seroprevalence indicative of a reservoir role. *Parasitology*, 142(09): 1202-1214.
- 776 **6 Costa A. P. A.; Nasciutti P. R.; Júnior S.; Santos T. K. & Carvalho R. D. O. A. 2015.**
777 Métodos ecodopplercardiográficos para avaliação da função diastólica em pequenos animais.
778 *Enciclopédia Biosfera*. 11(22): 2233-2253.
- 779 **7 Daher E. D. F.; Soares D. S.; Parente Filho S. L. A.; Meneses G. C.; Sandes Freitas, T. V.**
780 **S.; Leite T. T. & Silva Junior G. B. 2017.** Hyponatremia and risk factors for death in human
781 visceral leishmaniasis: new insights from a cross-sectional study in Brazil. *BMC Infectious*
782 *Diseases*. 17(1): 1-8.
- 783 **8 Deniz A.; Sahiner L.; Aytemir K.; Kaya B.; Kabakci G.; Tokgozoglul. & Oto, A. 2012.**
784 Tissue Doppler echocardiography can be a useful technique to evaluate atrial conduction
785 time. *Cardiology Journal*. 19(5): 487-493.
- 786 **9 Domenico C.; Schettino S.; Martelo S.; Deus F.; Vargas A.; Paschoal M.; Tassi E.; Novis**
787 **R.; Novis S.; Pimentel M. L. & Novis S. 2008.** Diagnóstico clínico e radiológico da miocardite
788 aguda e uma complicação não-usual. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio de*
789 *Janeiro*. 21(5):338-44.
- 790 **10 Furtado R. G.; Frota D. D. C. R.; Silva J. B. M.; Dias M. M.; Romano O. C. D. A. F.;**
791 **Schmidt A. & Rassi, S. 2015.** Estudo do Ventrículo Direito na Forma Indeterminada da Doença
792 de Chagas pelo Doppler Ecocardiograma. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*. 104(3): 209-217.
- 793 **11 Graziosi P. 1998.** Análise ecocardiográfica da função diastólica do ventrículo esquerdo na
794 hipertensão arterial. *Hiper Ativo*. 5(2): 175-188.

- 795 **12 Hayat D.; Kloeckner M.; Nahum J.; Ecochard-Dugelay E.; Dubois-Rande J. L.; Jean-**
796 **Francois D.; Guéret P. & Lim P. 2012.** Comparison of real-time three-dimensional speckle
797 tracking to magnetic resonance imaging in patients with coronary heart disease. *The American*
798 *Journal of Cardiology.* 109(2): 180-6.
- 799 **13 Kadappu K. K. & Thomas, L. 2015.** Tissue Doppler imaging in echocardiography: value and
800 limitations. *Heart, Lung and Circulation,* 24(3): 224-233.
- 801 **14 Kibar M.; Markovic M.; Kolm U. S. & Thalhammer J. 2009.** Determination of diastolic
802 dysfunction by conventional and Doppler tissue echocardiography in dogs. *Turkish Journal of*
803 *Veterinary & Animal Sciences.* 33(6): 501-507.
- 804 **15 Kleijn S. A.; Brouwer W. P.; Aly M. F.; Russel I. K.; De Roest G. J.; Beek A. M.; Van**
805 **Rossun A. C. & Kamp O. 2012.** Comparison between three-dimensional speckle-tracking
806 echocardiography and cardiac magnetic resonance imaging for quantification of left ventricular
807 volumes and function. *European Heart Journal. Cardiovascular Imaging.* 13(10): 834-839.
- 808 **16 Lang R. M.; Badano L. P.; Mor-avi V.; Afilalo J.; Armstrong A.; Ernande**
809 **L.; Flachskampf A. F.; Foster E.; Goldstein S. A.; Kuznetsova T.; Lancellotti P.; Muraru**
810 **D.; Picard M. H.; Rietzschel E. R.; Rudski L.; Spencer K. T.; Tsang W. & Voigt J. U. 2015**
811 **Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An**
812 **Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of**
813 **Cardiovascular Imaging.** *European Heart Journal. Cardiovascular Imaging.* 16(3): 233-71.
- 814 **17 Lima P. E. 2016.** *Correlação entre Ecocardiografia Strain e Fibrose Miocárdica em Doença*
815 *de Chagas na Forma Cardíaca Leve.* Dissertação Mestrado. Curso de Pós-Graduação em
816 *Tecnologias em Saúde da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador-BA.*
- 817 **18 Lopez-Pena M.; Aleman N.; Munoz F.; Fondevila D.; Suarez M. I.; Goicoa A.; Nieto J. M.**
818 **2009.** Visceral leishmaniasis with cardiac involvement in a dog: a case report. *Acta Vet.Scand.,*
819 51(1): 20.

- 820 **19 López-Peña, M.; A. N.; Muñoz, F.; Fondevila, D.; Suárez, M. L.; Goicoa, A. & Nieto, J.M.**
821 **2009.** Visceral leishmaniasis with cardiac involvement in a dog: a case report. *Acta Veterinaria*
822 *Scandinavica*. 51(1): 1-3.
- 823 **20 Madron E. 2016.** Echocardiographic Evaluation of the Left Ventricle Filling Pressure. In:
824 *Madron E.; Chetboul V. & Bussadori C. (Eds) Clinical Echocardiography of the Dog and Cat*. 1.ed.
825 São Paulo: Elsevier Masson, pp.200-201.
- 826 **21 Mady C.; Salemi V. M. C.; Ianni B. M.; Fernandes F. & Arteaga, E. 2005.** Relação do
827 tamanho do átrio esquerdo com a capacidade de exercício na endomiocardiofibrose. *Arquivos*
828 *Brasileiros de Cardiologia*. 84(3): 222-224.
- 829 **22 Marcondes M. & Rossi C. N. 2013.** Leishmaniose visceral no Brasil. *Brazilian Journal of*
830 *Veterinary Research and Animal Science*. 5(5): 341-352.
- 831 **23 Marcos F. S.; Vázquez A. G.; Llorente P. D.; Hernández C. L.; De La Nieta S. & Durán**
832 **A. P. N. 1989.** Pericardial effusion in the course of visceral leishmaniasis. *Anales de Medicina*
833 *Interna (Madrid, Spain: 1984)*. 6(3): 164-164.
- 834 **24 Marin-Neto J. A.; Simões M. V. & Sarabanda A. V. L 2000.** Forma Crônica Cardíaca. In: Z
835 Brener Z.A.; Andrade M.; Barral-Neto (Eds). *Trypanosoma Cruzi e Doença de Chagas*. 2.ed. Rio
836 de Janeiro: Guanabara Koogan, pp.266-296.
- 837 **25 Mendes R. S.; Gurjao T. A.; Oliveira L. M.; Santana V. L.; Tafuri W. L.; Santos J. R. S.;**
838 **Dantas A. F. M. & Souza A. P. 2014.** Miocardite crônica em um cão naturalmente infectado com
839 *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*: aspectos clínicos e patológicos. *Arquivo Bbrasileiro*
840 *de Medicina veterinária e Zootecnia*. 66(1): 79-84.
- 841 **26 Mofredj A.; Guerin J. M.; Leibinger F., & Masmoudi, R. 2002.** Visceral leishmaniasis with
842 pericarditis in an HIV-infected patient. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 34(2): 151-
843 153.

- 844 **26 Nelson O. L. & Thompson, P. A. 2006.** Cardiovascular dysfunction in dogs associated with
845 critical illnesses. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 42(5): 344-349.
- 846 **28 Padua P. P. M. 2013.** Cardiomiopatia hipertensiva em cães com leishmaniose visceral. xi, 68
847 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de
848 Ciências Agrárias e Veterinárias.
- 849 **29 Paradies P.; Sasanelli M.; Zaza V.; Spagnolo P.; Ceci L. & De Caprariis D. 2012.** Doppler
850 echocardiographic prediction of pulmonary hypertension in canine leishmaniasis. *Veterinary*
851 *Science*. 119-123.
- 852 **30 Pascon J. P. E.; Sousa M. G. & Camacho, A. A. 2009.** Parâmetros ecocardiográficos de cães
853 cronicamente infectados com *Trypanosoma cruzi* (Cepa Colombiana). *Revista Portuguesa de*
854 *Ciências Veterinárias*. 104(569-572): 55-60.
- 855 **31 Pimentel-Gomes. 1985.** *Curso de Estatística Experimental*. 1.ed. Piracicaba-SP. ESALQ/USP,
856 pp28.
- 857 **32 Pinho A. M. C. 2012.** Miocardites - Contributo da ressonância magnética na sua caracterização.
858 Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.
- 859 **33 Reant P.; Barbot L.; Touche C.; Dijos M.; Arsac F.; Pillois X.; Landelle M.; Roudaut R.**
860 **& Lafitte S. 2012.** Evaluation of global left ventricular systolic function using three-dimensional
861 echocardiography speckle-tracking strain parameters. *Journal of American Society of*
862 *Echocardiography*. 25(1) :68-79.
- 863 **34 Santos F. M.; Mazzeti A. L.; Caldas S.; Goncalves K. R.; Lima W. G.; Torres R. M., &**
864 **Bahia M. T. 2016.** Chagas cardiomyopathy: The potential effect of benznidazole treatment on
865 diastolic dysfunction and cardiac damage in dogs chronically infected with *Trypanosoma*
866 *cruzi*. *Acta Tropica*. 161: 44-54.

- 867 **35 Shrivastava R.; Sinha P. R.; Singh V. P. & Sundar, S. 2006.** Echocardiographic evaluation
868 of cardiac status in Indian visceral leishmaniasis patients. *Transactions of the Royal Society of*
869 *Tropical Medicine and Hygiene.* 101(5): 429-432.
- 870 **36 Silva F. L.; Olivera R. G.; Silva T. M. A.; Xavier M. N.; Silva F. S. 2007.** Patologia e
871 patogênese da leishmaniose visceral canina. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas.*
872 1(1): 20-31.
- 873 **37 Silva V. B. C.; Sousa M. G.; Araújo C. R. A.; Lima A. B. G. & Carareto, R. 2016.** Cardiac
874 biomarkers in dogs with visceral leishmaniasis. *Archivos de Medicina Veterinaria.* 48(3): 269-
875 275.
- 876 **38 Sousa M. G.; Carareto R.; Silva J. G. & Oliveira J. 2013.** Assessment of the
877 electrocardiogram in dogs with visceral leishmaniasis. *Pesquisa Veterinária Brasileira.* 33(5):
878 643-647
- 879 **39 Tilley L. P. 1992.** *Essentials of canine and feline electrocardiography: interpretation and*
880 *treatment.* 1.ed. Philadelphia: Lea & Febiger. pp.60-80.
- 881 **40 Torrent E.; Leiva M.; Segalés J.; Franch J.; Peña T.; Cabrera B. & Pastor J. 2005.**
882 Myocarditis and generalised vasculitis associated with leishmaniosis in a dog. *J. Small Anim.*
883 *Pract.,* 46:549–552.
- 884 **41 Weidemann F.; Jamal F.; Sutherland G. R.; Claus P.; Kowalski M.; Hatle L.; De**
885 **Scheerder I.; Bijmens B. & Rademakers F. E. 2002.** Myocardial function defined by strain rate
886 and strain during alterations in inotropic states and heart rate. *American Journal of Physiology.*
887 *Heart and Circulatory Physiology.* 283(2): 792-799.
- 888 **42Yacoub S.; Kotit S.; Mocumbi A. O. & Yacoub M. H. 2008.** Neglected diseases in cardiology:
889 a call for urgent action. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine.* 5(4): 176-177.

890

891 **LEGEND**

892 **Figures**

893 Figure 1. Echocardiographic board with two-dimensional (2D) M mode images of dogs with
894 canine visceral leishmaniasis. (A) Two-dimensional short axis image in the right parasternal
895 window. (B) The M mode was used to measure the interventricular septal wall, left ventricular
896 wall, left ventricular internal dimensions, and ejection and shortening fractions by the Teichholz
897 method. (C) The two-dimensional right short axis plane at the base of the heart used to measure
898 the LA/Ao ratio. (D) The M mode was used to measure the distensibility of the right branch of the
899 pulmonary artery. (E) Apical 4-chamber plane and (F) apical 5-chamber plane.

900

901 Figure 2. Board with Doppler echocardiographic images obtained from dogs with canine visceral
902 leishmaniasis. (A) Pulse Doppler evaluation of the pulmonary flow velocity curves and (B) aortic
903 flow. (C) Evaluation of pulsed Doppler inflow of the mitral valve showing early diastolic mitral
904 inflow and late diastolic mitral inflow.

905

906 Figure 3. Board with Pulsed Tissue Doppler (PTD) echocardiographic images of dogs with canine
907 visceral leishmaniasis. (A) 4-chamber apical PTD, showing the septal mitral annulus and the left
908 ventricular free wall (C). (B) Myocardial velocity curve of the tricuspid annulus.

909

910 Figure 4. Echocardiographic examination board showing the longitudinal strain of the left ventricle
911 (LV) in dogs with canine visceral leishmaniasis. Global deformation was acquired by summing
912 the cardiac cycle in three apical planes obtained from the LV: two chambers / AP2 (A), three
913 chambers / AP3 (B) and four chambers / AP4 (C). The software algorithm automatically separates
914 the LV apical plane into 7 myocardial segments to include the interventricular septum and LV free
915 wall. The screening approval of each individual myocardial segment is displayed on the screen.
916 At the end, the global longitudinal strain (D) is obtained.

917

918 **Tables**

919 Tabela 1. Cardiac parameters of dogs naturally affected with visceral leishmaniasis used in the
920 research

921

922 Table 2. Systolic function parameters of dogs naturally affected with visceral leishmaniasis

923

924 Table 3. Diastolic function parameters of dogs naturally affected with visceral leishmaniasis

925

926 Table 4. Longitudinal Strain result of the left ventricle of dogs naturally affected by CVL.

927

928 Table 5. Average Strain per level.

929

930 Table 6. Pearson correlation between strain measurement parameters and systolic, diastolic and
931 strain parameters.

932

933

934

935

936

937

938

939

940

941

942

943

ANEXO (FIGURAS DO ARTIGO)

FIGURA 1

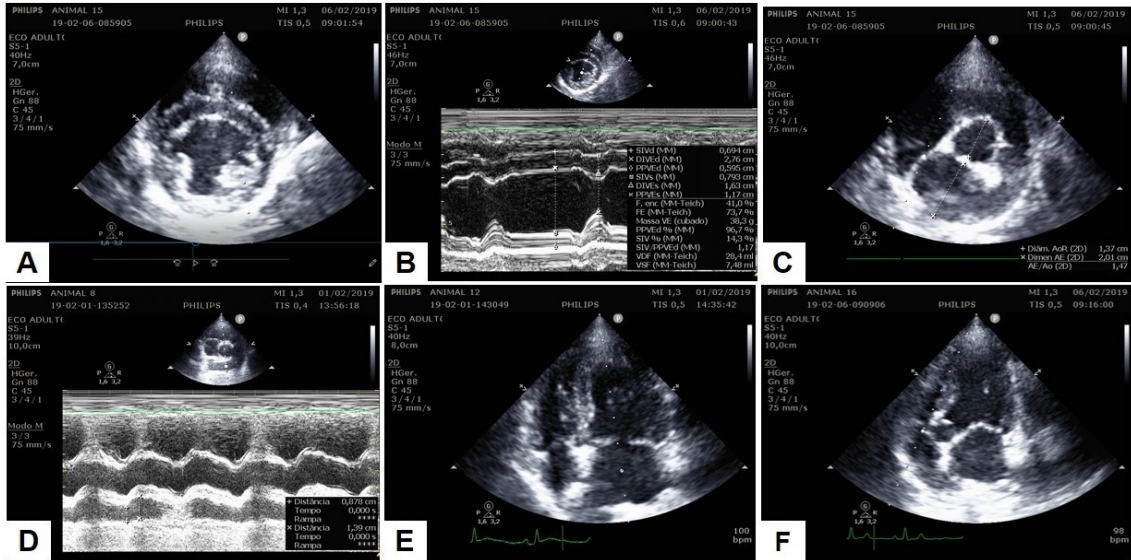


FIGURA 2

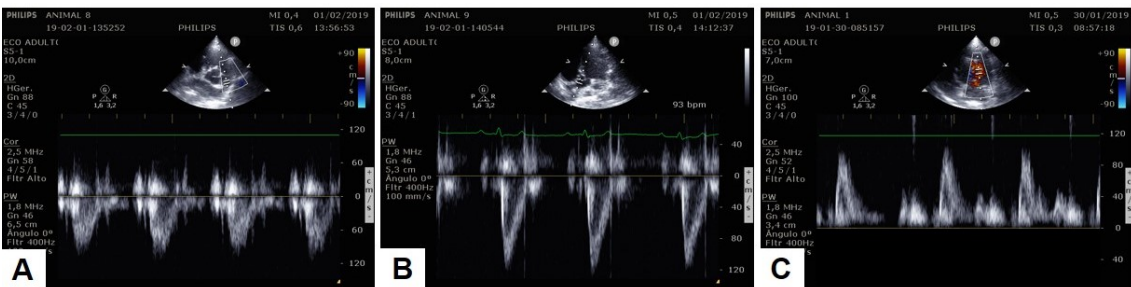


FIGURA 3

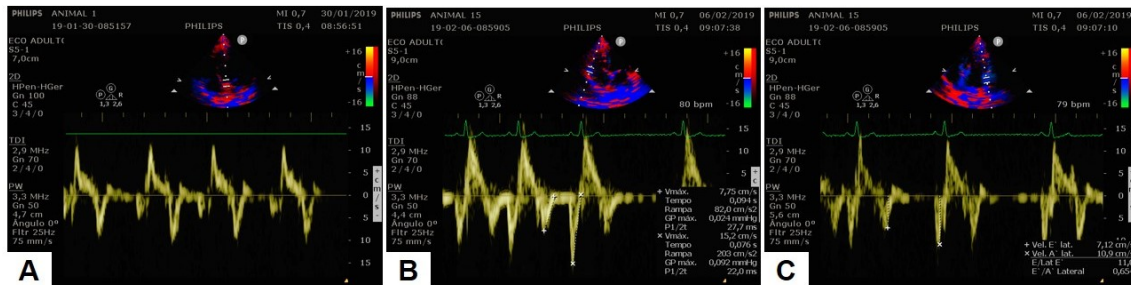
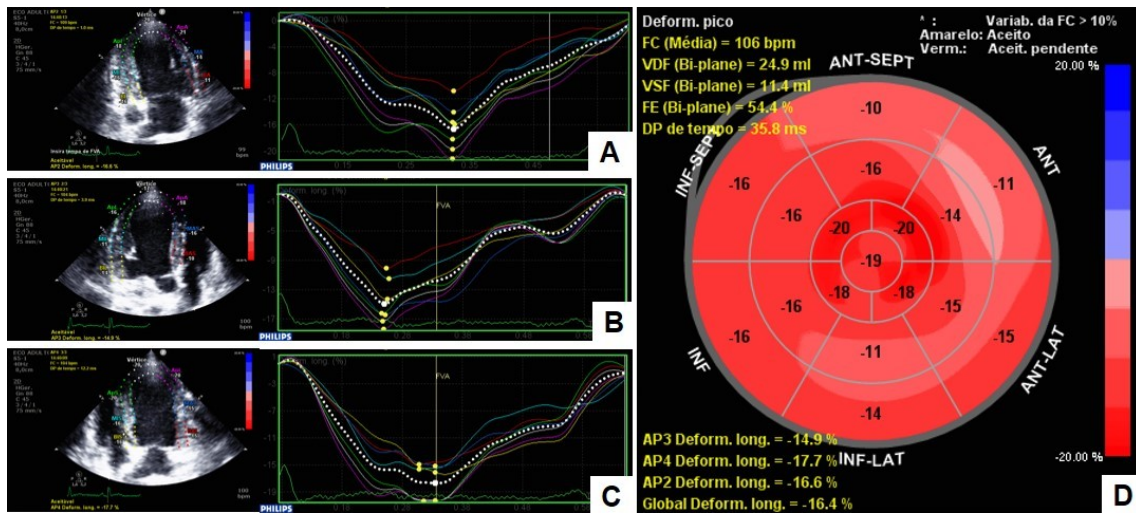


FIGURA 4



ANEXO (TABELAS DO ARTIGO)

TABELA 1

Variable	Average	SV	CV	RI	95% CI	Cov%	<i>p value</i>
Weight (kg)	9.41	1.66	0.18	9	8.56 – 10.27	-	<0.001*
LA/Ao	1.49	0.28	0.19	0.98 – 1.70	1.37 – 1.63	100	0.014*
RVTD A' (cm/s)	12.53	2.87	0.23	3.00 – 11.3	11.06 – 14.01	8.1	0.927
RVTD E' (cm/s)	12.16	3.19	0.26	5.80 – 17.1	10.52 – 13.8	100	0.320
LVTD sep A' (cm/s)	8.19	2.06	0.25	0.80 – 10.6	7.13 – 9.24	100	0.554
LVTD sep E' (cm/s)	7.81	2.09	0.27	3.20 – 14.7	6,74 – 8.89	100	0.165
E/A	1.66	0.43	0.26	0.92 – 2.72	1.44 – 1.88	100	0.952
HR (bpm)	113.82	24.69	0.22	52.0 - 171	101.13 – 126.52	100	0.836
FE%	68.22	8.34	0.12	64.9 – 76.9	63.93 – 72.51	88,7	0.072
Fshort%	37.28	6.29	0.17	36.0 – 40.0	34.04 – 40.51	61,8	0.082
RBPADI %	38.51	9.61	0.25	29.1 – 46.8	33.57 – 43.45	100	0.509
LVIDd (cm)	3.11	0.54	0.17	2.40 – 3.40	2.83 – 3.39	100	0.123
LVIDNd	1.61	0.26	0.16	1.7	1.48 – 1.75	-	0.471
LVIDNs	0.99	0.18	0.18	<1.70	0.9 – 1.09	100	0.597
LVIDs (cm)	1.95	0.38	0.19	1.4 – 2.5	1.76 – 2.14	100	0.116
IVRT (ms)	61.82	10.65	0.17	41 - 65	56.53 – 66.65	83,7	0.021*
Va (cm/s)	125.78	16.26	0.13	92 - 188	117.42 – 134.14	100	0.237
Ve (cm/s)	91.64	18.23	0.2	58 - 117	82.27 – 101.01	100	0.787
Vp (cm/s)	106.28	20.32	0.19	50 - 150	95.83 – 116.72	100	0.805

TABELA 2

Variable	Average	SV	CV	RI	95% CI	Cov%	<i>P value</i>
FE%	68.22	8.34	0.12	64.9 – 76.9	63.93 – 72.51	88,7	0.076
Fshort%	37.28	6.29	0.17	36.0 – 40	34.04 – 40.51	61,8	0.082
Vcf	8.32	6.07	0.73	-	5.9 – 11.18	-	0.043*
VDF (ml)	39.90	17.13	0.43	28.5 – 62.9	32.38 – 48.33	100	0.035*
VSF (ml)	12.69	6.11	0.48	0.44 – 22.1	9.55 – 15.83	100	0.057

TABELA 3

Variable	Average	SV	CV	RI	95% CI	Cov%	<i>p value</i>
E:A	1.7	0.4	0.3	0.98 – 1.70	1.44 – 1.88	59.0	0.952
E:E'	12.3	3.6	0.3	8.90 – 12.0	10.48 – 14.1	40.9	0.158
E:IVRT	1.6	0.6	0.4	1.12 – 1.80	1.31 – 1.88	86.0	0.004*
IVRT (ms)	61.8	10.6	0.2	41.0 – 65.0	56.65 – 66.5	84,0	0.021*
Vel. A' sep (cm/s)	8.2	2.1	0.3	3.60 – 7.60	7.13 – 9.24	22.2	0.554
Vel. E (cm/s)	91.6	18.2	0.2	58.0 – 117.0	82.27 - 101,0	100	0.787
Vel. E' sep (cm/s)	7.8	2.1	0.3	5.70 – 13.2	6.74 – 8.89	100	0.165

TABELA 4

Variable	Average	SV	CV	RI	95% CI	Cov%	<i>P value</i>
AP2	-16.0	2.8	-0.2	[-20.0 ; -15.6]	[-17.4 ; -14.5]	62.1	0.400
AP3	-16.2	3.3	-0.2	[-20.0 ; -18.8]	[-17.9 ; -14,5]	0	0.373
AP4	-17.1	2.7	-0.2	[-20.0 ; -18.9]	[-18.5 ; -15.7]	0	0.850
STRAIN	-16.4	2.2	-0.1	[-20.0 ; -17.8]	[-17.6 ; -15.3]	0	0.126
HR	125.1	30.9	0.2	52 - 171	109.2 - 141	100	0.186
VDF	27.2	8.4	0.3	44 - 60	22.9 – 31.6	100	0.117
VSF	13.9	5.0	0.4	14 - 26	11.4 – 16.5	49	0.496
FE	49.5	5.7	0.1	53 - 69	46.6 – 52.5	0	0.144

SV time	22.2	15.2	0.7	15.5	14.4 - 30	-	0.066
---------	------	------	-----	------	-----------	---	-------

TABELA 5

Segments	Levels			Average (line)
	Basal	Medial	Apical	
ANT	-14.9	-14.5	-17.1	-15.5
ANT-LAT	-15.3	-15.5	-18.2	-16.3
ANT-SEPT	-14.5	-17.1	-16.8	-16.1
INF	-13.4	-16.0	-18.0	-15.8
INF-LAT	-16.0	-16.0	-17.2	-16.4
INF-SEPT	-14.5	-17.0	-19.4	-17.0
APICAL	-	-	-	-18.1
Average (column)	-14.8	-16.0	-17.8	-16.3

TABELA 6

Parameters	AP2	AP3	AP4	Strain
	Global	Global	Global	Global
FE% (S)	-0.428	0.032	-0.131	-0.212
Fshort% (S)	-0.401	0.028	-0.119	-0.199
Vcf (S)	-0.220	0.013	-0.106	-0.103
VDF (ml) (S)	0.483*	0.030	0.211	0.294
VSF (ml) (S)	0.632*	0.013	0.292	0.386
E:A (D)	0.092	-0.141	0.284	0.092
IVRT (ms) (D)	-0.159	0.266	-0.474	-0.139
Vel. E (cm/s) (D)	0.198	-0.019	0.416	0.249
E:IVRT (D)	0.250	-0.071	0.512*	0.281
Vel. E' sep (cm/s) (D)	-0.079	0.000	0.059	-0.004

Vel. A' sep (cm/s) (D)	0.147	0.197	0.100	0.188
E:E' (D)	0.236	0.023	0.292	0.234
HR (ST)	0.280	-0.308	0.403	0.114
VDF (ST)	0.412	0.089	0.224	0.289
VSF (ST)	0.386	0.142	0.289	0.335
FE (ST)	-0.166	-0.273	-0.392	-0.371
SV (ST)	-0.057	0.010	0.010	0.014

4. CAPÍTULO II*

* Artigo elaborado de acordo com as normas do periódico “**Acta Scientiae Veterinariae**” (Qualis B1, Fator de impacto: 0,222).

1 **Prevalence Study of Myocarditis in Left Ventricular Segments of Dogs Naturally Affected**
2 **With Visceral Leishmaniasis**

3 Andrezza Braga Soares da Silva¹, Renan Paraguassú de Sá Rodrigues², Kelvin Ramon da Silva
4 Leitão³, Luana de Oliveira Lopes², Maria Angélica Parentes da Silva Barbosa⁴
5 Joilson Ferreira Batista¹, Rafael de Deus Moura⁵, Francisco das Chagas Araujo Sousa⁶,
6 Antonio Augusto Nascimento Machado Junior⁷, Flávio Ribeiro Alves⁷

7
8 ¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí (UFPI),
9 Teresina, Piauí, Brasil. ²Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de
10 Interesse Regional, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil. ³Graduando
11 em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil.
12 ⁴Residência em Diagnóstico por Imagem, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí,
13 Brasil. ⁵Setor de Patologia, Hospital Universitário, Universidade Federal do Piauí (UFPI),
14 Teresina, Piauí, Brasil. Departamento de Medicina, Universidade Estadual do Piauí (UFPI),
15 Teresina, Piauí, Brasil. ⁷Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Universidade Federal do
16 Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil. CORRESPONDING: F. R. Alves
17 [flavioribeiro@ufpi.edu.br– Phone: +55 (86) 99958-7925.

18
19 **ABSTRACT**

20 **Background:** Canine visceral leishmaniasis (CVL) is caused by trypanosomatid protozoan
21 etiological agents of the genus *Leishmania* spp. Histopathological lesions attributed to CVL
22 include inflammatory infiltrates and tissue deposition of immune complexes. Cardiac
23 involvement in patients with CVL is questionable due to the lack of scientific research that
24 deepens the relationship of the parasite with the organ, so far *Leishmania* (l.) *chagasi* have been

25 detected in cardiac tissue in low concentrations, not knowing for sure if the changes found were
26 due to the direct action of *Leishmania* sp. or by response to systemic infection.

27 ***Material, Methods & Results:*** The research was conducted at the Center for Specialized
28 Veterinary Imaging Diagnostics (NUDIVE), at the Federal University of Piauí, in partnership
29 with the Surveillance Unit in Zoonoses (SUZ) in Teresina – PI. Ten dogs with a confirmatory
30 diagnosis for visceral leishmaniasis were used. Tissues removed from animals after euthanasia
31 were fixed and submitted to histological processing to make slides for analysis by a pathologist.
32 After euthanasia, the heart was dissected, thus obtaining access to the endocardium of the right
33 and left ventricles. Seven segments were collected from the following regions of the left
34 ventricle: basal free wall, basal septal, mid free wall, mid septal, apical free wall, apical septal
35 and mid apical. The fragments were kept in containers containing 10% formaldehyde buffered
36 with phosphates at pH 7.6 for 24 to 48 hours, to be later submitted to histopathology techniques.
37 Tissues previously fixed in 10% buffered formaldehyde were submitted to histological
38 processing and stained in Hematoxylin-Eosin. The prepared slides were analyzed under an
39 optical microscope and photomicrographic images were documented with the aid of a
40 photomicroscope. Leukocyte infiltrates were observed in at least 32 (46%) of the myocardial
41 segments of the animals, however, most (54%) did not demonstrate histopathological changes
42 consistent with an inflammatory process. Among the 46% of segments with detection of
43 myocarditis, only the mild (34%) and moderate (12%) categories of alteration were observed.
44 The assessment of the prevalence of myocarditis by myocardial segment of the left ventricle
45 revealed that the apical septal segment has 60% of the animals having myocarditis. In assessing
46 the prevalence of myocarditis per animal analyzed, it was observed that at least 4 animals had
47 more than 50% of the segments affected by inflammatory infiltrate, and two of these had mild
48 myocarditis in all segments.

49 **Discussion:** The segmental evaluation of the left ventricle due to the presence of myocarditis
50 showed findings of low prevalence of inflammatory infiltrates, concentrated in the septal apical
51 region. However, they suggest the presence of myocardial alterations in the left ventricle as being
52 common in dogs with CVL. New studies evaluating in parallel the presence of myocardial
53 inflammation and the behavior of these cytokines circulating in target organs with immunological
54 activity are indicated to confirm the immune response present in the myocardium of dogs affected
55 by CVL.

56 **Keywords:** Cardiology, histopathology, parasitic diseases, internal medicine

57 INTRODUCTION

58 Canine visceral leishmaniasis (CVL) is caused by trypanosomatids of the genus
59 *Leishmania* spp. [3]. Histopathological lesions attributed to CVL include inflammatory infiltrates
60 and tissue deposition of immune complexes. Researchers have found cardiac involvement by
61 identifying perivascular mononuclear lesions accompanied by an inflammatory infiltrate in the
62 heart muscle [1].

63 Cardiac involvement in patients with CVL is questionable due to the lack of scientific
64 research that deepens the relationship between the parasite and the organ. So far, *Leishmania* (l.)
65 *chagasi* has been detected in cardiac tissue at low concentrations, not knowing for sure whether
66 the alterations found were due to its direct action or to a response to systemic infection. On the
67 other hand, some authors report the absence of cardiac involvement, while others refer to a
68 nonspecific reactivity of the heart to the infectious process, not supporting an inherent
69 pathogenesis [5,9].

70 Among the cardiac alterations already described in the literature, the development of an
71 inflammatory process in the myocardium cells or myocarditis is among the most common, which
72 can aggravate the injured segment to cell necrosis or degeneration. Also noteworthy are other
73 cardiac changes reported less frequently, which are anatomical, histological,

74 electrocardiographic and echocardiographic [4,6]. There have also been reports of the presence
75 of edema of the endocardium, myocardium and epicardium, lymphomonocytes in the
76 myocardium and epicardium, and mild fibrosis and necrosis observed in humans with
77 leishmaniasis [11].

78 The objective of this study was to evaluate the prevalence of myocarditis in segments of the
79 left ventricle of dogs infected with leishmaniasis.

80 **METHODS**

81 This study was carried out at the Specialized Veterinary Diagnosis Nucleus (NUDIVE)
82 of the Federal University of Piauí at the Surveillance Unit in Zoonoses (SUZ) of Teresina – PI.

83 Ten (10) adult dogs (1 to 10 years old), weighing between 5 and 15 kg, were collected
84 by the CCZ of mixed breed (SRD) with positive serological diagnosis for CVL recommended by
85 the diagnostic methods of the Ministry of Health and used by the CCZ. The animals selected for
86 the research presented a positive diagnosis (seropositivity) for visceral leishmaniasis established
87 by the Ministry of Health, which uses the rapid immunochromatographic test¹ (RIT®) as a
88 screening test and the serological test Indirect Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) as
89 confirmation. In addition, amastigote forms were detected in smears of slides obtained by
90 parasitological examination of bone marrow puncture and lymph node aspirates using the latter
91 as the gold standard for detecting the disease.

92 Dogs identified as positive for visceral leishmaniasis after outpatient procedures were
93 euthanized by the CCZ team of researchers and veterinarians, in accordance with the health
94 policy adopted by the Ministry of Health, according to Interministerial Ordinance 1426 of July
95 11, 2008. After confirming the death due to the absence of cardiac parameters in the animals, the
96 fixation of the organs will proceed, through the arterial infusion of a 10% buffered aqueous
97 formaldehyde solution.

98 The heart, after being exteriorized from the thoracic cavity, was dissected in its
99 transverse direction from a single incision made at the level of the tendinous chords of the
100 atrioventricular valves, thus obtaining access to the endocardium of the right and left ventricles.
101 Seven segments were collected from the following regions of the left ventricle: basal free wall,
102 basal septal, mid free wall, mid septal, apical free wall, apical septal and mid apical. The
103 fragments will be kept in containers containing 10% formaldehyde buffered with phosphates at
104 pH 7.6 for 24 to 48 hours, to be subsequently submitted to histopathology techniques.

105 Histopathology was developed in partnership with the University Hospital of UFPI.
106 Tissues previously fixed in 10% buffered formaldehyde were submitted to histological
107 processing and stained in Hematoxylin-Eosin. This procedure started with tissue dehydration
108 with subsequent 30-minute immersions in increasing concentrations of ethyl alcohol² 70%, 80%,
109 90% and 100% (twice). After this step, the samples were cleared or clarified in two consecutive
110 baths containing Xylol PA solution³ for 30 minutes each. Subsequently, the biological material
111 was subjected to two immersions of 30 minutes each in liquid Histological Paraffin⁴ kept in an
112 oven at 60°C. After immersion in paraffin, the organs were embedded in cubes in histological
113 paraffin medium.

114 The blocks made were subjected to sequential cuts of 5µm in thickness in a Microtome
115 RM2235⁴ poured onto frosted glass slides to start staining. The slides, first, remained about 10
116 min in an oven at 60°C for deparaffinization, which was completed after two consecutive baths
117 of 5 minutes each in a solution containing Xylol PA³. Tissue rehydration was performed through
118 a sequence of 3-minute baths of the slides in decreasing solutions of Ethyl Alcohol² 100% (three
119 times), 90%, 80% and 70%, ending the hydration with a bath of 10 minutes under running water.
120 Thus, the tissue was immersed in Hematoxylin for 45 seconds, followed by washing in running
121 water for 5 minutes, until removal of excess staining. Subsequently, the sections were stained
122 with eosin for 30 seconds. Then, they were submitted to 5-minute baths in Ethyl Alcohol¹ 100%

123 and 70%, followed by two baths in Xylol PA³ for 5 minutes each. Finally, the slides were
124 mounted on a cover slip with the aid of Enterlan⁶. The prepared slides were analyzed under an
125 Optical Microscope⁶ and photomicrographic images were documented with the aid of a
126 Photomicroscope⁸ (Eclipse E200).

127

128

RESULTS

129 Leukocyte infiltrates were observed in 32 (46%) of the myocardial segments of dogs
130 with leishmaniasis in the experiment, on the other hand, most (54%) of the analyzed segments
131 did not show histopathological changes consistent with an inflammatory process (Table 1).
132 Among the 46% of segments with detection of myocarditis, only the mild (34%) and moderate
133 (12%) categories of alteration were observed, excluding the presence of samples of intense
134 degree, as shown in Table 1.

135 In the mild inflammatory process, there is the presence of an infiltrate of focal
136 lymphocytic and histiocytic cells, classifying it as lymphohistiocytic myocarditis. The
137 appearance of plasmocytes in the lymphohistitic set constitutes a moderate classification of
138 myocarditis (Figure 1). There were no samples with a higher category of cell groups in the same
139 infiltrate, or presenting tissue microhemorrhages, therefore, myocarditis of important category
140 was not detected in the segments of dogs analyzed.

141 The assessment of the prevalence of myocarditis by myocardial segment of the left
142 ventricle revealed that the apical septal segment has 60% of the animals having myocarditis. Of
143 these, 50% were classified as mild myocarditis and 10% as moderate myocarditis (Table 2).

144 In assessing the prevalence of myocarditis per animal analyzed, it was observed that at
145 least 4 animals had more than 50% of the segments affected by inflammatory infiltrate, and two
146 of these had mild myocarditis in all segments (Table 3).

147

DISCUSSION

148 Myocarditis or inflammatory process in myocardial cells is among the most common
149 histopathological consequences of patients naturally affected by visceral leishmaniasis [4,6]. The
150 studies do not provide details on the regions of myocardial tissue that have the most prevalence
151 of myocarditis, between atrial and ventricular, however, in the individual assessment of left
152 ventricular segments of dogs naturally affected by CVL, in about 50% of the samples, it was
153 possible to observe the presence of an inflammatory infiltrate of the lymphohistiocytic type.
154 Histopathological evaluation only in a specific region may have interfered in the affirmation of
155 myocarditis after chronic infection in the disease.

