

Alterações estruturais em rins de caninos naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi*

Structural changes in kidneys of dogs with natural infection of *Leishmania (Leishmania) chagasi*

Bárbara C.N.C. de Albuquerque,* Frederico C. L. Maia,**** Valdomiro A. da Silva Júnior,***** Ana Maria A. Lima,**
Ericka R. C. de Albuquerque,* Danillo de S. Pimentel,*** Leucio C. Alves*****

Resumo

Com o objetivo de avaliar as alterações estruturais em rins de caninos naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* foram coletados fragmentos de rins de cães provenientes da região metropolitana do Recife, estado de Pernambuco. As amostras foram coletadas de 12 animais positivos para *Leishmania (L.) chagasi* e oito animais negativos foram utilizados como grupo controle. Fragmentos dos rins foram fixados em formalina e analisados pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE) e pela reação do ácido periódico de Schiff (PAS). Os resultados dos exames histopatológicos dos animais infectados revelaram proliferação de células mesangiais em 91,7% (11/12), seguido de espessamento da cápsula de Bowman, hialinização, e esclerose glomerular em 83,3% (10/12) destes animais, além da presença de cilindros hialinos nas Alças de Henle em 58,3% (7/12). As alterações aqui encontradas podem estar relacionadas com a deposição de imunocomplexos nos rins dos animais com infecção natural por *Leishmania (L.) chagasi*.

Palavras-chave: leishmaniose visceral canina, patologia, zoonose.

Abstract

The goal of research was to evaluate kidney changes in dogs from metropolitan region of Recife, Pernambuco State, with natural infection of *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Studies were performed in twelve dogs naturally infected by *Leishmania (L.) chagasi* and eight dogs were used as control. Kidney specimens were obtained and immediately fixed in formalin and histologically evaluated for detection of structural changes by hematoxylin and eosin (H&E) and the periodic acid-Schiff stain (PAS). The results of histopathological changes showed proliferation of mesangial cells in 91.7% (11/12) and also various glomerular lesions, thickness of Bowman capsule, hyalinization process and glomerular sclerosis in 83.3% (10/12). At Loop of Henle the analysis showed the presence of hyaline cylinder in 58.3% (07/12) of animals of infected group. The kidney lesions observed in dogs with natural infection of *Leishmania (L.) chagasi* could be related with the immune complex deposition.

Keywords: canine visceral leishmaniasis, pathology, zoonosis.

Introdução

Atualmente, considera-se a leishmaniose visceral canina (LVC) como uma enfermidade imunomediada, cuja presença da resposta humoral está associada à doença clínica, enquanto a resposta celular tem sido observada em animais assintomáticos (Moreno et al., 1999). Como consequência da regulação de linfócitos T e a produção de linfócitos B, ocorre formação de grande quantidade de imunocomplexos circulantes (Goto e Lindoso, 2004) que se depositam em vasos e órgãos; favorece o desenvolvimento de vasculites, uveítes, artrites (Slappendel e Ferrer, 1990; Lopez et al., 1996) além de patologias renais (Nieto et al., 1992).

O envolvimento renal, intersticial e/ou glomerular, é bem conhecido nas infecções produzidas pela *Leishmania*

donovani em animais experimentais (Councilman, 1898; Caravaca et al., 1991). