



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS APLICADAS A
ANIMAIS DE INTERESSE REGIONAL**

INGRID DOS SANTOS FARIAS

**ALTERAÇÕES CUTÂNEAS E RENAIIS EM CÃES INFECTADOS POR
LEISHMANIA SPP. SUBMETIDOS A PROTOCOLO DE TRATAMENTO**

TERESINA/PI

2023

INGRID DOS SANTOS FARIAS

**ALTERAÇÕES CUTÂNEAS E RENAIIS EM CÃES INFECTADOS POR
LEISHMANIA SPP. SUBMETIDOS A PROTOCOLO DE TRATAMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Tecnologias Aplicadas a animais de Interesse Regional para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Diagnósticos avançados em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Airton Mendes Conde Júnior

TERESINA/PI

2023

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial CCA
Serviço de Representação Temática da Informação

F224a Farias, Ingrid dos Santos.
Alterações cutâneas e renais em cães infectados por *Leishmania*
SPP. submetidos a protocolo de tratamento / Ingrid dos Santos
Farias. -- 2023.
40 f.: il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Centro
de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Tecnologias
Aplicadas a Animais de Interesse Regional, 2023.

“Orientador: Prof. Dr. Airton Mendes Conde Júnior .”

1. Leishmaniose. 2. Doença renal. 3. Alopurinol. 4. Vacinas. 5.
Pele. I. Conde Júnior, Airton Mendes. II. Título.

CDD 616.9364

Bibliotecário: Rafael Gomes de Sousa - CRB3/1163

**ALTERAÇÕES CUTÂNEAS E RENAIIS EM CÃES INFECTADOS POR
LEISHMANIA SPP. SUBMETIDOS A PROTOCOLO DE TRATAMENTO**

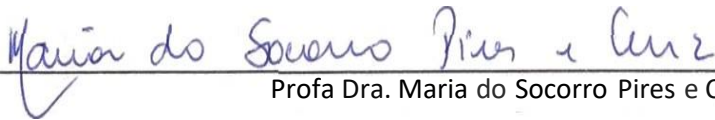
Ingrid Dos Santos Farias

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Airton Mendes Conde Júnior

Orientador/DMOR/CCS/UFPI



Profa Dra. Maria do Socorro Pires e Cruz

Membro interno/DMV/CCA/UFPI



Profa Dra. Karinn De Araujo Soares Bastos

Externo ao Programa/DMOR/CCS/UFPI

AGRADECIMENTOS

Agradecer primeiramente a Deus por toda força diária pra continuar essa caminhada.

Á minha família, meu noivo e amigos pelo suporte, aconselhamento e base.

Aos amigos que fiz no Laboratório de morfologia, por toda ajuda, amizade e acolhimento.

E ao meu orientador Airton Conde por ter me recebido de braços abertos no laboratório e por todos os conselhos e dicas para a vida.

A organização estrutural dessa dissertação se apresenta da seguinte forma: Capítulo I, Capítulo II e Capítulo III. O capítulo I é intitulado de “**Patologias cutâneas e renais em cães infectados por *Leishmania spp.* e tratamentos existentes.**” Trata-se da revisão bibliográfica, aceita para compor o livro de doenças infecciosas e parasitárias Ed IV, e será publicado em fevereiro de 2023 pela Editora Pasteur, acerca do assunto abordado na dissertação. O capítulo II “**Histopatologia da pele de orelhas de cães infectados naturalmente com *Leishmania infantum* e submetidos a protocolo de tratamento**” foi organizado conforme a **Revista de ciência Veterinária e saúde pública – ISSN – 1413-0130** de Qualis B4 em Medicina Veterinária e encontra-se submetido. O Capítulo III intitulado de “**Histopatologia do rim de cães infectados naturalmente com *Leishmania infantum* e submetidos a protocolo de tratamento**” foi organizado conforme a “**Revista Brasileira de Medicina Veterinária.**” Qualis B3 em Medicina Veterinária.

SUMÁRIO

Capítulo I: Patologias cutâneas e renais em cães infectados por <i>Leishmania spp.</i> e tratamentos existentes.....	7
Introdução.....	7
Métodos.....	8
Resultados e Discussão.....	9
Aspectos Clínicos da leishmaniose no cão.....	9
Alterações patológica em orelha de cães com leishmaniose.....	10
Aspectos fisiopatológicos da doença renal em cães com leishmaniose.....	11
Uso de drogas leishmaniosstáticas e imunoterapia como tratamento da leishmaniose.....	12
Conclusão.....	13
Referências Bibliográficas.....	13
Objetivo.....	16
Objetivo geral.....	16
Objetivo específico.....	16
Capítulo II: Histopatologia da pele de orelha de cães infectados naturalmente com <i>Leishmania infantum</i> e submetidos a protocolo de tratamento.....	17
Capítulo III: Histopatologia renal de cães infectados naturalmente com <i>Leishmania Infatum</i> e submetidos a protocolo de tratamento.....	32

CAPÍTULO I

Patologias cutâneas e renais em cães infectados por *Leishmania spp.* e tratamentos existentes

Ingrid dos Santos Farias¹

Clarisse Maria Barbosa Fonseca¹

Amanda de Oliveira Moraes²

Jonatas Paulino da Cunha Monteiro Ribeiro³

Airton Mendes Conde Júnior⁴

1. Discente – Programa de Pós Graduação em Tecnologias Aplicadas a animais de Interesse Regional, Universidade Federal do Piauí.
2. Discente – Graduação em Medicina Veterinária, Universidade federal do Piauí.
3. Discente – Graduação em Medicina, Universidade Federal do Piauí.
4. Docente – Departamento de Morfologia, Universidade Federal do Piauí.

Palavras-chave:

Alterações cutâneas; Alterações renais; Tratamentos.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença de curso crônico, de caráter zoonótico e que constitui um grave problema de saúde pública mundial, especialmente em regiões tropicais e subtropicais. Endêmica em 27 países europeus e em 12 países das Américas, no qual o Brasil é responsável pelo maior número de casos notificados, tendo como agente etiológico, protozoários intracelulares do gênero *Leishmania* (TORRES-GUERRERO *et al.*, 2017; OPAS/OMS, 2020). A transmissão se dá através do repasto sanguíneo da fêmea infectada de um flebotomíneo do gênero *Lutzomyia* (OPAS/OMS, 2020).

Os cães, *Canis Lupus familiares*, são considerados o principal reservatório e elo no ciclo doméstico da doença (TRAVI, 2014), em virtude da alta carga parasitária na pele, principalmente nas regiões de orelha e espelho nasal. Mesmo na ausência de sintomatologia clínica (MOURA *et al.*, 2008), esses cães assintomáticos podem ser tão infectantes para o vetor como cães sintomáticos, assim a infecção do inseto vetor e por consequência a transmissão para o homem é favorecida (MOURA *et al.*, 2008). A resistência ao desenvolvimento de infecção ativa com manifestação de sinais clínicos é consequência do padrão de resposta imunológica expressa pelo cão infectado (SOLANO-GALEGO *et al.*, 2011). Dessa forma, os anticorpos que protegeriam o hospedeiro da infecção, produzidos de forma intensa, tornam-se prejudiciais, participando de processos inflamatórios e responsáveis por diversos sinais clínicos (KOUTINAS & KOUTINAS, 2014; CANTOS-BARREDA *et al.*, 2018). Essa abundância de

anticorpos não é capaz de controlar a infecção e é ainda deletéria, resultando muitas vezes na formação de complexos imunes (BARBIÉRI, 2006).

A leishmaniose canina pode envolver qualquer órgão e tecido, com manifestações clínicas inespecíficas, como anemia progressiva, esplenomegalia, linfadenopatia local ou generalizada, lesões oculares, úlceras crostosas em pontas de orelha, cauda e focinho, despigmentação, alopecia, hiperqueratose, quadros de glomerulonefrite e doença renal crônica (ORDEIX *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2017).

O tratamento da leishmaniose é realizado de acordo com o estadiamento da doença no paciente, sendo utilizado drogas leishmanicidas, leishmaniostático e imunomoduladores. No Brasil também é realizado protocolos de tratamento utilizando a associação desses grupos de drogas (RIBEIRO & TABANEZ, 2017).

Esse trabalho visa realizar uma breve revisão bibliográfica acerca da leishmaniose com enfoque em lesões de pele, rins e eficácia de tratamentos testados.

MÉTODO

O presente trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica sistemática, no qual realizou levantamento das principais literaturas acerca do assunto, dentre as fontes destacam-se livros sobre parasitologia, fisiologia, clínica veterinária e artigos coletados nas seguintes bases de dados: *Scientific Eletronic Library* (SCIELO), *Public Medline* (PubMed) e periódicos CAPES, no período de outubro/2021 a outubro/2022. Os descritores utilizados foram: “Leishmaniose canina”, “alterações patológicas cutâneas”, “patologias renais caninas”, “imunoterapia”, “leishmaniostático”. Como critérios de inclusão adotou-se: artigos publicados nos idiomas de inglês e português; artigos completos disponíveis na íntegra; artigos que abordassem o tema central da pesquisa. Após leitura dos títulos e resumos foram selecionados os artigos que dão embasamento para a presente revisão.

A revisão foi subdividida em seções onde a primeira aborda os aspectos clínicos da leishmaniose no cão, em seguida tem-se uma abordagem sobre as alterações patológicas em orelha de cães com leishmania, aspectos fisiopatológicos da doença renal em cães com leishmaniose e por fim o uso de drogas leishmaniostáticas e imunoterapia como tratamento da leishmaniose.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aspectos clínicos da leishmaniose no cão

Os cães, *Canis lupus familiares*, são considerados o principal reservatório e elo no ciclo doméstico da doença (TRAVI,2014), sendo, por esta razão, um dos alvos do programa de controle da doença no Brasil. (SOLANO-GALLEGO, 2011). A leishmaniose canina é uma doença de caracterização multissistêmica, essencialmente crônica, com sinais clínicos variáveis. Fatores nutricionais, imunossupresivos, espécie de *Leishmania* envolvida, resposta imunológica de cada hospedeiro, estão diretamente ligados as manifestações e progressão da doença. (VASCONCELOS *et al.*, 2017; ATTIPA *et al.*, 2018).

A leishmaniose possui um acentuado polimorfismo antigênico, desencadeando no hospedeiro reações imune do tipo celular e humoral (SALGADO-FILHO *et al.*, 2003). A resistência ao desenvolvimento de infecção ativa com manifestação de sinais clínicos, é consequência do padrão de resposta imunológica expressa pelo cão infectado (SOLANO-GALEGO *et al.*, 2011). Dessa forma, os anticorpos que protegeriam o hospedeiro da infecção, produzidos de forma intensa, tornam-se prejudiciais, participando de processos inflamatórios e responsáveis por diversos sinais clínicos. (KOUTINAS & KOUTINAS, 2014; CANTOS-BARREDA *et al.*, 2018). Essa abundância de anticorpos resulta muitas vezes na formação de complexos imunes, compostos principalmente por IgG e IgM em diferentes zonas anatômicas (especialmente nos rins e olhos) (BARBIÉRI, 2006).

As alterações cutâneas nos cães são bastante comuns e variáveis quanto à caracterização e extensão. É caracterizada, frequentemente, por nodulações, muitas vezes repletas de parasitos, quadros de hiperkeratose, caracterizado pelo espessamento excessivo da epiderme com descamação, úlceras crostosas em ponta de orelha e focinho, despigmentação e onicogribose (ORDEIX *et al.*, 2017). Doenças oftalmológicas, tais como ceratoconjuntivite, blefarite e uveíte também são frequentemente relatadas (PIETRO *et al.*, 2016), bem como alterações renais, como as glomerulonefrites. (SOLANO-GALEGO, 2009; KOUTINAS & KOUTINAS, 2014). As principais alterações em exames urinários são proteinúria persistente e aumento da relação proteína/creatinina urinária (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2009; MARTÍNEZ-SUBIELA *et al.*, 2013). Deve-se ressaltar que nem todo cão infectado irá necessariamente desenvolver as manifestações clínicas, porém ambos os cães, assintomáticos e sintomáticos, podem ser infecciosos para os flebotomíneos e transmissores da leishmaniose (RIBEIRO *et al.*, 2018).

Alterações patológica em orelha de cães com leishmaniose

A pele é considerada a porta de entrada e o maior reservatório de parasitas, tanto em cães infectados sadios como em animais doentes (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2004).

Corresponde a primeira linha de defesa contra agentes patogênicos, injúrias físicas e químicas. Ela é formada por epiderme, derme e hipoderme, sendo as duas primeiras camadas relacionadas com a resposta imunológica e manutenção da homeostase cutânea, por meio de uma variedade de células imunes especializadas e mediadores pró-inflamatórios (NESTLE *et al.*, 2009; BELKAID & TAMOUTOUNOUR, 2016). As orelhas dos cães aparecem como o principal sítio cutâneo de infecção, provavelmente por serem áreas com maior exposição e facilidade de acesso do vetor para inoculação do parasita (FIGUEIREDO, 2010).

No que diz respeito ao parasitismo cutâneo e a correlação com aspectos histológicos da pele, alguns estudos mostram que na grande parte dos casos em que há presença de intenso parasitismo na derme, não há correspondência com os processos inflamatórios observados, apesar de relatar casos em que houve essa correlação direta. Isso demonstra que a resposta ao parasito está diretamente ligada a resposta imune do hospedeiro frente a infecção. Uma vez que alguns animais se apresentam assintomáticos, mas com uma alta carga parasitária, enquanto outros podem apresentar uma carga parasitária menor, mas com lesões clínicas evidentes (FIGUEIREDO, 2010; TORRES-GUERRERO *et al.*, 2017).

Em animais infectados onde há presença de sintomatologia clínica, acontece pela incapacidade dos indivíduos em produzir IFN- γ e ativar macrófagos, a leishmania dissemina-se e, na dependência da espécie, causa a leishmaniose visceral ou a leishmaniose cutânea difusa. Acontece, por vezes, na leishmaniose cutânea e na leishmaniose mucosa, situações nas quais existe um forte desvio de Th1 e, embora o número de parasitas no tecido seja escasso ou até ausente, há desenvolvimento de lesão (CARVALHO *et al.*, 2018).

Os achados mais comuns em orelhas de cães infectados por leishmania, histologicamente falando, em um estudo feito por Figueiredo (2010), foram alterações degenerativas nas células epidérmicas basais e em células dos folículos pilosos, quadros de dermatite crônica em cães sintomáticos e assintomáticos, hiperkeratose, acantose, parakeratose, papilomatose, espongirose, vacuolização das células epidérmicas e em menor número necrose intersticial e lesões ulcerativas. Já foi relatado, de forma menos comum, quadros de dermatite periglândular, dermatite liquenóide, nodular ou pustular intraepidérmica, paniculite lobular e foliculite supurativa (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2004). No que diz respeito a reação inflamatória, a predominância foi de infiltrado celular no interstício composto por macrófagos, plasmócitos e linfócitos, apresentando-se de forma difusa na derme superficial e de forma focal ao redor de vasos, glândulas e folículos pilosos (FIGUEIREDO, 2010).

Aspectos fisiopatológicos da doença renal em cães com Leishmaniose

A leishmaniose canina pode envolver qualquer órgão e tecido, e quando se refere a deposição de imunocomplexos, os rins são os órgãos mais afetados. O envolvimento renal, intersticial e/ou glomerular é bem conhecido em infecções causadas por leishmania, sendo a insuficiência renal a principal causa de morte desses animais infectados (SOLANO-GALEGO *et al.*, 2011; TORRES *et al.*, 2013).

A formação de imunocomplexos está associada a ativação policlonal de linfócitos B e produção excessiva de anticorpos, decorrente da resposta imune humoral decorrente da infecção por leishmania (SOLANO-GALEGO *et al.*, 2011; KOUTINAS & KOUTINAS, 2014), quando estes são produzidos de forma exacerbada, acabam por gerar doença (DAY, 2007).

Os rins são órgãos afetados em todos os animais com leishmaniose, sejam eles sintomáticos ou assintomático, onde muitas vezes a demonstração clínica está somente em alterações renais (COSTA *et al.*, 2003). Após a grande produção de anticorpos e imunocomplexos, estes se depositam em vários tecidos e órgãos, dando origem a processos inflamatórios como poliartrite, glomerulonefrite e uveíte (KOUTINAS & KOUTINAS, 2014). Nas glomerulonefrites, há dilatação da membrana basal glomerular nos rins e consequente perda de proteínas pela urina (COSTA *et al.*, 2003). Dessa forma, a filtração glomerular fica comprometida, podendo chegar a perder 75% dos seus néfrons, com o avanço da doença, resultando em sinais como anorexia, polidipsia e poliúria (SOLANO-GALEGO *et al.*, 2011; KOUTINAS & KOUTINAS, 2014).

De acordo com alguns estudos, os achados histopatológicos mais encontrados foram, glomerulonefrite proliferativas e membranoproliferativa crônica, nefrite intersticial, infiltração de leucócitos nos lúmens capilares, degeneração e necrose tubular, edema intersticial, nefrite intersticial, hipertrofia e fibrose tubular (COSTA *et al.*, 2003).

Uso de drogas leishmanioestáticas e imunoterapia como tratamento da leishmaniose

No Brasil, o tratamento para a leishmaniose visceral canina com produtos de uso humano, de acordo com a portaria interministerial nº 1.426 de 11/07/2008, é proibido, porém de acordo com a nota técnica conjunta nº 001/2016 MAPA/MS, o medicamento Miltefosina (MilteforanTM, Virbac) foi licenciado, sendo permitido o uso do mesmo para o tratamento da leishmaniose canina. No entanto, o custo desse medicamento tem se tornado oneroso para alguns tutores, dificultando assim o acesso ao mesmo, dessa forma a sociedade vem buscando alternativas para solucionar a doença nos seus animais (NOLI & AUXILIA, 2005).

Na Europa, diferentes tipos de protocolos são utilizados no tratamento da leishmaniose visceral canina, utilizando drogas como antimonial pentavalente, anfotericina B, sulfato de

aminosidina, alopurinol, pentamidina, marbofloxacina e metronidazol, isoladamente ou em combinação, cuja escolha do medicamento depende do estado clínico-patológico do animal (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2011; PEREIRA, 2017; RIBEIRO *et al.*, 2018).

O Alopurinol é um fármaco classificado como leishmanioestático, no tratamento da LV em cães, sendo assim muito utilizado nos protocolos de tratamento da leishmaniose (RIBEIRO, 2018), ele interrompe a síntese proteica do parasito, resultando na inibição da sua multiplicação e na morte (JERICÓ *et al.*, 2015). Esse medicamento tem apresentado uma boa aceitação por possuir baixo custo, além da facilidade de acesso à compra e administração ao animal (NOLI & AUXILIA, 2005).

A imunoterapia se concentra na indução de resposta imune efetiva para controlar rapidamente a doença (AKBARI *et al.*, 2021). Nascimento *et al.* (2020) demonstrou a eficácia no uso associado de vacinas de segunda geração com adjuvantes e alopurinol, apresentando melhora clínica mesmo após a conclusão do tratamento e em relação a carga parasitária, a monoterapia com alopurinol apresentou uma redução transitória quando comparado com a associação com imunizantes, produzindo uma eliminação de parasitas mais sustentada, além de apresentar potenciais na redução da transmissão da leishmaniose pelo reservatório canino em regiões endêmicas. Vieira & Figueiredo (2021) avaliaram o tratamento de cães utilizando associação de Alopurinol, Domperidona onde foi constatado que todos os animais sofreram recidiva da infecção após o término do tratamento. Ademais, pesquisas avaliaram a utilização de vacinas quiméricas com sistemas adjuvantes, apresentando redução da carga parasitária esplênica em camundongos infectados, sendo necessário mais estudos para comprovar sua eficácia (OSTOLIN *et al.*, 2021).

Os tratamentos da Leishmaniose canina precisam ser capazes de promover uma redução significativa da carga parasitária dos animais a ponto de torna-se indetectável nos testes diagnósticos e perdurarem após o término do tratamento empregado para se dizer eficaz. A diminuição dessa carga parasitária é importante devido a LVC ser uma zoonose e ser considerada um grande problema de saúde pública e mostra-se em expansão para zona urbana (JERICÓ, 2015).

CONCLUSÃO

Diante do exposto, nota-se que a orelha de cães é um órgão alvo importante na infecção e patogenia da Leishmaniose, apresentando diferentes alterações macroscópicas e microscópicas relevantes que podem ser indicativos da doença.

Os rins mostram-se como órgãos importantes na avaliação clínica de um animal com Leishmaniose, por ser considerado o órgão com maior risco de agravamento, causa mortis e determinação do tratamento de escolha em animais positivos.

Os tratamentos demonstrados em pesquisas com drogas leishmanioestáticas e imunoterapia mostram-se eficazes em relação a carga parasitária e conseqüentemente sintomatologias clínicas, porém ainda necessitam de estudos que demonstrem as características microscópicas desses órgãos após esses protocolos de tratamento, buscando investigar alterações causadas pelas drogas ou permanência de alterações patológicas devido a infecção, para que assim possamos entender algumas sequelas causadas nesses órgãos alvo e poder realizar ajustes nos protocolos de tratamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKBARI, M. *et al.* Immunotherapy in treatment of leishmaniasis. *Immunology Letters*, v. 233, p. 80–86, 2021.
- ATTIPA, C. *et al.* Association between canine leishmaniosis and *Ehrlichia canis* co-infection: a prospective case-control study. *Parasites & Vectors*, 11:184, 2018.
- BARBIERI, C.L. Immunology of canine leishmaniasis. *Parasite Immunol*, v.28,n.7, p.329-37, 2006.
- BELKAID, Y. & TAMOUTOUNOUR, S. The influence of skin microorganisms on cutaneous 235 immunity. *Nature Reviews Immunology*, v. 16, p. 353-366, 2016.
- CANTOS-BARREDA, A. *et al.* Changes in serum anti- *Leishmania* antibody concentrations measured by time-resolved immunofluorometric assays in dogs with leishmaniosis after treatment. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 198, n. January, p. 65–69, 2018
- CARVALHO, A.G. *et al.* High seroprevalence and peripheral spatial distribution of visceral leishmaniasis among domestic dogs in an emerging urban focus in Central Brazil: a cross-sectional study. *Pathogens and Global Health*, v. 112, v. 1, p. 1–8, 2018.
- COSTA, F.A *et al.*, Histopathologic patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. *Vet. Pathol*, n. 40, p. 677-684, 2003.
- DAY, M.J. Immunoglobulin G subclass distribution in canine leishmaniosis: A review and analysis of pitfalls in interpretation. *Veterinary Parasitology*, v.147, p.2–8, 2007.
- FIGUEIREDO, M. M. *et al.* Histopathological and parasitological investigations of ear healthy skin of dogs naturally and experimentally infected with *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi*. *Histology and histopathology*, 2010
- JERICÓ M.M. *Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos*. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2015.

KOUTINAS A. & KOUTINAS C.K.; Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to *Leishmania infantum/chagasi*. *Veterinary Pathology*; 51(2):527-538, 2014.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S. *et al.* Urinary C reactive protein levels in dogs with leishmaniasis at different stages of renal damage. *Research in Veterinary Science*, v 95, p.924-929, 2013.

MOURA, E.P.R. *et al.* Histopathological and parasitological analysis of skin tissues biopsies from two distinct anatomical áreas of the ears of dogs. *Brasilian J Vet Pathol*, v.1, p.10-15, 2008.

NASCIMENTO, L. *et al.* Allopurinol therapy provides long term clinical improvement, but additional immunotherapy is required for sustained parasite clearance, in *L. infantum*-infected dog. *Vaccine*: X, 4, 1–7.2020

NESTLE, F.O. *et al* Skin immune sentinels in health 291 and disease. *Nature Reviews Immunology*, v. 9, n. 10, p. 679691. 2009.

NOLI, C. & AUXILIA, S. T. Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. *Veterinary Dermatology*. v. 16, n. 4, p. 213-232, 2005.

OPAS/OMS. Organização Pan-Americana da Saúde: Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas: Washington: Organização Pan-Americana da Saúde; 2020

ORDEIX, L. *et al.* Histological and parasitological distinctive findings in clinically-lesioned and normal-looking skin of dogs with different clinical stages of leishmaniosis. *Parasites & Vectors*, 10:121, 2017.

OSTOLIN, T. L. V. D. P. *et al.* A chimeric vaccine combined with adjuvant system induces immunogenicity and protection against visceral leishmaniasis in BALB/c mice. *Vaccine*, v. 39, n. 20, p. 2755–2763, 2021.

PIETRO, S. D. *et al.* Prevalence, type, and prognosis of ocular lesions in shelter and owned-client dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Veterinary World*, EISSN: 2231-0916, v. 9, 2016.

RIBEIRO, R.R. *et al.* Canine Leishmaniasis: An Overview of the Current Status and Strategies for Control. *BioMed Research International*, v. 2018, n. C1, p. 1–12, 2018.

SALGADO-FILHO, N. *et al.* Envolvimento da função renal em pacientes com leishmaniose visceral (calazar). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v.36, n.2, p. 217-221, 2003.

SILVA, K. R. *et al.* Scoring clinical signs can help diagnose canine visceral leishmaniasis in a highly endemic area in Brazil *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 112, p.53-63, 2017

SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* Histological and immunohistochemical study of clinically normal skin of *Leishmania infantum*-infected dogs. *Journal of comparative pathology*, v. 130, n. 1, p. 7-12, 2004.

SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, v. 165, n. 1–2, p. 1– 18, 2009.

SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & Vectors*, 4:86, 2011.

TABANEZ, P. & RIBEIRO, V. *Estadiamento e Tratamento da LVC*. Brasileish. 2017.

TORRES-GUERRERO, E. *et al.* Leishmaniasis: a review. *F1000Research*, v. 6, 2017.

TRAVI, B.L. Ethical and epidemiological dilemmas in the treatment of dogs for visceral leishmaniasis in Latin America. *Biomédica: revista del Instituto Nacional de Salud*, v. 34, n. 1, p. 7–12, 2014.

VASCONCELOS, T.C.B.D. *et al.* Canine susceptibility to visceral leishmaniasis: A systematic review upon genetic aspects, considering breed factors and immunological concepts. *Infection, Genetics and Evolution*, 2017

OBJETIVO

Objetivo geral:

- Realizar estudo histopatológico da pele de orelha e rim de cães infectados naturalmente por *Leishmania infantum* submetidos a protocolo de tratamento.

Objetivos específicos:

- Analisar a histologia do rim dos animais de forma qualitativa empregando a microscopia óptica
- Analisar a histologia da pele da orelha dos animais de forma qualitativa empregando a microscopia óptica
- Identificar e avaliar a predominância de processos inflamatórios
- Identificar processos patológicos nos rins dos animais não tratados e tratados
- Avaliar a evolução da pele e rim dos animais após protocolo de tratamento

Capítulo II

Histopatologia da pele de orelhas de cães infectados naturalmente com *Leishmania infantum* e submetidos a protocolo de tratamento

Ingrid dos Santos Farias^{a,*}, Clarisse Maria Barbosa Fonseca^b, João Victor Silva Araújo^b, Luana Dias de Moura^b, Leopoldo Fabrício Marçal do Nascimento^c, Airton Mendes Conde Júnior^d, Maria do Socorro Pires e Cruz^e

^aDiscente de mestrado do Programa de Pós Graduação em Tecnologias Aplicadas a animais de Interesse Regional, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, CEP: 64059-550, Teresina, Piauí, Brasil

^bDiscente de doutorado do Programa de Pós Graduação em Tecnologias Aplicadas a animais de Interesse Regional, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, CEP: 64059-550, Teresina, Piauí, Brasil

^cCentro Universitário Santo Augustinho, Teresina, Piauí, Brasil

^dDepartamento de Morfologia, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, CEP: 64059-550, Teresina, Piauí, Brasil

^eDepartamento de Morfofisiologia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, CEP: 64059-550, Teresina, Piauí, Brasil

*ingridosantofarias@gmail.com

RESUMO

A leishmaniose é uma doença de curso crônico, de caráter zoonótico e endêmica em diversos países, sendo o Brasil o maior responsável pelo número de casos notificados. A pele é a porta de entrada e reservatório dos parasitas em cães infectados sadios e doentes. O objetivo desse trabalho foi analisar e comparar histologicamente a pele da orelha de cães infectados naturalmente por *Leishmania infantum* no qual foram divididos em 4 grupos de 6 animais cada, onde o grupo 1 não foi tratado, o grupo 2 foi tratado com alopurinol via oral em monoterapia, o grupo 3 foram imunizados por injeções subcutâneas com a formulação Leish-F2 + SLA-SE, 6 doses, mais o alopurinol na dose de 20 mg/kg, 1x ao dia, durante 90 dias e o grupo 4 que foram imunizados por injeções subcutâneas com a formulação Leish-F2 + SLA-IMQ-SE, 6 doses, mais o alopurinol na dose de 20 mg/kg, 1x ao dia, durante 90 dias. Após a eutanásia, aos 360 dias, foi feita a coleta da pele para a análise histopatológica. Foi observado um infiltrado linfocitoplasmocitário em todos os cães dos dois grupos, com graus de intensidade diferentes, variando de discreto a intenso, com predomínio da região Perifolicular e Periglandular, apresentando como lesão não inflamatória, Espongiose, Hiperqueratose paraqueratótica, Hiperplasia epidérmica, Papilomatose e Hemangioma. A partir da análise histopatológica pode-se notar que os animais não tratados apresentaram graus de inflamação mais intenso, bem como alterações não inflamatórias não vista em animais que receberam algum tipo de tratamento.

ABSTRACT

Leishmaniasis is a disease with a chronic course, zoonotic and endemic in several countries, with Brazil being the main responsible for the number of reported cases. The skin is the port of entry and reservoir for parasites in healthy and sick infected dogs. The aim of this study was to histologically analyze and compare the ear skin of dogs naturally infected by *Leishmania infantum* in which they were divided into 4 groups of 6 animals each, where group 1 was not treated, group 2 was treated with oral allopurinol in monotherapy, group 3 were immunized by subcutaneous injections with the formulation Leish-F2 + SLA-SE, 6 doses, plus allopurinol at a dose of 20 mg/kg, 1x a day, for 90 days and group 4 who were immunized by subcutaneous injections with the formulation Leish-F2 + SLA-IMQ-SE, 6 doses, plus allopurinol at a dose of 20 mg/kg, 1x a day, for 90 days. After euthanasia, at 360 days, the skin was collected for histopathological analysis. A lymphohistioplasmacytic infiltrate was observed in all dogs of both groups, with different degrees of intensity, ranging from mild to intense, with a predominance of the Perifollicular and Periglandular region, presenting as a non-inflammatory lesion, Spongiosis, Parakeratotic Hyperkeratosis, Epidermal Hyperplasia, Papillomatosis and Hemangioma. From the histopathological analysis it can be noted that the untreated animals showed more intense degrees of inflammation, as well as non-inflammatory changes not seen in animals that received some type of treatment.

Palavras-chave: patologias, leishmaniose, tratamentos

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença de curso crônico, que constitui um grave problema de saúde pública mundial, especialmente em regiões tropicais e subtropicais. Endêmica em 27 países europeus e em 12 países das Américas, sendo o Brasil responsável pelo maior número de casos notificados, tendo como agente etiológico, protozoários intracelulares do gênero *Leishmania* (TORRES-GUERRERO et al., 2017; OPAS/OMS, 2020). A transmissão se dá através da picada da fêmea infectada de um flebotominio do gênero *Lutzomyia*. (OPAS/OMS, 2020). Os cães, *Canis lupus familiares*, são considerados o principal reservatório e elo no ciclo doméstico da doença (MARZOCHI et al., 1985; TRAVI, 2014.) em virtude da alta carga parasitária na pele, principalmente nas regiões de orelha e espelho nasal. Mesmo na ausência de sintomatologia clínica (DEANE, 1955; MOURA et al., 2008), esses cães assintomáticos podem ser tão infectantes para o vetor como cães sintomáticos (GUARGA et al, 2000; LAURENTI et al, 2013), dessa forma a infecção do inseto vetor e por consequência a transmissão para o homem é favorecida (MOURA et al., 2008; FIGUEIREDO, 2012).

A pele é considerada a porta de entrada e o maior reservatório de parasitas, tanto em cães infectados sadios como em animais doentes (SOLANO-GALLEGO et al., 2001; SOLANO-GALLEGO et al., 2004). Corresponde a primeira linha de defesa contra agentes patogênicos, injúrias físicas e químicas (KEMP et al, 1997). Ela é formada por epiderme, derme e hipoderme, sendo as duas primeiras camadas relacionadas com a resposta imunológica e manutenção da homeostase cutânea, por meio de uma variedade de células imunes especializadas e mediadores pró-inflamatórios. (NESTLE et al., 2009; BELKAID & TAMOUTOUNOUR, 2016). As orelhas dos cães aparecem como o principal sítio cutâneo de infecção, provavelmente, por serem áreas com maior exposição e facilidade de acesso do vetor para inoculação do parasita (XAVIER et al., 2006; TRAVI et al., 2014).

No que diz respeito ao parasitismo cutâneo e a correlação com aspectos histológicos da pele, alguns estudos mostram que na grande parte dos casos onde há presença de intenso parasitismo na derme, não são observados processos inflamatórios, embora há relatos que expressam correlação direta. (TORRES-GUERRERO et al., 2017) Isso demonstra que a resposta ao parasito está diretamente ligada a resposta imune do hospedeiro frente a infecção, uma vez que alguns animais se apresentam assintomáticos, mas com uma alta carga parasitária, enquanto outros podem apresentar uma carga parasitária menor, mas com lesões clínicas evidentes (FIGUEIREDO, 2009; ROSSI, 2013; TORRES-GUERRERO et al., 2017).

A imunoterapia se concentra na indução de resposta imune efetiva para controlar rapidamente a doença (AKBARI *et al.*, 2021). Nascimento *et al.* (2020) demonstrou a eficácia no uso associado de vacinas de segunda geração com adjuvantes e Alopurinol, apresentando melhora clínica mesmo após a conclusão do tratamento.

O Alopurinol é um fármaco utilizado na terapia LV em cães devido a sua ação leishmanioestático, (AMUSATEGUI, 1998; RIBEIRO, 2007), ele interrompe a síntese proteica do parasito, resultando na inibição da sua multiplicação e na morte (JERICÓ *et al.*, 2015). Esse medicamento tem apresentado uma boa aceitação por possuir baixo custo, além da facilidade de acesso à compra e administração ao animal. (CAVALIEIRO *et al.*, 1999; NOLI; AUXILIA, 2005). Logo, o presente estudo visa analisar e comparar amostras de pele de orelha de cães naturalmente infectados com *Leishmania infantum*. e submetidos a protocolo de tratamento.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ética:

Esta pesquisa seguiu os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de experimentação animal, foi aprovado e registrado no Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade Federal do Piauí com protocolo nº 093/15.

População de estudo:

A pesquisa foi realizada inicialmente no Canil de experimentação animal do Centro de Ciências Agrárias, e foi dada continuidade no Laboratório de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Piauí. Foram utilizados 24 animais naturalmente infectados por *Leishmania infantum* e obtidos através da Gerência de Zoonoses, da Fundação Municipal de Saúde. Os canídeos eram adultos, machos e fêmeas, com idades desconhecidas, com ou sem raça definida e peso variável. Os animais incluídos na pesquisa, foram cães submetidos a testes parasitológico, com aspirados de linfonodo, pele e/ou medula óssea, com resultado positivo. Não foram incluídos no estudo animais soro-reagentes diagnosticados por testes sorológicos rápido para Ehrlichia canis (Alere Erliquiose Ac test KIT®) e cinomose canina (Alere Cinomose Ag test kit ®, São Paulo, Brasil). Não tendo outras patologias ou nenhuma adversidade que impeça a forma oral de tratamento e coleta de amostra, os animais foram microchipados (AnimallTag) para identificação, além de receberem vermifugação (Dauverm Plus, Vansil®) e vacina contra outras viroses de rotina (Vanguard HTLP 5/CV-L; Pfizer Animal Health, New York, USA) (Nascimento *et al.*, 2020).

Grupos experimentais:

Os 24 cães selecionados foram divididos em 4 grupos experimentais. Grupo I: composto de 6 cães que não receberam medicação; Grupo II: composto de 6 cães que receberam o Alopurinol em monoterapia por via oral na dose 20 mg/Kg, 1x ao dia, durante 90 dias; Grupo III: composto de 6 cães que foram imunizados por injeções subcutâneas com a formulação Leish-F2 + SLA-SE (20 µg cada), 6 doses, com intervalo de 3 semanas mais o Alopurinol na dose de 20 mg/kg, 1x ao dia, durante 90 dias e o Grupo IV: composto de 6 cães que foram imunizados por injeções subcutâneas com a formulação Leish-F2 + SLA-IMQ-SE (20 µg cada), 6 doses, com intervalo de 3 semanas mais o alopurinol na dose de 20 mg/kg, 1x ao dia, durante 90 dias (Nascimento et al., 2020).

Avaliação clínica dos animais:

Os animais foram avaliados clinicamente por 3 médicos veterinários, considerando sinais sistêmicos, alterações cutâneas e oculares atribuíveis a infecção por *Leishmania* (Nascimento et al., 2020). As avaliações foram feitas nos dias zero, 63, 180 e 360.

Coleta de amostra:

Os animais foram acompanhados clinicamente por 360 dias e ao final do período de monitoramento, todos os cães foram sedados por injeção intravenosa de cloridrato de xilazina (1 mg / kg) (Xilazin®, Syntec, Brasil) e cloridrato de cetamina (10 mg / kg) (Cetamin®, Syntec, Brasil) e, após 10 min, o anestésico geral tiopental de sódio 2,5% foi administrado por via intravenosa na dose de 0,5 mL / kg. Ao atingir o plano anestésico adequado, foi administrado o T-61® (Hoechst Roussel Vet), e a morte foi confirmada pela ausência de batimento cardíaco e frequência respiratória (Nascimento et al., 2020) Então, realizou-se uma incisão no terço superior da orelha, coletando uma parte do tecido hígido e outro da lesão, caso houvesse. Outrosim foram colhidos fragmentos do rim de cada animal. As amostras foram imersas em solução tamponada de formaldeído a 10% para fixação, pH 7,6, em um volume quarenta vezes maior que o volume das amostras, por 48 h.

Histopatologia:

Após a fixação, as amostras biológicas foram encaminhadas ao Laboratório de Pesquisa em Ciências Morfológicas, pertencente ao Departamento de Morfologia-UFPI, e submetidas a processamento histológico, obtendo seções de 5 µm de espessura e coradas com Hematoxilina-

Eosina (HE) (Fonseca et al., 2017). As análises dos cortes histológicos foram realizadas sob microscópio óptico para avaliação das alterações apresentadas.

Análise estatística:

Os dados foram analisados descritivamente e as alterações clínicas expressas em (porcentagem/média)

RESULTADOS

Lesões ulcerativas em região de focinho foram observadas em 4/6 (66,6%) animais do grupo I (animais infectados não tratados) sendo a mais prevalente e apenas 1/6 (16,6%) animal apresentou lesão em ponta de orelha. Quanto aos animais do grupo II (animais tratados com Alopurinol) 2/6 (33,3%) apresentaram lesão ulcerativa em focinho após o tratamento e apenas 1 (16,6%) animal apresentou lesão em orelha. Nos grupos III e IV as lesões em orelha foram mais prevalentes 2/6 (33,33%), sendo vistas mesmo ao final dos tratamentos (Gráfico 1).

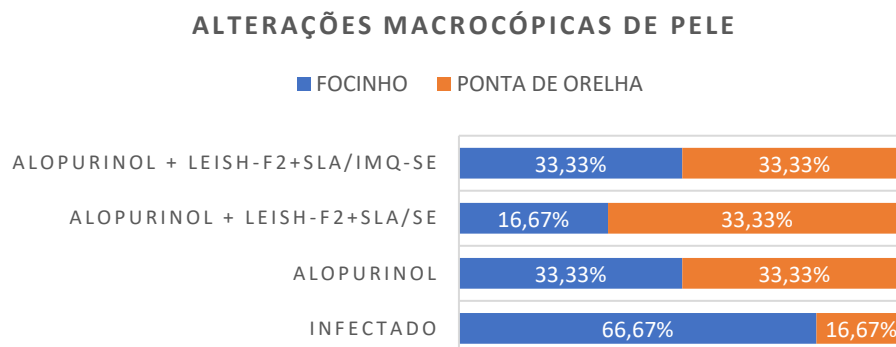


Gráfico 1 – Prevalência das alterações macroscópicas de pele por grupo.

Após análise histopatológica, observou-se que a dermatite crônica foi a alteração mais frequente entre todos os animais avaliados (grupos de animais não tratados e animais tratados), sendo que apenas 6 animais dos 24 cães apresentavam lesão macroscópica em região de orelha. A reação inflamatória foi caracterizada por infiltrado celular no interstício composto principalmente por macrófagos, plasmócitos, linfócitos e células gigante multinucleada, (figura 1) que variava de discreta a intensa. Em geral, foi difuso na derme superficial e focal ao redor de vasos, glândulas e folículos pilosos na derme profunda (figura 2).

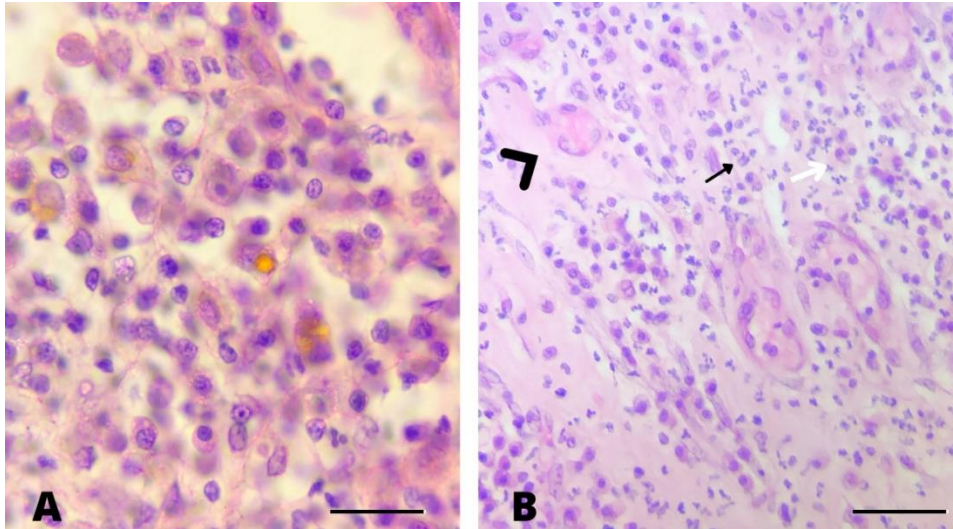


Figura 1 – A: Processo inflamatório linfohistioplasmocitário. HE 80µm. **B:** Processo inflamatório com presença de neutrófilos (seta preta) plasmócitos (seta branca) e células gigante multinucleada (cabeça de seta). HE 80µm.

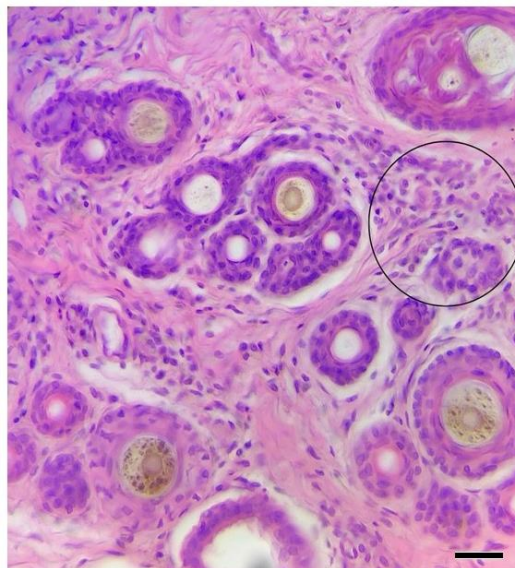


Figura 2 – Corte histológico da pele de orelha de um cão naturalmente infectado por *Leishmania infantum* não tratados. Observar processo inflamatório linfohistioplasmocitário moderado perianexial. HE 50µm.

Com frequência observou-se macrófagos epitelióides, sem parasitos, no infiltrado celular. Com exceção de um animal do grupo 2, em que foi visualizado forma amastigota de *Leishmania infantum* ao final de um folículo piloso (figura 3A).

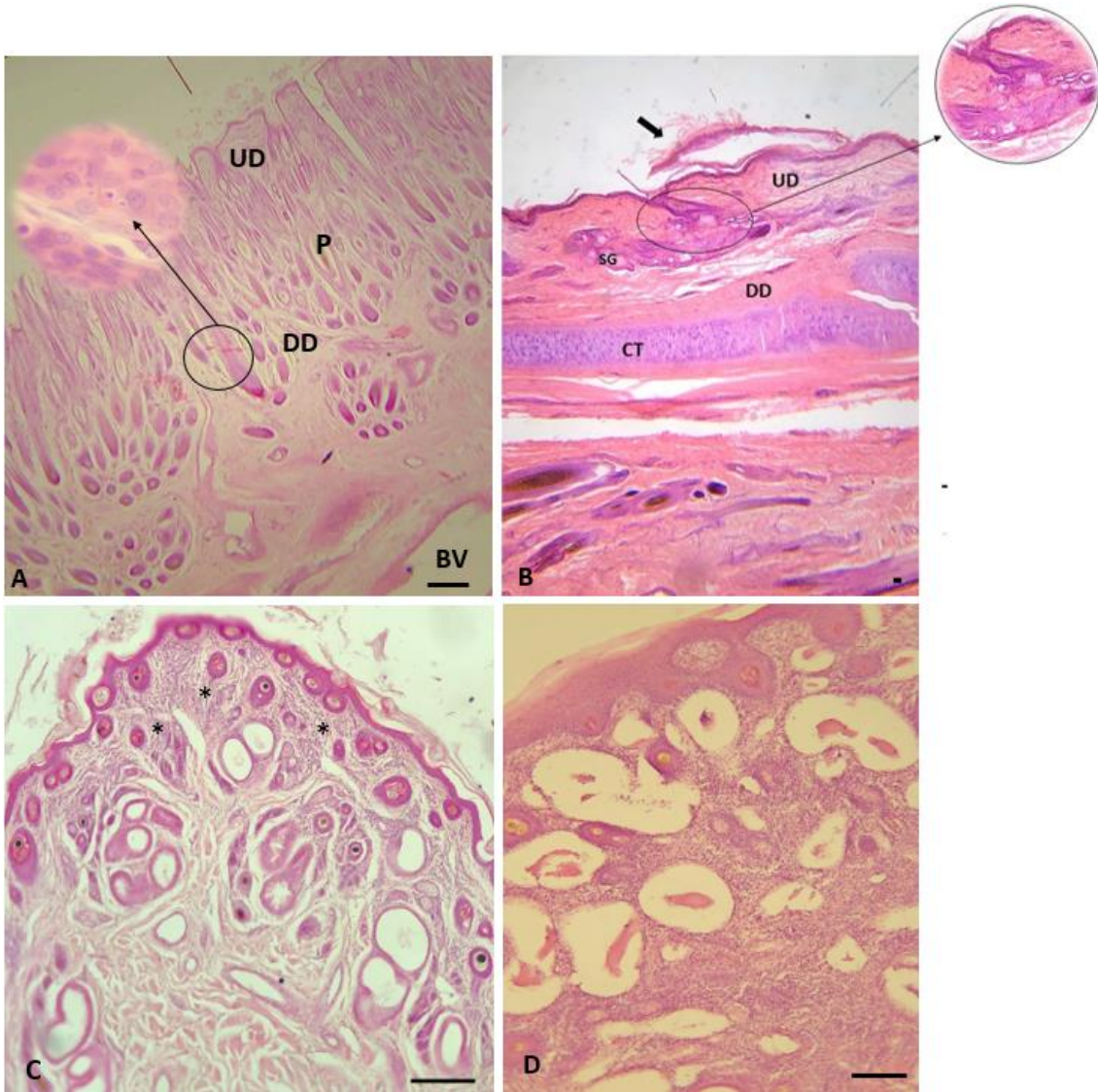


Figura 3 – A- G2 Corte histológico da pele de orelha de um cão naturalmente infectado por *Leishmania infantum* e tratado com Alopurinol. Observar reação inflamatória difusa em derme superficial (UD) e focal discreta perifolicular, com presença de forma amastigota (seta) ao final do folículo. DD significa derme profunda, P significa Pelo, BV significa vaso sanguíneo. HE. 500 μ m. **B- G1** Observar reação inflamatória difusa em derme superficial (UD) e focal moderada ao redor de glândula sebácea (SG), com presença de hiperqueratose paraqueratótica (seta). DD significa derme profunda, CT significa tecido cartilaginoso. HE 500 μ m. **C- G3** Corte histológico da pele de orelha de cão tratado com Leish –F2 SLA –SE. Notar processo inflamatório difuso ao redor dos anexos. (asteriscos) HE. 50 μ m. **D- G4** Corte histológico da pele de orelha de cão tratado com Leish –F2 SLA –IMQ. Presença de proliferação benigna de vasos sanguíneos caracterizada como Hemangioma. HE/50 μ m.

O grupo I além das alterações inflamatórias apresentou alterações morfológicas como: hiperqueratose paraqueratótica 1/6 (16,6%) (figura 3B), papilomatose 1/6 (16,6%), hiperplasia epidérmica 1/6 (16,6%) e espongiase 3/6 (50%) em células epidérmicas basais e folículo piloso. Já o grupo II teve predomínio de espongiase 4/6 (66,6%) em células epidérmicas basais e folículo piloso, seguido de hiperplasia de epiderme 3/6 (50%), no grupo três metade dos

animais também apresentaram hiperplasia de epiderme 3/6 (50%), e no grupo IV metade dos animais 3/6 (50%) apresentarão quadros de espongiose (figura 2). Assim todos os animais apresentaram processos inflamatório, variando apenas a intensidade e cada animal apresentou mais de uma alteração.

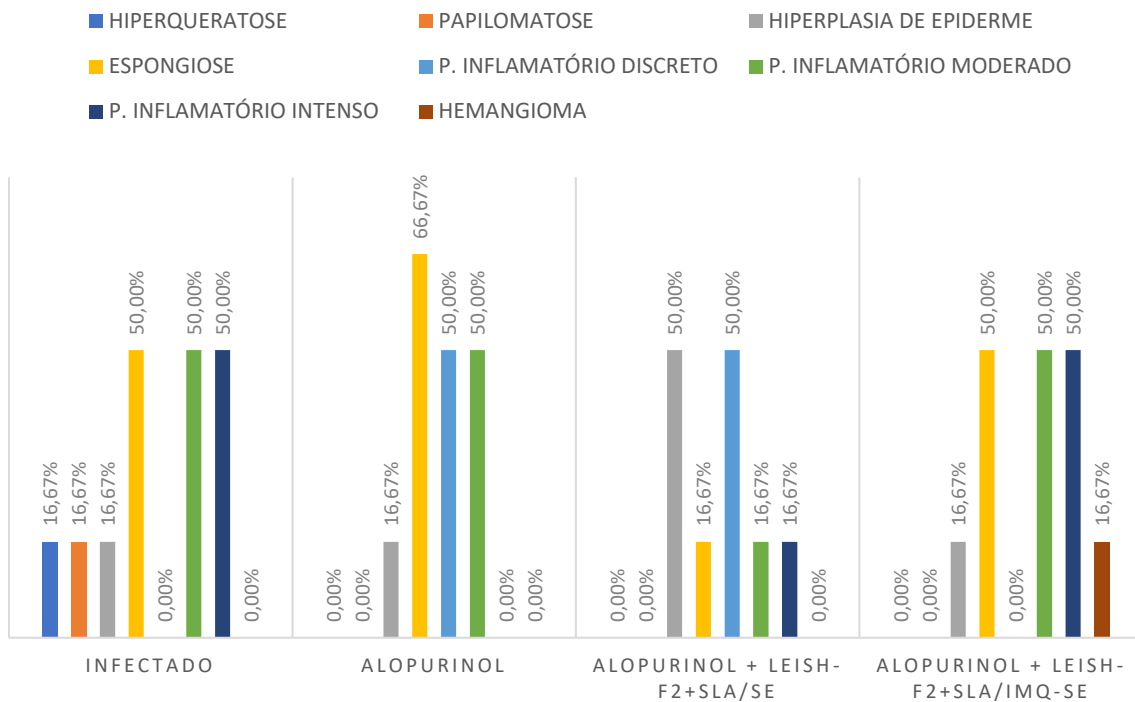


Gráfico 2 – Alterações histopatológicas inflamatória e não inflamatória presentes na pele da orelha de cães infectados naturalmente com *Leishmania Infantum*, submetidos a protocolo de tratamento.

DISCUSSÃO

A pele é considerada a porta de entrada e o maior reservatório de parasitas, tanto em cães infectados sadios como em animais doentes (SOLANO-GALLEGO et al., 2001; SOLANO-GALLEGO et al., 2004). Segundo Solano - Gallego, 2004 entre as alterações macroscópicas de pele mais prevalentes, estão lesões ulcerativas e dermatite esfoliativa, o que corrobora com o presente estudo, onde as lesões ulcerativas em região de focinho foram predominantes em ambos os grupos. Esse estudo objetivou analisar as alterações histopatológicas da pele de orelha de cães naturalmente infectados por *leishmania infantum*, por ser considerado um dos principais alvos de infecção (TRAVI et. al., 2001; Xavier et. al., 2006), embora as regiões coletadas não apresentassem sintomatologia clínica evidente, Xavier et. al., 2008 e Solano – Galeno et. al.,

2001, demonstram a presença de alterações microscópicas e parasitismo tecidual em animais assintomáticos, reforçando a importância desses animais no ciclo de transmissão.

O padrão inflamatório do tipo crônico com predomínio de macrófagos/ histiócitos, plasmócitos e linfócitos relatado nesse estudo, foi o mesmo encontrado por outros autores (FIGUEIREDO, 2009; González et al. 2018; Sandoval et al.2021). A presença desse tipo de reação inflamatória pode estar ligada a presença ou destruição do parasita, mesmo com ausência de lesão macroscópica aparente (ESTERRE et al. 1991; SANTOS et al. 2004). Alguns pesquisadores relatam que a formação de um granuloma está diretamente ligada pela indução do microrganismo e corresponde a vários núcleos de macrófagos fusionados, parasitados e rodeado por células mononucleares (MURRAY, 2011), porém no presente estudo não foi observado presença de parasita em células gigantes multinucleadas. A região onde o infiltrado encontrava-se de forma moderada a intensa foi ao redor de glândulas e folículo piloso, o que corrobora com o descrito na literatura (QUEIROZ et al. 2011; CAMARGOS, 2015)

O Alopurinol é um fármaco com ação leishmaniostática utilizado no tratamento da LV em cães (AMUSATEGUI, 1998; RIBEIRO, 2007), ele interrompe a síntese proteica do parasito, resultando na inibição da sua multiplicação e na morte (Jericó et al., 2015). Nascimento em sua tese analisou por PCR a carga parasitária da medula óssea e da pele dos animais infectados naturalmente por *Leishmania infantum* e tratados com allopurinol em monoterapia e observou-se que com o fim do tratamento até os 360 dias, a carga parasitária desses animais voltou a subir (NASCIMENTO, 2019), isso justifica o processo inflamatório crônico encontrado na pele da orelha desses animais, bem como a visualização de forma amastigota de *Leishmania infantum*, uma vez que o alopurinol inibe a multiplicação do parasito, estando susceptível ao aumento da carga parasitária com a descontinuidade do tratamento (DENEROLLE; BOURDOISEAU,1999; CAVALIERO et al., 1999).

Os imunoquioterápicos são utilizados com o intuito de promover uma resposta imune mais efetiva (AKBARI *et al.*, 2021), e segundo estudos feitos por NASCIMENTO, 2019, são eficientes quando se fala em redução de carga parasitária e sintomatologia clínica, porém nesse estudo viu-se que os animais mesmo tratados com imunoquimioterápicos podem voltar desenvolver processos inflamatórios crônicos, o que poderia sugerir um grau de reinfecção desses animais.