156 The involvement of the myocardium in patients with CVL is questionable due to the
157 lack of studies that deepen the relationship of the parasite with the organ, so far *Leishmania (l.)*
158 *chagasi* have been detected in cardiac tissue in low concentrations, not knowing for sure whether
159 the changes found were given by direct action of *Leishmania sp.* or by the response to systemic
160 infection [17]. Some authors report the absence of cardiac involvement, while others refer to a
161 nonspecific reactivity of the heart to the infectious process, not supporting an inherent
162 pathogenesis [9,5,16]. The lymphohistiocytic infiltrate may be related to the tissue reaction
163 caused by the disease, as well as other comorbidities present in the history of patients at a
164 zoonoses unit, which in short can present cross infections. However, the literature indicates that
165 among the tissue damage most frequently caused by leishmaniasis in patients is the inflammatory
166 infiltrate of lymphocytes, histiocytes and plasma cells [1,7,8,14,16], same cells detected in the
167 myocarditis infiltrates of the experiment.

168 Some researchers, when studying dogs from Teresina-Piauí, detected other tissue
169 lesions, such as fatty infiltration and fragmentation of muscle fibers, in addition to areas of
170 myocardial necrosis and perivascular and intermuscular lymphoplasmacytic infiltration
171 (ALVES, 2010). These were not detected in the analyzed ventricular segments of the animals in
172 the experiment, as well as amastigote forms in the tissues of the cardiac samples. The latter were

173 detected by Rosa (2014) in 90% of the dogs in his study, with a higher prevalence in the
174 endocardial and epicardial regions of the 30 animals.

175 The cardiac manifestation of lesions secondary to the parasitemia of *Leishmanias sp.* is
176 considered a rare event, seen in conditions of high parasite load [18]. In the present investigation,
177 despite the low degree of degeneration and inflammatory reaction of myocytes, the parasite load
178 and mild inflammatory response that affected a small portion of the cardiac tissue were probably
179 insufficient to produce macroscopic and clinical changes, altering myocardial function. These
180 results differ from the intense cardiac involvement reported by López-Peña et al. (2009) [7].

181 Although mild infiltrate is the most consistent finding, samples with moderate intensity
182 myocarditis were observed in dogs tested in the present study, while other experiments reported
183 intensities ranging from mild to moderate [1], moderate to intense [16], intense [7] and mild to
184 intense [14]. Likewise, there does not seem to be a consensus in the literature about the
185 predominant location of the infiltrate. Specifically, the myocardium was the predominant site of
186 infiltration in dogs with CVL, as well as those studied by Alves et al. (2010) [1] and Silva et al.
187 (2009) [16], although the endocardium and subepicardial regions have also been observed by
188 other authors [15].

189 The present study, to the best of our knowledge, is the first to carry out a segmental
190 assessment of the left ventricle in terms of the presence of myocarditis, being classified by the
191 grading of the inflammatory infiltrate in dogs with CVL. However, the results did not allow to
192 identify a pattern of immune response in the myocardium of these dogs, since there was a low
193 prevalence of myocarditis. A possible explanation for these observations could be that the
194 assessment is isolated from a single cardiac chamber. Past studies have shown different immune
195 responses incited in different tissues of dogs with VL, especially those that are considered targets
196 during the development of the disease, such as spleen, liver, bone marrow, lymph node and skin

197 [13], which suggests the need to compare the systemic or compartmentalized response to better
198 elucidate the changes found in the myocardium.

199 Among the inter-segmental analysis of the left ventricle of dogs with CVL, there was a
200 greater inflammatory response in the septal apical segment. Rosa (2014) [15], studying the
201 macroscopic global cardiac response, observed that changes in the right atrium and ventricle were
202 the most prevalent, so, in an individual analysis of the left side, it is expected that the changes
203 comparatively between the free wall and the septal portion are greater in the latter due to the
204 close relationship with both chambers, including the right.

205 The results obtained in the present study suggest the presence of myocardial alterations
206 in the left ventricle as being common in dogs with CVL. New studies evaluating in parallel the
207 presence of myocardial inflammation and the behavior of these cytokines circulating in target
208 organs with immunological activity are indicated to confirm the immune response present in the
209 myocardium of dogs affected by CVL.

210

211 **Fabricantes**

212 ¹Fiocruz, Manguinhos, Rio de Janeiro-RJ, Brasil

213 ²Synth, Diadema, São Paulo, Brasil.

214 ³Anidrol, Diadema, São Paulo, Brasil.

215 ⁴Easy Path, São Paulo, São Paulo, Brasil.

216 ⁵Leica Biosystem, Buffalo Grove, IL, United States.

217 ⁶Merck, Darmstadt, Germany.

218 ⁷Olympus Corporation, Japan.

219 ⁸Nikon, Japan.

220

221 ***Ethical approval***

222 The research was previously approved by the ethics committee of the Teresina Municipal Health
223 Foundation through a declaration of authorization from the co-participating institution for access
224 to the CCZ and donation of animals to the project, as well as being approved by the Ethics
225 Committee on the Use of Animals (CEUA/UFPI) with registration N°. 378/17, following the
226 precepts of Law No. 11.794, of October 8, 2008, of Decree No. 6.899, of July 15, 2009, and with
227 rules published by the National Council of Control of the Animal Experimentation (CONCEA).

228

229 ***Declaration of interest.*** The authors declare no conflicts of interest.

230

231 **References**

232 **1 Alves G.B.B.; Pinho F.A.; Silva S.M.M.S.; Cruz M.S.P. & Costa F.A.L. 2010.** Cardiac and
233 pulmonary alterations in symptomatic and asymptomatic dogs infected naturally with
234 *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Braz Journal Medical and Biological Research*. 43(3): 309-
235 315.

236 **2 Baneth G.; Solano-Gallego L. 2012** Leishmaniasis In: Greene C.E., ed. *Infectious diseases*
237 *of the dog and cat*. 4th ed: *Saunders Elsevier*.

238 **3 Dantas-Torres F.; Solano-Gallego L.; Baneth G.; Ribeiro V.M.; Cavalcanti M. P. &**
239 **Otranto D. 2015.** Canine leishmaniosis in the Old and New infections: a practical
240 review. *Dermatologic Clinics*, 33(3): 579-593.

241 **4 Domingues P. M. J.2011.** Uma perspectiva geral sobre Miocardites. Tese de Doutorado.
242 Universidade da Beira Interior.

243 **5 Ferrari H.F.; Ribeiro D. & Luvizotto M.C.R. 2006.** Miocardite associada a *Leishmania sp*
244 em cão-Relato de caso. In: Anais do 1 Forum de Leishmaniose Visceral Canina: 48.

245 **6 Kühl U. & Schultheiss H.P. 2014** Viral myocarditis. Review article: *Medical intelligence*.
246 144:1-

- 247 **7 Lopez-Pena M.; Aleman N.; Munoz F.; Fondevila D.; Suarez M.L.; Goicoa A. Et Al. 2009.**
248 Visceral leishmaniasis with cardiac involvement in a dog: a case report. *Acta Veterinaria*
249 *Scandinavica*. 51(1): 1-3.
- 250 **8 Marcondes M. & Rossi C.N. 2013.** Leishmaniose visceral no Brasil. *Brazilian Journal of*
251 *Veterinary Research and Animal Science*. 50(5): 341-352.
- 252 **9 Morais C.F.; Duarte M.I.S.; Corbett A.E.P. & Reis, M.M. 1998.** Alterações morfológicas
253 cardíacas no curso da leishmaniose visceral humana. Estudo baseado em 16 casos de necropsia.
254 *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*. 51(1): 441-445.
- 255 **10 Neves, D.P. 2000.** Parasitologia humana. 10 ed. Rio de Janeiro: *Atheneu*.
- 256 **11 Paltrinieri S.; Solano-Gallego L.; Fondati A.; Lubas G.; Gradoni L.; Castagno M.;**
257 **Crotti A.; Maroli M.; Oliva G.; Roura X.; Zatelli A. & Zini E. 2012.** Guidelines for diagnosis
258 and clinical classification of Worlds: unveiled similarities and differences. *Trends in*
259 *Parasitology*, 28(12):531-538.
- 260 **12 Reis S.; Provenza M.; Garcia D.A.A.; Froes, T.R. 2011.** A história da ultrassonografia
261 Veterinária em pequenos animais. *Archives of Veterinary Science*. 16(1): 54-61.
- 262 **13 Rodríguez-Cortes A.; Carrillo E.; Martorell S.; Todolfi F.; Ojeda A.; Martínez-Florez**
263 **A.; Urniza A.; Moreno J. & Alberola, J. 2016.** Compartmentalized immune response in
264 Leishmaniasis: Changing Patterns throughout the disease. *PLoS One*. 11(5): 13.
- 265 **14 Rosa F.A.; Leite J. H. A. C.; Braga E.T.; Moreira P.R.R.; Baltazar F.H.; Biondo A.W.;**
266 **Padua P.P.M.; Vasconcelos R.O.; Camacho A.A.; Ferreira W.L.; Machado G.F. &**
267 **Marcondes, M. 2014.** Cardiac lesions in 30 dogs naturally infected with *Leishmania infantum*
268 chagasi. *Veterinary pathology*, 51(3):603-606.
- 269 **15 Rosa F. 2012** Avaliação histopatológica e imuno-histoquímica do miocárdio de Cães com
270 Leishmaniose Visceral. Unesp AraçatubaSP.

- 271 **16 Silva B.C.; Rachid M.A.; Vieira F.G.; Figueiredo M.M.; Valle G.R.; Tafuri W.L.; Toledo**
272 **Junior J.C.; Ribeiro V.M. 2009.** Chronic pericarditis in a naturally *Leishmania (Leishmania)*
273 *chagasi* infected dog. *Brasilian Journal of Veterinary Pathology*. 2(1) :107-109.
- 274 **17 Silva F.L.; Olivera R.G.; Silva T.M.A.; Xavier M.N.; Silva F.S. 2007.** Patologia e
275 patogênese da leishmaniose visceral canina. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*.
276 1(1): 20-31.
- 277 **18 Zabala E.E.; Ramírez O.J. & Bermúdez V. 2005.** Leishmaniasis visceral em um canino.
278 *Revista de la Faculad de Ciencias Veterinarias*. 46(1): 43-50.