A alteração não inflamatória mais vista nesse estudo foi a espongiose, seguido por hiperplasia epidérmica. A espongiose é caracterizada pelo edema intercelular e pode estar correlacionada com o prurido gerado pela picada de inseto e consequente processo inflamatório gerado na região, dessa forma com a injúria causada pelo processo mecânico do prurido, aliado ao

processo inflamatório desencadeado, o aumento da camada epidérmica pode acontecer (BARROS, 2011; CONCEIÇÃO et al., 2016; VASCONCELOS et al, 2017).

CONCLUSÃO

A partir da análise histopatológica pôde-se notar que os animais não tratados apresentaram graus de inflamação mais intenso, bem como alterações não inflamatórias não vista em animais que receberam algum tipo de tratamento. Outrossim, os animais dos grupos II, III, IV mesmo realizando tratamentos, continuaram a desenvolver processos inflamatórios, mesmo não apresentando sintomatologia clínica.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), agradecemos também a Universidade Federal do Piauí por fornecer suporte técnico a esta pesquisa, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI), Centro de Pesquisa em Células Tronco (NUPCelt) e Laboratório de Morfologia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

AKBARI, M. *et al.* **Immunotherapy in treatment of leishmaniasis.** Immunology Letters, v. 233, p. 80–86, 2021.

AMUSATEGUI, I. **Tratamiento de la leishmaniosis canina: valoracion, caracterizacion y comparacion de la respuesta a distintos protocolos a base de antimoniato de meglumine (27iferente o no a alopurinol).** Tese (Doutorado em patologia animal) Universidad Complutense de Madrid. p.328. 1998.

BARROS MP, INNOCENTE AM, SILVA GNS, DUARTE M, VUNDA SLL, TASCA T. Mecanismos específicos de patogenicidade de protozoários intracelulares: Trypanosoma cruzi, 59 Leishmania spp., Toxoplasma gondii e Plasmodium spp. **Revista Liberato** ;13(20): 1-20, 2012.

BELKAID, Y., TAMOUTOUNOUR, S. The influence of skin microorganisms on cutaneous 235 immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, p. 353-366, 2016.

- CAVALIERO, T.; ARNOLD. P.; MATHIS. A.; GLAUS. T.; HOFMANN-LEHAMANN. R.; DEPLAZES. P. Clinical, Serologic and Parasitologic Follow Up after Long-Term Allopurinol Therapy of Dogs Naturally infected with *Leishmania infantum*. **J Vet Intern Med.** P. 330-334. 1999.
- CONCEIÇÃO L.G.; Biópsia tegumentar. In: LARSSON C, E.; LUCAS R **Tratado de Medicina Externa Dermatologia Veterinária** . São Paulo, Interbook, p143-149, 2016.
- DEANE, L. M.; DEANE, M. P.; ALENCAR, J. E. Different Phlebotomus longipalpis by DDT house spraying endemic foci of kala-azar in Ceará. **Na. Bras Malariol Doenças Trop**, v.7, n.1, p.131-41, Jan. 1955.
- DENEROLLE, P. AND G. BOURDOISEAU, Combination allopurinol and antimony treatment versus antimony alone and allopurinol alone in the treatment of canine leishmaniasis (96 cases). **J Vet Intern Med**, 13(5): p. 413-5, 1999.
- ESTERRE P., DEDET J.P., GUERRET S., CHEVALLIER M., FRENAY C. & GRIMAUD J.A.. Matrix remodelling and fibroblast phenotype in early lesions of human cutaneous leishmaniasis. **Pathol. Res. Pract.** P.924-930, 1991.
- FIGUEREDO, L. A., PAIVA-CAVALCANTI, M., ALMEIDA, E. L., BRANDÃO-FILHO, S. P., DANTAS-TORRES, F. Clinical and hematological findings in *Leishmania braziliensis*-infected dogs from Pernambuco, **Brazil. Na. Bras. Parasitol.**, v. 21, n. 4, p. 418-420, 2012.
- FIGUEIREDO, M.M. **análise histológica, parasitológica e morfométrica da pele de orelha de cães naturalmente e experimentalmente infectados com leishmania (leishmania) chagasi**. Dissertação (Mestrado em patologia geral) Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, p.101. 2009.
- FONSECA, C. M. B., SILVA, A. B. S., DE OLIVEIRA, I. M., DE S. CAVALCANTE, M. M. A., VIANA, F. J. C., DOS S. RIZZO, M., & CONDE-JÚNIOR, A. M. Comparative histology aspects of the gingiva of children and adults in the University Dental Clinics. **Journal of Pharmacy**, 7(7), 47–52. 2017.
- GONZALEZ, K., DIAZ, R., FERREIRA, A. F., GARCIA, V., PAZ, H., CALZADA, J. E. RUIZ, M., LAURENTI, M., SALDAÑA, A. características histopatológicas de lesões cutâneas causadas por *Leishmania Viannia panamensis* no Panamá. **Na Inst Med Trop**, São Paulo.60: e8, 2018.
- GUARGA J.L.; LUCIENTES, J.; PERIBÁÑEZ, M.A.; MOLINA, R.; GRACIA, M.J.; CASTILLO, J.A. Experimental infection of *Phlebotomus perniciosus* and determination of the natural infection rates of *Leishmania* in dogs. **Acta Tropica**, 77: 203-207, 2000.

KEMP, K.; HVIID, L.; KHARAZMI, A.; KEMP, M. Interferon-gamma production by human T cells and natural killer cells in vitro in response to antigens from the two 29iferente29o29 pathogens *Mycobacterium tuberculosis* and *Leishmania major*. **Scand J Immunol**, v.46, n.5, Nov, p.495-9, 1997.

LAURENTI, M. D. et al. Asymptomatic dogs are highly 29iferente29 to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum* chagasi to the natural vector. **Veterinary Parasitology**, v. 196, n. 3–4, p. 296–300, set. 2013.

MARZOCHI, M.C.A.; COUTINHO, S.G.; SOUZA, W.J.S.; TOLEDO, L.M.; GRIMALDI, J.R.; MOMEN, H.; PACHECO, R.S.; SABROZA, P.C.; SOUZA, M.A.;RANGEL, J.R., TRAMONTANO, N. Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro. Brazil. Clinical, Parasitological, therapeutical and Epidemiological findings (1977-1983). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** Rio J., v.80, p.349-357, 1985

MOURA, E.P.R.; SAMPAIO, R.R.; LIMA, W. M; ALVES, W. G.; MELO, C. F.; MELO, M. N.; TAFURI, W. L.; MICHALICK, M. S. M. Histopathological and parasitological analysis of skin tissues biopsies from two distinct anatomical áreas of the ears of dogs. **Brasilian J Vet Pathol**, v.1, p.10-15, 2008.

NASCIMENTO, L.F. M., **Imunoquimioterapia na leishmaniose visceral canina**. Tese (Doutorado em ciência animal) Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, 89. 2019.

NASCIMENTO, L.F.M., MIRANDA, D., MOURA, L., PINHO, F., WERNECK, G., KHOURI, R., REED, S., DUTHIE, M., BARRAL, A., CRUZ, M. Allopurinol therapy provides long term clinical improvement, but additional immunotherapy is required for sustained parasite clearance, in *L. infantum*-infected dog. **Vaccine: X**, 4, 1–7. 2020

NESTLE, F.O., MEGLIO P.D., QIN, J-Z., NICKOLOFF B.J. Skin 29ifer sentinels in health 291 and disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 9, n. 10, p. 679691. 2009

NOLI. C.; AUXILIA. S. T. Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. **Veterinary Dermatology**. N. 16. P. 213 – 232, 2005.

PAHO / WHO. Pan American Health Organization: Leishmaniasis: Epidemiological Report in the Americas: Washington: **Pan American Health Organization**; 2020.

QUEIROZ N.M.G.P., SILVEIRA R.C.V., NORONHA JR. A.C.F., OLIVEIRA T.M.F.S., MACHADO R.Z. & STARKE-BUZETTI W.A. Detection of *Leishmania (L.) chagasi* in canine skin. **Veterinary Parasitology** 178:1-8, 2011.

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

- SANTOS W.L.C. DOS, BADARÓ J.D.R. & DE-FREITAS L.A.R.. Association between skin 30iferente30o and a granulomatous inflammatory pattern in canine visceral leishmaniosis. **Parasitol. Res.** 92:89-94, 2004.
- SANDOVAL, C., ARAUJO, G., SOSA, W., AVALOS, S., SILVEIRA, F., CORBETT, C., ZÚNIGA, C., LAURENTI, M. et al. Resposta imune celular in situ em lesões cutâneas não ulceradas por infecção por *Leishmania (L.) infantum* chagasi. **J Venom Anim Toxins incl Trop Dis**, 27, 2021
- SOLANO-GALLEGO, L.; MORELL, P.; ARBOIX, M.; ALBEROLA, J.; FERRER, L. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in na 30ife of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. **J Clin Microbiol**, v.39, n.2, p.560-3, 2001.
- SOLANO-GALLEGO, L.; FERNANDEZ-BELLON, H.; MORELL, P.; FONDEVILA, D.; ALBEROLA, J.; RAMIS, A.; FERRER, L. Histological and immunohistochemical study of clinically normal skin of *Leishmania infantum*infected dogs. **J Comp Pathol**, v.130, n.1, p.7-12, 2004.
- TORRES-GUERRERO, E.; QUINTANILLA-CEDILLO, M.R.; RUIZ-ESMENJAUD, J.; ARENAS, R. **Leishmaniasis: a review**. F1000Research, v. 6, 2017.
- TRAVI, B.L.; TABARES, C.J.; CADENA, H.; FERRO, C.; OSORIO, Y. Canine visceral leishmaniasis in Colombia: relationship between clinical and parasitologic status and infectivity for sand flies. **Am J Trop Med Hyg**, v.64, p.119-124, 2001.
- TRAVI, B. L. Ethical and epidemiological 30iferen in the treatment of dogs for visceral leishmaniasis in Latin America. **Biomédica : revista del Instituto Nacional de Salud**, v. 34, n. 1, p. 7–12, 2014.
- VASCONCELOS, J. S., NETO, T. S. O., NASCIMENTO, H. H. L., BARBOSA, F. M. S., REZENDE, F. Y. S., OLIVEIRA, L. G. O., LUCENA, R. B., DANTAS, A. F. M. Caracterização clínica e histopatológica das dermatites alérgicas em cães. **Pesq. Vet. Bras.** 37(3) :248-256, 2017.
- XAVIER, SC., DE ANDRADE, HM., MONTE, SJ., CHIARELLI, IM., LIMA, WG., MICHALICK, MS., TAFURI, WL.,; TAFURI, WL Comparação de biópsias de pele embebidas em parafina de diferentes regiões anatômicas como métodos de amostragem para detecção de infecção por *Leishmania* em cães por métodos histológicos, imuno-histoquímicos e PCR. **Veterinário BMC. Res.**, 2-17, 2008.