279

280 **LEGEND**281 **Figures**

282 Figure 1. Photomicrographic image of the myocardial segment of the left ventricle of dogs
283 naturally affected by visceral leishmaniasis, in different conditions: A- absence of myocarditis;
284 B- mild myocarditis; C- moderate myocarditis. Black arrow: lymphocytes; blue arrow:
285 histiocytes; yellow arrow: plasma cells. Bar: 15µm. Method: hematoxylin and eosin stain

286

287 **Tables**

288 Table 1- Prevalence of myocarditis and its classification between mild, moderate and intense in
289 the analyzed animals.

290 Table 2 - Prevalence of myocarditis by myocardial segment of the left ventricle in dogs with
291 visceral leishmaniasis and its classification between mild, moderate and intense.

292 Table 3 - Prevalence of myocarditis per animal with visceral leishmaniasis and its classification
293 between mild, moderate and severe.

294

295

296 **Estudo de prevalência da miocardite em segmentos de ventrículo esquerdo de cães**
297 **naturalmente afetados com leishmaniose visceral**

298 Andrezza Braga Soares da Silva¹ & Flávio Ribeiro Alves²

299

300 ¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí (UFPI),

301 Teresina, Piauí, Brasil. ²Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Centro de Ciências

302 Agrárias, Universidade Federal do Piauí - UFPI, Teresina, PI, Brasil. CORRESPONDÊNCIA:

303 A. B. S. da Silva [*andrezzabl@hotmail.com* – Fone: +55 (86) 99013-8080].

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

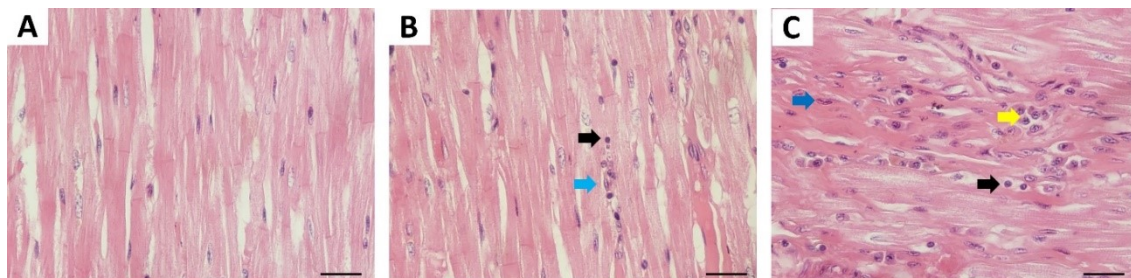
318

319

320

321

ANEXO (FIGURAS DO ARTIGO)

322 **FIGURA 1**

323

324

325

ANEXO (TABELAS DO ARTIGO)

326 **TABELA 1**

Classification / segments		Absent	Mild	Moderate	Intense
Total	70	38	24	8	0%
Percentage	100%	54%	34%	12%	0%

327

328 **TABELA 2**

LV Segments	No Myocarditis (%)	Mild (%)	Moderate (%)	Intense (%)
Basal Free Wall	70	20	10	0
Basal Septal	60	20	20	0
Mid Free Wall	50	40	10	0
Mid Basal	50	40	10	0
Apical Free Wall	50	40	10	0
Mid Septal	40	50	10	0
Medium Apical	60	30	10	0

329

330

331

332

333

334

335 **TABELA 3**

Animals	No myocarditis	Mild	Moderate	Intense
1	100	0	0	0
2	28	28	44	0
3	85	15	0	0
4	15	28	57	0
5	0	100	0	0
6	0	100	0	0
7	85	0	15	0
8	85	15	0	0
9	72	28	0	0
10	85	15	0	0

336

337

338

339

340

341

342

343

344

345

346

347

348

349

350

351

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação ecocardiográfica segmentar do ventrículo esquerdo de cães com leishmaniose visceral seguiu um protocolo de estudo sistemático que permitiu o estabelecimento de uma análise morfológica comparativa de pacientes crônicos para uma doença com tropismo por células do sistema imune, porém com relatos de lesão miocárdica. O exame ecocardiográfico mostrou-se de fácil realização, sendo que todas as mensurações padrões foram passíveis de realização, assim como a realização da ferramenta strain por speckle tracking para avaliação de deformação miocárdica.

Este foi um estudo pioneiro para a avaliação separadamente de segmentos do ventrículo esquerdo, e estudo da influencia destes fragmentos, já sabendo que a detecção de miocardite já é constatada por outros autores em estudos similares.

Além das conclusões já relatadas no estudo para o comprometimento cardíaco no ventrículo esquerdo, foi importante a percepção segmentar de que há tropismo por alguns segmentos miocárdico de cães com leishmaniose para a ocorrência de lesões funcionais e/ou histopatológicas.

6. REFERÊNCIAS

ABDUCH, M. C. D., ALENCAR, A. M., MATHIAS JR, W., VIEIRA, M. L. D. C. Estudo da Mecânica Cardíaca pelo Speckle Tracking. **Arq Bras Cardiol**, v. 102, n. 4, p. 403-412, 2014.

ABRAHAM, T. P.; DIMAANO, V. L.; LIANG, H. Y. Role of tissue Doppler and strain echocardiography in current clinical practice. **Circulation**, v. 116, n. 22, p. 2597-2609, 2007.

ALCÁZAR, J. L. Three-dimensional power Doppler derived vascular indices: what are we measuring and how are we doing it?. **Ultrasound in obstetrics & gynecology**, v. 32, n. 4, p. 485-487, 2008.

ALMEIDA, A. L. C.; GJESDAL, O.; MEWTON, N.; CHOI, E. Y.; TEIXIDO-TURA, G.; YONEYAMA, K.; LIMA, J. A. C. Speckle-Tracking pela Ecocardiografia Bidimensional—Aplicações Clínicas. **Rev bras ecocardiogr imagem cardiovasc.** v.26, n.1, p.38-49, 2013.

ALVES, G. B. B.; PINHO, F. A.; SILVA, S. M. M. S.; CRUZ, M. S. P.; COSTA, F. A. L. Cardiac and pulmonary alterations in symptomatic and asymptomatic dogs infected naturally with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 43, n. 3, p. 310-315, 2010.

AMARAL, T. Leishmaniose Visceral Canina. **Cães & Gatos**, v. 123, p. 20-24, 2009.

BALTAZAR, P.I.; SILVA MOURA, L.; [PESSOA, G. T.](#); SÁ RODRIGUES, R. P.; SANCHES, M. P.; [NEVES DINIZ, A.](#) ; SOUSA, F.C.A.; GUERRA, P.C.; NEVES, W.C.; GIGLIO, R. F.; ALVES, J.J.R.P.; SOUZA, F.A.L.; BRAGA, J.F.V. Comparative B-mode and Doppler renal ultrasonography with histopathological findings in dogs positive for

canine visceral leishmaniasis. **Microscopy research and technique**, v. 79, n. 7, p. 637-645, 2016.

BANCROFT, J. D.; GAMBLE, M. **Theory and practice of histological techniques**. Elsevier Health Sciences, 2008.

BANETH G.; SOLANO-GALLEGO L. **Leishmaniases** In: GREENE C.E., ed. Infectious diseases of the dog and cat. 4th ed: Saunders Elsevier, 2012.

BANETH, G.; KOUTINAS, A. F.; SOLANO-GALLEGO, L.; BOURDEAU, P.; FERRER, L. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends in Parasitology**, v. 24, n. 7, p. 324-330, 2008.

BASU, A.; MORRIS, S.; BASU, P.; LYONS, T. J. Cardiovascular Disease Biomarkers in Clinical Use and Their Modulation by Functional Foods. **Biomarkers in Cardiovascular Disease**, p. 39-62, 2016.

BAVIA, M. E.; CARNEIRO, D. D. M. T.; GURGEL, H.C.; MADUREIRA FILHO, C.; BARBOSA, M. G. R. Remote sensing and geographic information systems and risk of American visceral leishmaniasis in Bahia, Brazil. **Parasitology**, v.47, n.3, p.165-169, 2005.

BESTETTI, REINALDO B.; RESTINI, CAROLINA BARALDI A.; COUTO, LUCÉLIO B. Descobertas de Carlos Chagas como Pano de Fundo para a Construção Científica da Cardiopatia Chagásica Crônica. **Arq Bras Cardiol**, v. 107, n. 1, p. 63-70, 2016.

BOON, J.A. **Ecocardiografia Bidimensional e em modo-M para o clínico de pequenos animais**. Roca: São Paulo. 112p. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação de fiscalização de produtos veterinários. **Nota técnica nº11/2016/CPV/DFIP/SDA/GM/MAPA**. Disponível em

<http://www.sbmt.org.br/portal/wp-content/uploads/2016/09/nota-tecnica.pdf>. Acesso em 14/03/2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 120p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Nota Técnica n. 01/2011- CGDT/CGLA/ DEVIT/ SVS/MS**. Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC). Brasília: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em:http://crmvmms.org.br/files/materiais/nota-tecnica-no-1-2011_cglab_cgdt1_lvc_98999048.pdf. Acesso em 20 de março de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Portaria interministerial n. 1.426 de 11/07/2008 - CGDT/CGLA/ DEVIT/ SVS/MS**. Proíbe o tratamento de leishmaniose visceral canina com produtos de uso humano ou não registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. Disponível em:[http:// file:///C:/Users/Cliente/Downloads/portaria_1426.pdf](http://file:///C:/Users/Cliente/Downloads/portaria_1426.pdf). Acesso em 28 de março de 2017.

CALZADA, J. E., SALDAÑA, A., GONZÁLEZ, K., RIGG, C., PINEDA, V., SANTAMARÍA, A. M., RODRIGUEZ, I.; GOTTDENKER, N.L.; LAURENTI, M.D.; CHAVES, L. F. Cutaneous Leishmaniasis in dogs: is high seroprevalence indicative of a reservoir role?. **Parasitology**, v. 142, n. 09, p. 1202-1214, 2015.

CARVALHO, C. F., CHAMMAS, M. C., CERRI, G. G. Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 872-879, 2008.

CASTILLO, J. M.; HERSZKOWICZ, N.; FERREIRA, C. Speckle tracking-a contratilidade miocárdica em sintonia fina. **Rev. bras. ecocardiogr. imagem cardiovasc**, v. 23, n. 3, p. 46-54, 2010.

CERBINO-NETO, J.; WERNECK, G. L.; COSTA, C. H. N. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 7, p. 1543-1551, 2009.

CONTI, C. Richard. **Sistema Cardiovascular-Volume 8: Coleção Netter de Ilustrações Médicas**. Elsevier Brasil, 2015.

CORRÊA, M. W.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades Infeciosas e Parasitárias dos Mamíferos Domésticos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Médica e Científica, 1992.

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 Online**, v. 40, n. 6, p. 677-684, 2003.

COSTA, F. A. L.; PRIANTI, M. G.; SILVA, T. C.; SILVA, S. M.; GUERRA, J. L.; GOTO, H. T cells, adhesion molecules and modulation of apoptosis in visceral leishmaniasis glomerulonephritis. **BMC infectious diseases**, v. 10, n. 1, p. 112, 2010.

COSTANZO, L.S. *Fisiologia*. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

COUTINHO, M. T.; BUENO, L. L.; STERZIK, A.; FUJIWARA, R. T.; BOTELHO, J. R.; MARIA, M.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary parasitology**, v. 128, n. 1, p. 149-155, 2005.

DAHER, E. D. F.; SOUSA SOARES, D.; PARENTE FILHO, S. L. A.; MENESES, G. C.; SANDES FREITAS, T. V.; LEITE, T. T.; SILVA JUNIOR, G. B. Hyponatremia and risk

factors for death in human visceral leishmaniasis: new insights from a cross-sectional study in Brazil. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 168, 2017.

DANTAS-TORRES, F. Canine leishmaniosis in South America. **Parasites & Vectors**, v. 2, n. 1, p.S1, 2009.

DANTAS-TORRES, F.; SOLANO-GALLEGU, L.; BANETH, G.; RIBEIRO, V. M.; CAVALCANTI, M. P.; OTRANTO, D. Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: unveiled similarities and differences. **Trends in parasitology**, v. 28, n. 12, p. 531-538, 2012.

DANTAS-TORRES, F.; SOLANO-GALLEGU, L.; BANETH, G.; RIBEIRO, V. M.; CAVALCANTI, M. P.; OTRANTO, D. Canine leishmaniosis in the Old and New infections: a practical review. **Dermatologic clinics**, v. 33, n. 3, p. 579-593, 2015.

DOMENICO, C.; SCHETTINO, S.; MARTELO, S.; DEUS, F.; VARGAS, A.; PASCHOAL, M.; Tassi, E.; NOVIS, R.; NOVIS, S.; PIMENTEL, M. L.; NOVIS, S. Diagnóstico clínico e radiológico da miocardite aguda e uma complicação não-usual. **Rev SOCERJ**, v. 21, n. 5, p. 338-44, 2008.

DOMINGUES, Pedro Miguel Justo. **Uma perspectiva geral sobre Miocardites**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade da Beira Interior.

DROST, W. T. Física do Ultrassom. **Diagnóstico de Radiologia Veterinária**, v. 1, p. 38, 2014.

EISENBERG, R. L. **Radiology: an illustrated history**. Mosby Incorporated, 1992.

EVANS, D. H.; JENSEN, J. A.; NIELSEN, M. B. Ultrasonic colour Doppler imaging. **Interface Focus**, p.1-13, 2011.

EYNARD, Aldo R.; VALENTICH, Mirta A.; ROVASIO, Roberto A. **Histologia e Embriologia Humanas:- Bases Celulares e Moleculares**. Artmed Editora, 2011.

FALCÃO, S. D. A. C.; JARAMILLO, T. M.; FERREIRA, L. G.; BERNARDES, D. M.; SANTANA, J. M.; FAVALI, C. B. *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis*: Differences and similarities to evade the innate immune system. **Frontiers in Immunology**, v. 7, 2016.

FARIA, A. R.; ANDRADE, H. M. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 2, p. 47-57, 2012.

FARROW, C. S. **Veterinária-Diagnóstico por imagem do cão e gato**. Editora Roca, 2006.

FERNANDES, L. R. M. **Leishmaniose: tratamento atual e perspectivas de novos fármacos**. Universidade do Algarve. Tese de Doutorado. 67p. 2014.

FERNANDEZ-COTRINA, J.; INIESTA, V.; BELINCHON-LORENZO, S.; MUNOZ-MADRID, R.; SERRANO, F.; PAREJO, J. C.; GÓMEZ-GORDO, L.; SOTO, M.; ALONSO, C.; GÓMEZ-NIETO, L. C. Experimental model for reproduction of canine visceral leishmaniosis by *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, 2012 (article in press).

FERRARI, H. F.; RIBEIRO, D.; LUVIZOTTO, M. C. R. Miocardite associada a *Leishmania* sp em cão-Relato de caso. In: **Anais do 1 Forum de Leishmaniose Visceral Canina**. 2006. p. 48.

FREITAS, E.; MELO, M. N.; COSTA-VAL, A. P.; MICHALICK, M. S. Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors. **Veterinary parasitology**, v. 137, n. 1, p. 159-167, 2006

FURTADO, R. G.; FROTA, D. D. C. R.; SILVA, J. B. M.; DIAS, M. M.; ROMANO, O. C. D. A. F.; SCHMIDT, A.; RASSI, S. Estudo do Ventrículo Direito na Forma Indeterminada da Doença de Chagas pelo Doppler Ecocardiograma. **Arq Bras Cardiol**, v. 104, n. 3, p. 209-217, 2015.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Visceral leishmaniasis in Brazil: current status, challenges and prospects. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

GRAMICCIA, M. Recent advances in leishmaniosis in pet animals: epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. **Veterinary parasitology**, v. 181, n. 1, p. 23-30, 2011.

GUYTON, A. Tratado de Fisiologia Médica. 11ed. São Paulo: Elsevier, 2006.

HUNG, J.; LANG, R.; FLACHSKAMPF, F.; SHERNAN, S. K.; MCCULLOCH, M. L.; ADAMS, D. B.; RYAN, T. 3D echocardiography: a review of the current status and future directions. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 20, n. 3, p. 213-233, 2007.

KANEKO J. J., HARVEY J. W., BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6 ed. San Diego California: Academic Press. 916p. 2008.

KEVRIC, I.; CAPPEL, M. A.; KEELING, J. H. New world and old world Leishmania Infections: A practical review. **Dermatol Clin**. v. 33, n.3, p.579-93. 2015.

KLEIN, Bradley G. **Cunningham tratado de fisiologia veterinária**. Elsevier Brasil, 2015.

KÖNIG, Horst Erich; LIEBICH, Hans-Georg. **Anatomia dos Animais Domésticos:- Texto e Atlas Colorido**. Artmed Editora, 2016.

KÜHL, U; SCHULTHEISS, H. P. Viral myocarditis. **Review article: Medical intelligence.** v.144. p.1-9. 2014.

LAINSON, R. Our present knowledge of the ecology and control of leishmaniasis in the Amazon region of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 18, n. 1, p. 47-56, 1985.

LIMA, A.B.G. Avaliação eletrocardiográfica em cães com leishmaniose visceral. In: **9º Seminário de Iniciação Científica da UFT**, v. 5, 2013.

LINHARES, G. F. C.; CHAVES, N. S. T.; DUARTE, S. C.; FERNANDES, P. R.; AMARAL, A. V. C.; SOUZA, M. A. relato de um caso clínico de leishmaniose visceral em um cão na cidade de Goiânia. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 34, n. 1, p. 69-72, 2005.

LÓPEZ-PEÑA, M.; A. N.; MUÑOZ, F.; FONDEVILA, D.; SUÁREZ, M. L.; GOICOA, A.; NIETO, J.M. Visceral leishmaniasis with cardiac involvement in a dog: a case report. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, n. 1, p. 20, 2009.

MANGGE, H. Beyond Cholesterol-New Cardiovascular Biomarkers. In: **Next-Generation Nutritional Biomarkers to Guide Better Health Care**. Karger Publishers, 2016. p. 81-88

MARCONDES, M.; ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, p. 341-352, 2013.

MAROLI, M., FELICIANGELI, M. D., BICHAUD, L., CHARREL, R. N., & GRADONI, L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. **Medical and veterinary entomology**, v. 27, n. 2, p. 123-147, 2013.

MARTIN, M. **Small animal ECGs – Na Introductory Guide**. 2 ed. Copenhagen: Blackwell Publishing Ltd. 2010.

MCCANN, M. T., OZOLEK, J. A., CASTRO, C. A., PARVIN, B., & KOVACEVIC, J. Automated histology analysis: Opportunities for signal processing. **IEEE Signal Processing Magazine**, v. 32, n. 1, p. 78-87, 2015.

MENDES, R.S.; GURJAO, T.A.; OLIVEIRA, L.M.; SANTANA, V.L.; TAFURI, W.L.; SANTOS, J.R.S.; DANTAS, A.F.M.; SOUZA, A.P. Miocardite crônica em um cão naturalmente infectado com *Leishmania (Leishmania) infantum* chagasi: aspectos clínicos e patológicos. **Arq. bras. med. vet. zootec**, p. 79-84, 2014.