CAPITULO III

Histopatologia renal de cães infectados naturalmente com *Leishmania infantum* e submetidos a protocolo de tratamento

*Renal histopathology of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* and submitted to a treatment protocol*

Ingrid dos Santos Farias^{1,*}, Clarisse Maria Barbosa Fonseca², João Victor Silva Araújo², Luana Dias de Moura², Leopoldo Fabrício Marçal do Nascimento³, Jonatas Paulino da Cunha Monteiro Ribeiro⁴, Airton Mendes Conde Júnior⁵, Maria do Socorro Pires e Cruz⁶

^aDiscente de mestrado do Programa de Pós Graduação em Tecnologias Aplicadas a animais de Interesse Regional, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, CEP: 64059-550, Teresina, Piauí, Brasil

^bDiscente de doutorado do Programa de Pós Graduação em Tecnologias Aplicadas a animais de Interesse Regional, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, CEP: 64059-550, Teresina, Piauí, Brasil

^cCentro Universitário Santo Augustinho, Teresina, Piauí, Brasil

^dDiscente do curso de graduação em Medicina, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, CEP: 64059-550, Teresina, Piauí, Brasil

^eDepartamento de Morfologia, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, CEP: 64059-550, Teresina, Piauí, Brasil

^fDepartamento de Morfofisiologia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, CEP: 64059-550, Teresina, Piauí, Brasil

*ingridosantofarias@gmail.com

RESUMO

O presente trabalho objetivou analisar e comparar histologicamente o rim de cães infectados naturalmente por *Leishmania infantum* no qual foram divididos em 4 grupos de 6 animais cada, onde o grupo 1 não foi tratado, o grupo 2 foi tratado com alopurinol via oral em monoterapia, o grupo 3 foram imunizados por injeções subcutâneas com a formulação Leish-F2 + SLA-SE, 6 doses, mais o alopurinol na dose de 20 mg/kg, 1x ao dia, durante 90 dias e o grupo 4 que foram imunizados por injeções subcutâneas com a formulação Leish-F2 + SLA-IMQ-SE, 6 doses, mais o alopurinol na dose de 20 mg/kg, 1x ao dia, durante 90 dias. Após a eutanásia, aos 360 dias, foi feita a coleta do rim para a análise histopatológica. Após análise histopatológica, observou-se que a Glomerulonefrite Membranoproliferativa foi a alteração glomerular mais frequente, seguida por Nefrite tubulointersticial, no qual esses processos inflamatórios se caracterizavam por um infiltrado inflamatório do tipo linfoplasmocitário em região do interstício e túbulos. Concluindo dessa forma que a Leishmaniose leva ao quadro de doença renal crônica e mesmo após a redução da carga parasitária com os tratamentos propostos, as lesões renais perduraram.

Palavras-chave: alterações estruturais, doença renal, leishmaniose, alopurinol, vacinas

SUMMARY

The present study aimed to histologically analyze and compare the kidneys of dogs naturally infected by *Leishmania infantum* in which they were divided into 4 groups of 6 animals each, where group 1 was not treated, group 2 was treated with oral allopurinol in monotherapy, the group 3 were immunized by subcutaneous injections with the formulation Leish-F2 + SLA-SE, 6 doses, plus allopurinol at a dose of 20

mg/kg, 1x a day, for 90 days and group 4 who were immunized by subcutaneous injections with the Leish-F2 + SLA-IMQ-SE formulation, 6 doses, plus allopurinol at a dose of 20 mg/kg, 1x a day, for 90 days. After euthanasia, at 360 days, the kidney was collected for histopathological analysis. After histopathological analysis, it was observed that Membranoproliferative Glomerulonephritis was the most frequent glomerular alteration, followed by Tubulointerstitial Nephritis, in which these inflammatory processes were characterized by an inflammatory infiltrate of the lymphoplasmocytic type in the interstitium and tubules. Concluding in this way that Leishmaniasis leads to chronic kidney disease and even after reducing the parasitic load with the proposed treatments, the kidney lesions persisted.

Keywords: structural changes, kidney disease, leishmaniasis, allopurinol, vaccines

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma zoonose causada por protozoários do gênero *Leishmania*, afetando principalmente canídeos silvestres e domésticos (OPAS/OMS, 2020). Suas formas clínicas são variáveis, dependendo da resposta imune do hospedeiro e da cepa do parasita, caracterizando-se frequentemente pelo desenvolvimento de lesões na pele de animais infectados com acometimento visceral nas formas graves da doença (SILVA, 2007). O acometimento renal é a principal causa de morte de cães com LV, onde as manifestações neste órgão podem variar desde de uma síndrome nefrótica com leve proteinúria, até uma total parada renal (TORRES et al., 2017). Sendo imprescindível a avaliação da função renal como forma de diagnóstico precoce, permitindo prolongamento da vida de cães em regiões endêmicas (CÂMARA, 2017). Os rins são um dos principais órgãos que mais sofrem com a deposição de imunocomplexos, dessa forma, os mecanismos de lesão relacionados à resposta inflamatória de caráter crônico são determinantes na evidenciação de sintomatologia clínica da doença renal (SOLANO-GALEGO et al., 2011). A alta produção de anticorpos facilita a formação de complexos antígeno-anticorpo que invadem a circulação sistêmica e se depositam na microvasculatura de vários tecidos e órgãos, dando origem aos processos inflamatórios descritos na Leishmaniose, como vasculite em extremidades corporais e pele, poliartrite e glomerulonefrite (KOUTINAS E KOUTINAS, 2014). A deposição de imunocomplexos e posterior espessamento da membrana basal glomerular resultam em perda de proteínas por meio da urina, o qual é uma consequência do desenvolvimento de glomerulonefrites (COSTA et al., 2003; PLEVRAKI et al., 2006). Desencadeando uma filtração glomerular deficiente e, no decorrer do tempo, alguns glomérulos deixam de funcionar (AREZU et al., 2010).

O Alopurinol é uma droga leishmanioestática, e se mostra como um bom aliado no tratamento da leishmaniose canina, uma vez que é de fácil acesso, baixo custo e geralmente resulta em remissão progressiva dos sinais clínicos e baixa na carga parasitária (RIBEIRO, 2018). No cão, efeitos adversos como xantínúria e formação de urólitos são incomuns (BANETH, 2002) e estudos demonstram que animais tratados com Alopurinol, mesmo apresentando já um quadro de proteinúria, não sofrem piora e muitas vezes até regularizam a função renal (KOUTINAS 2001; PLEVRAKI et al., 2006).

O tratamento com Alopurinol também tem sido utilizado de combinada (KOUTINAS 2001). A imunoterapia se concentra na indução de resposta imune efetiva para controlar rapidamente a doença (AKBARI *et al.*, 2021). Nascimento et al. (2020) demonstrou a eficácia no uso associado de vacinas de segunda geração com adjuvantes e alopurinol, apresentando melhora clínica mesmo após a conclusão do tratamento. Diante da importância clínica da Leishmaniose e os avanços no tratamento, propõe-se analisar e comparar histologicamente o rim de cães infectados naturalmente por *Leishmania infantum* e tratados com Alopurinol e imunoterapia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ética:

Esta pesquisa seguiu os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de experimentação animal, foi aprovado e registrado no Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade Federal do Piauí com protocolo nº 093/15.

População de estudo:

A pesquisa foi realizada inicialmente no Canil de experimentação animal do Centro de Ciências Agrárias, e foi dada continuidade no Laboratório de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Piauí. Foram utilizados 24 animais naturalmente infectados por *leishmania infantum* e obtidos através da Gerência de Zoonoses, da Fundação Municipal de Saúde. Os canídeos eram adultos, machos e fêmeas, com idades desconhecidas, com ou sem raça definida e peso variável. Os animais incluídos na pesquisa, foram cães submetidos a testes parasitológico, com aspirados de linfonodo, pele e/ou medula óssea, com resultado positivo. Foram desprezados animais soro-reagentes diagnosticados por testes sorológicos rápido para Ehrlichia canis (Alere Erliquiose Ac test KIT®) e cinomose canina (Alere Cinomose Ag test

kit ®, São Paulo, Brasil). Não tendo outras patologias ou nenhuma adversidade que impeça a forma oral de tratamento e coleta de amostra, os animais foram microchipados (AnimallTag) para identificação, além de receberem vermifugação (Dauverm Plus, Vansil®) e vacina contra outras viroses de rotina (Vanguard HTLP 5/CV-L; Pfizer Animal Health, New York, USA) (Nascimento et al., 2020).

Grupos experimentais:

Os 24 cães selecionados foram divididos em 4 grupos experimentais. Grupo I: composto de 6 cães que não receberam medicação; Grupo II: composto de 6 cães que receberam o Alopurinol em monoterapia por via oral na dose 20 mg/Kg, 1x ao dia, durante 90 dias; Grupo III: composto de 6 cães que foram imunizados por injeções subcutâneas com a formulação Leish-F2 + SLA-SE (20 µg cada), 6 doses, com intervalo de 3 semanas mais o Alopurinol na dose de 20 mg/kg, 1x ao dia, durante 90 dias e o Grupo IV: composto de 6 cães que foram imunizados por injeções subcutâneas com a formulação Leish-F2 + SLA-IMQ-SE (20 µg cada), 6 doses, com intervalo de 3 semanas mais o alopurinol na dose de 20 mg/kg, 1x ao dia, durante 90 dias. (Nascimento et al., 2020).

Avaliação clínica dos animais:

Os animais foram avaliados clinicamente por 3 médicos veterinários, considerando sinais sistêmicos, alterações cutâneas e oculares atribuíveis a Infecção por Leishmania (Nascimento et al., 2020). As avaliações foram feitas nos dias zero, 63, 180 e 360.

Coleta de amostra:

Os animais foram acompanhados clinicamente por 360 dias e ao final do período de monitoramento, todos os cães foram sedados por injeção intravenosa de cloridrato de xilazina (1 mg / kg) (Xilazin®, Syntec, Brasil) e cloridrato de cetamina (10 mg / kg) (Cetamin®, Syntec, Brasil) e, após 10 min, o anestésico geral tiopental de sódio 2,5% foi administrado por via intravenosa na dose de 0,5 mL / kg. Ao atingir o plano anestésico adequado, foi administrado o T-61® (Hoechst Roussel Vet), e a morte foi confirmada pela ausência de batimento cardíaco e frequência respiratória (Nascimento et al., 2020) Então, realizou-se uma incisão no terço superior da orelha, coletando uma parte do tecido hígido e outro da lesão, caso houvesse. Outrossim foram colhidos fragmentos do rim de cada animal. As amostras foram imersas em solução tamponada de formaldeído a 10% para fixação, pH 7,6, em um volume quarenta vezes maior que o volume das amostras, por 48 h.

Histopatologia:

Após a fixação, as amostras biológicas foram encaminhadas ao Laboratório de Pesquisa em Ciências Morfológicas, pertencente ao Departamento de Morfologia-UFPI, e submetidas a processamento histológico, obtendo seções de 5 µm de espessura e coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) (Fonseca et al., 2017). As análises dos cortes histológicos foram realizadas sob microscópio óptico para avaliação das alterações apresentadas.

Análise estatística:

Os dados foram analisados descritivamente e as alterações clínicas expressas em (porcentagem/média)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As alterações renais podem ser divididas em glomerulares e tubulointersticiais. Quando se trata de alterações glomerulares, no estudo realizado foi visto que o grupo I, no qual não recebeu nenhum tratamento, apresentou predominância de diminuição de tamanho dos glomérulos com hialinização, correspondendo assim ao diagnóstico de glomeruloesclerose (5/6 – 83%). A Glomeruloesclerose é vista como o estágio final da glomerulonefrite e caracteriza um quadro de doença renal crônica pela consistente deposição de imunocomplexos nos animais positivos para Leishmaniose (GRAUER, 2005). Cianciolo et al., (2016), encontraram a glomeruloesclerose como lesão predominante em biopsia renal de cães infectados com *Leishmania* spp. corroborando com o presente estudo.