MISSAWA, N. A.; LOROSA, E. S.; DIAS, E. S. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 365-368, 2008.

MONTALVO, A. M.; FRAGA, J.; MONZOTE, C. L.; GARCIA, G.; FONSECA, L. Diagnóstico de la leishmaniasis: de la observación microscópica del parásito a la detección del ADN. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, Habana, v.64 ,n. 2, 2012.

MORAIS, C.F.; DUARTE, M.I.S.; CORBETT, A.E.P.; REIS, M.M. Alterações morfológicas cardíacas no curso da leishmaniose visceral humana. Estudo baseado em 16 casos de necropsia. **Arq. Bras. Card.**, v.51, p.441-445, 1988.

NAUCKE, T. J.; LORENTZ, S. First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany. **Parasites & vectors**, v. 5, n. 1, p. 67, 2012.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 10 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2000.

OTTO, C. M.; SCHWAEGLER, R.G.; FREEMAN, R.V. **Ecocardiografia: guia essencial**. 2 eds. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

PADUA, P. P.M. **Cardiomiopatia hipertensiva em cães com leishmaniose visceral.**

2013. xi, 68 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho,

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013

PALTRINIERI, S.; SOLANO-GALLEGO, L.; FONDATI, A.; LUBAS, G.; GRADONI,

L.; CASTAGNO, M.; CROTTI, A.; MAROLI, M.; OLIVA, G.; ROURA, X.; ZATELLI,

A.; ZINI, E. Guidelines for diagnosis and clinical classification of Worlds: unveiled

similarities and differences. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 28, n. 12, p. 531-538,

2012.

PANGRAZIO, K.K.; COSTA, E.A.; AMARILLA, S.P.; CINO, A.G.; SILVA, T.M.A.;

PAIXÃO, T.A.; COSTA, L.F.; DENGUES, E.G.; RUIZ DIAZ, A.A Tissue distribution of

Leishmania chagasi and lesions in transplacentally infected fetuses from symptomatic and

asymptomatic naturally infected bitches. **Veterinary parasitology**, v. 165, n. 3, p. 327-

331, 2009.

PASSOS-DIAS, F. O.; LOROSA, E. S.; REBÊLO, J. M. M. Fonte alimentar sangüínea e

a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae,

Phlebotominae). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 5, p. 1373-1380, 2003.

Picard MH, Adams D, Bierig SM, Dent JM, Douglas PS, Gillam LD, Keller AM, Malenka

DJ, Masoudi FA, McCulloch M, Pellikka PA, Peters PJ, Stainback RF, Strachan GM,

Zoghbi WA; American Society of Echocardiography. **J Am Soc Echocardiogr.** 2011

Jan;24(1):1-10.

PINHO, A. M. C. **Miocardites - Contributo da ressonância magnética na sua**

caracterização. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, 2012

POPESCU, B. A.; GINGHINA, C. Ecocardiografia Doppler. **Ecocardiografia Doppler**, v. 1, p. 273-298, 2011.

REIS, S.; PROVENZA, M.; GARCIA, D. A. A.; FROES, T. R. A história da ultrassonografia veterinária em pequenos animais. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, n. 1, 2011.

ROSA, F. A., LEITE, J. H. A. C., BRAGA, E. T., MOREIRA, P. R. R., BALTAZAR, F. H., BIONDO, A. W., PADUA, P.P.M.; VASCONCELOS, R.O.; CAMACHO, A.A.; FERREIRA, W.L.; MACHADO, G.F.; MARCONDES, M. Cardiac lesions in 30 dogs naturally infected with *Leishmania infantum* chagasi. **Veterinary pathology**, v. 51, n. 3, p. 603-606, 2014.

ROSS, Michael H.; REITH, EDWARD J.; ROMRELL, LYNN J. Histologia: texto e atlas. **São Paulo: Panamericana**, p. 47-115, 1993.

ROSYPAL, A. C.; TROY, G. C.; ZAJAC, A. M.; FRANK, G.; LINDSAY, D. S. Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected beagle. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 4, p. 970-972, 2005.

SANTOS, G. E. O. Cálculo amostral: calculadora online, 2011. Disponível em: <<http://www.calculoamostral.vai.la>>. Acesso em: 25 de agosto de 2017.

SILVA, B.C.; RACHID, M.A.; VIEIRA, F.G.; FIGUEIREDO, M.M.; VALLE, G.R.; TAFURI, W.L.; TOLEDO JUNIOR, J.C.; RIBEIRO, V.M. Chronic pericarditis in a naturally *Leishmania (Leishmania)* chagasi infected dog. **Bras. J. Vet. Pathol.**, v.2, p.107-109, 2009.

SILVA, C.E.S.; FERREIRA, L.D.C.; PEIXOTO, L.B.; MONACO, C.G.; GIL, M.A.; ORTIZ, J.; IANNI, B.M.; ANDRADE, J.L.; JUNIOR, W.M.; BARRETO, A.C.P. Avaliação da contratilidade segmentar na doença de Chagas utilizando a integral do gradiente intramiocárdico de velocidade (strain miocárdico) obtida pela ecocardiografia com Doppler tecidual. **Arq Bras Cardiol**, v. 84, n. 4, p. 286-21, 2005.

SILVA, F. L.; OLIVERA, R. G.; SILVA, T. M. A.; XAVIER, M. N.; SILVA, F. S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. **Rev Trop Cienc Agr Biol**, v. 1, n. 1, p. 20-31, 2007.

SILVA, S. T. P.; MARQUES, L. D. F. V.; LAMOUNIER, K. C. C.; CASTRO, J. M.; BORJA-CABRERA, G. P. Leishmaniose visceral humana: reflexões éticas e jurídicas acerca do controle do reservatório canino no Brasil. **Revista de bioética y derecho**, n. 39, p. 135-151, 2017.

SOARES, J. L. M.; ROSA, D. D.; LEITE, V. R. S.; PASQUALOTTO, A. C. **Métodos diagnósticos: consulta rápida**. Artmed Editora, 2009.

SOLANO-GALLEGO, L.; MIRÓ, G.; KOUTINAS, A.; CARDOSO, L.; PENNISI, M. G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasites & vectors**, v. 4, n. 1, p. 86, 2011.

SOUSA, M. G.; CARARETO, R.; SILVA, J. G.; OLIVEIRA, J. Assessment of the electrocardiogram in dogs with visceral leishmaniasis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 643-647, 2013.

THALER, M.S. **ECG essencial: eletrocardiograma na prática diária**. 5 ed. 336 p. Porto Alegre: Artmed, 2008.

THRALL, D. E. **Textbook of veterinary diagnostic radiology**. Elsevier Health Sciences, 2013.

THRALL, D. **Diagnóstico de radiologia veterinária**. Elsevier Brasil, 2014.

THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. Editora Roca, 2007.

TILLEY, L.P. **Essential of canine and feline electrocardiography**. 3.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992. 470p.

TORRENT, E.; LEIVA, M.; SEGALÉS, J.; FRANCH, J.; PEÑA, T.; CABRERA, B.; PASTOR, J. Myocarditis and generalised vasculitis associated with leishmaniosis in a dog. **Journal of small animal practice**, v. 46, n. 11, p. 549-552, 2005.

VASAN, R. S. Biomarkers of cardiovascular disease. **Circulation**, v. 113, n. 19, p. 2335-2362, 2006.

VINCENT, H. M. William Boog Leishman: parasitologist and politician. **Parasitology**, p. 1-8, 2016.

7. ANEXOS



DECLARAÇÃO DE AUTORIZAÇÃO DA INSTITUIÇÃO COPARTICIPANTE

Declaro estar ciente dos objetivos do Projeto de Pesquisa “AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO SEGMENTAR CARDÍACA DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS COM LEISHMANIOSE VISCERAL: ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ECOCARDIOGRÁFICOS” e concordo em autorizar a execução da mesma nesta instituição. Esta Instituição está ciente de suas coresponsabilidades como instituição coparticipante do presente Protocolo de Pesquisa, e de seu compromisso no resguardo da segurança e bem-estar dos participantes da pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária para a garantia de tal segurança.

A pesquisa só terá início nesta instituição após apresentação do Parecer de Aprovação por um Comitê de Ética em Experimentação Animal. Autorizo os pesquisadores, **FLÁVIO RIBEIRO ALVES E ANDREZZA BRAGA SOARES DA SILVA** acesso ao Centro de Zoonoses e a disponibilização de 20 cães que serão utilizados na pesquisa.

Teresina, 31 de Julho de 2017.

Ayla Maria Calixto de Carvalho

Ayla Maria Calixto de Carvalho
Comissão de Ética em Pesquisa da
Fundação Municipal de Saúde

Ayla Maria Calixto de Carvalho
Gerente de Ações Estratégicas
GAE/FMS

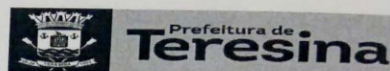


Rua Governador Artur de Vasconcelos, Nº 3015
Bairro Aeroporto, Teresina - PI | CEP: 64002-530



86 3215 7700 | 86 3215 7701

FMS
Fundação Municipal
de Saúde



Te/04/09/2017.

Informamos os tipos de insumos repassados pelo Ministério da Saúde para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina-LVC e utilizados por esta GEZOOM.

1. **TR DPP- LVC:** Teste Rápido qualitativo para detecção de anticorpos para LVC; Fabricação : Bio-Manguinhos; Partida: 16OTV024Z.
2. **EIE-LVC:** Ensaio Imunoenzimático para diagnóstico da LVC. Fabricação: Bio-Manguinhos: Partida: 174EL002Z.

Atenciosamente,

Méd. Vet. Oriana Bezerra Lima.

CRMV-PI 0431.

Gerente da Gerência de Zoonoses.