Mas quando se fala de lesões mais prevalentes levando em consideração os grupos de animais não tratados e tratados, a hiper celularidade nos glomérulos junto com o espessamento da cápsula de Bowman foi a lesão mais vista, equivalendo assim ao diagnóstico de Glomerulonefrite Membranoproliferativa. No qual o grupo IV (4/6 – 66%) (tabela 1) apresentou o maior número de animais com esse tipo de lesão glomerular. Outros autores também encontraram esse tipo de alteração em maior número (BRAGA et al., 2015; CIANCIOLO et al., 2016). CIANCIOLO et al., 2016, viu que a Glomerulonefrite Membranoproliferativa está associada a deposição de imunocomplexo em cães.

E quanto aos processos presentes em região túbulo intersticial, notou-se que 16 dos 24 animais apresentaram processo inflamatório do tipo linfoplasmocitário, sendo o Grupo I compoendo 100% dos animais com essa lesão. Outras lesões encontradas em menor número foram necrose epitelial, cilindros hialinos, hialinose arteriolar e depósito de hemossiderina.

Em geral os animais dos 4 grupos (não tratados e tratados) apresentaram algum tipo de lesão renal, alguns apresentaram mais de um tipo de alteração, tanto glomerular, quanto tubulointersticial.

É sabido que os rins são órgãos alvos na Leishmaniose canina quando se trata da deposição de imunocomplexos (SOLANO-GALEGO et al., 2011). A persistência das lesões nos grupos tratados pode sugerir uma cronicidade da infecção no órgão, embora ao final do experimento a carga parasitária tenha se apresentado reduzida (NASCIMENTO, 2020). O uso de adjuvantes, que possuem a capacidade de estimular receptores TRL4 e TRL7, que induzem uma ativação do sistema imune, aumentando assim a produção de citocinas pró inflamatória, podem ter desencadeado uma resposta excessiva e conseqüente maior deposição de imunocomplexos nos rins dos animais tratados, justificando assim a persistência e piora das lesões encontradas. O tempo da infecção até o início do tratamento, e a gravidade do quadro clínico desses animais são fatores que também podem influenciar na permanência dos danos e na funcionalidade dos órgãos. Logo, a apresentação de sinais clínicos ainda frequentes no Grupo IV pode estar relacionado a tais fatores.

Tabela 1: Diagnósticos histopatológicos mais prevalentes

Diagnósticos histopatológicos	Grupo I N (%)	Grupo II N (%)	Grupo III N (%)	Grupo IV N (%)
GN Membranoproliferativa	3/6 (50%)	3/6 (50%)	2/6 (33%)	4/6 (66%)
Glomeruloesclerose	5/6 (83%)	1/6 (16%)	2/6 (33%)	3/6 (66%)
GN Proliferativa	1/6 (16%)	3/6 (50%)	4/6 (66%)	0
GN Membranosa	0	0	0	2/6 (33%)
Amiloidose	0	2/6 (33%)	0	2/6 (33%)
Nefrite Tubulointersticial	6/6 (100%)	4/6 (66%)	2/6 (33%)	4/6 (66%)

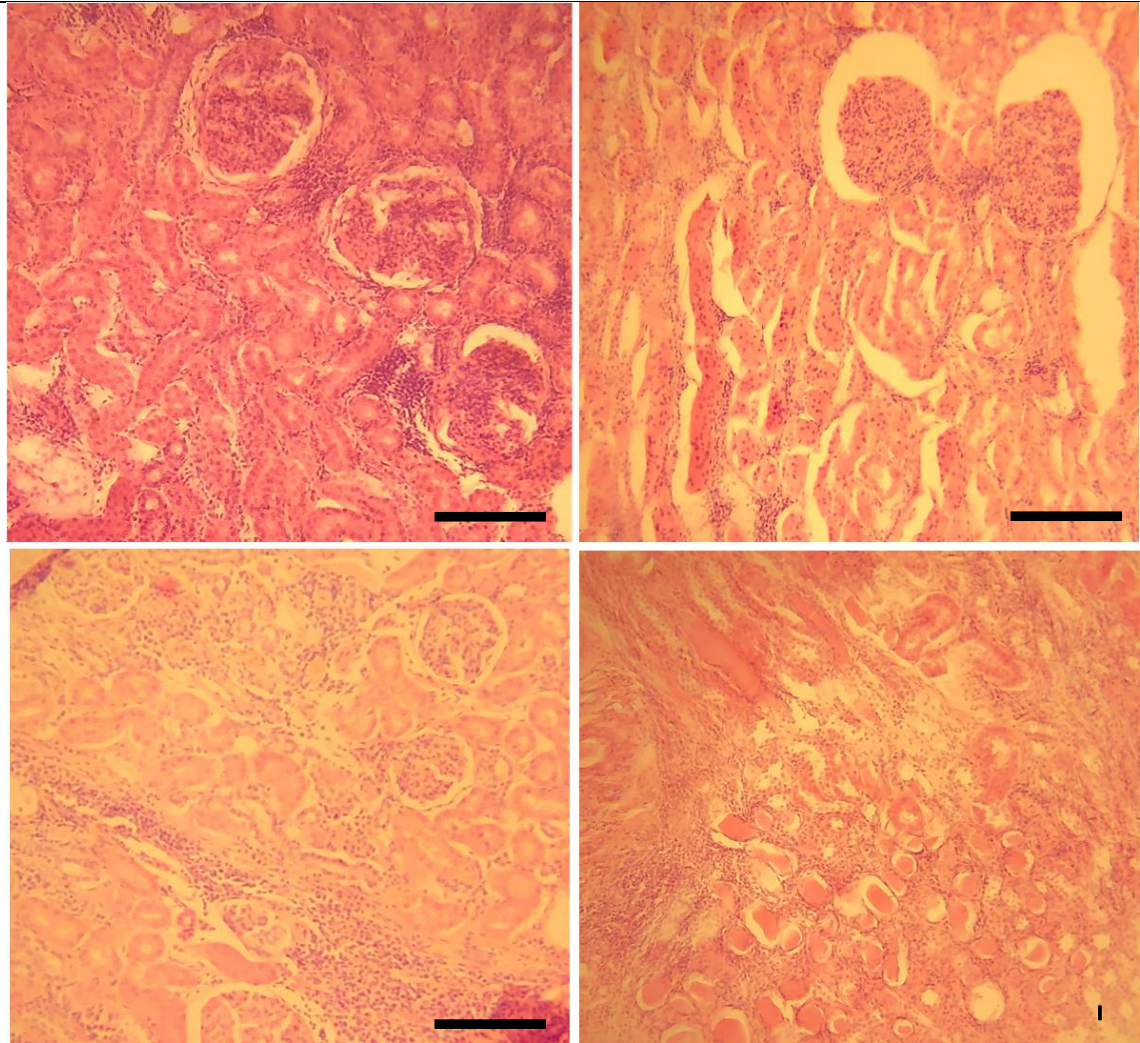


Figura 1 – A- G1 Observar nefrite intersticial e gloméruloesclerose. HE. 50 μ m. **B- G2** Observar glomerulonefrite membranoproliferativa e discreta nefrite intersticial. HE 500 μ m. **C- G3** Notar glomerulonefrite proliferativa e moderada nefrite intersticial. HE. 50 μ m. **C- G4** Observar intensa nefrite intersticial e presença de cilindros hialianos. HE/50 μ m.

CONCLUSÃO

Concluindo dessa forma que a Leishmaniose leva ao quadro de doença renal crônica e mesmo após a redução da carga parasitária com os tratamentos propostos, as lesões renais perduraram.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), agradecemos também a Universidade Federal do Piauí por

fornecer suporte técnico a esta pesquisa, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI), Centro de Pesquisa em Células Tronco (NUPCelt) e Laboratório de Morfologia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKBARI, M. *et al.* Immunotherapy in treatment of leishmaniasis. *Immunology Letters*, v. 233, p. 80–86, 2021.
- ARESU, L., ZANATTA, R., LUCIANI, L., TREZ, D., CASTAGNARO, M. Severe Renal Failure in a Dog Resembling Human Focal Segmental Glomerulosclerosis. **J. Comp. Path.**, Vol. 143, 190-194, 2010.
- BANETH G, Shaw SE. Chemotherapy of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol.*, 106:315–324, 2002.
- BRAGA, E. T; LEITE, J. H. A. C; ROSA, F. A; TIVELLI, P; ARAÚJO, A. M; ALMEIDA, B. F. M; FERRARI, H. F; CIARLINI, P. C.; MACHADO, G. F; MARCONDES, M. Hypertension and its correlation with renal lesions in dogs with leishmaniosis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. v.24(1), pp.45-51, 2015.
- CÂMARA, C. S.; BALTAZAR, P. I.; GARCEZ, B. S. Alterações laboratoriais renais em cães com leishmaniose visceral naturalmente infectados. *Pubvet*, v. 11, n. 1, p. 35–39, jan. 2017.
- CIANCIOLO, R. E ; MOHR, F. C ; ARESU, L ; BROWN, C. A ; JAMES, C ; JANSEN, J. H ; SPANGLER, W. L ; VAN DER LUGT, J. J ; KASS, P. H ; BROVIDA, C ; COWGILL, L. D ; HEIENE, R ; POLZIN, D. J ; SYME, H ; VADEN, S. L ; VAN DONGEN, A. M ; LEES, G. E. World Small Animal Veterinary Association Renal Pathology Initiative: Classification of Glomerular Diseases in Dogs. **Veterinary Pathology**, v.53(1), pp.113-135, 2016.
- COSTA, F.A., GOTO, H., SALDANHA, L.C., SILVA, S.M., SINHORINI, I.L., SILVA, T.C., GUERRA, J.L. Histopathologic patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. **Vet. Pathol**, n. 40, p. 677-684, 2003.
- GRAUER, G. F. Canine glomerulonephritis: New thoughts on proteinuria and treatment. *Journal of Small Animal Practice*, v. 46, n. 10, p. 469–478, 2005.
- KOUTINAS AF, SARIDOMICHELAKIS MN, MYLONAKIS ME, et al. A randomised, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniosis. *Vet Parasitol.*, 98:247–261, 2001.
- KOUTINAS AF, KOUTINAS CK . Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to *Leishmania infantum/chagasi*. **Veterinary Pathology**; 51(2):527-538, 2014.

NASCIMENTO, L.F.M., MIRANDA, D., MOURA, L., PINHO, F., WERNECK, G., KHOURI, R., REED, S., DUTHIE, M., BARRAL, A., CRUZ, M. Allopurinol therapy provides long term clinical improvement, but additional immunotherapy is required for sustained parasite clearance, in *L. infantum*-infected dog. **Vaccine**: **X**, 4, 1–7. 2020

OPAS/OMS. Organização Pan-Americana da Saúde: Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas: Washington: Organização Pan-Americana da Saúde; 2020

PLEVRAKI, K., KOUTINAS, A.F., KALDRYMIDOU, H., ROUMPIES, N., PAPAZOGLU, L.G., SARIDOMICHELAKIS, M.N., SAVVAS, I., LEONDIDES, L. Effects of allopurinol treatment on the progression of chronic nephritis in canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*). **J. Vet. Intern. Med.**, n. 20, p. 228–233, 2006.

SILVA, Francinaldo S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. *Rev Trop Cienc Agr Biol*, v. 1, n. 1, p. 20-31, 2007.

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**, 4:86, 2011.

TORRES-GUERRERO, E. *et al.* Leishmaniasis: a review. *F1000Research*, v. 6, 2017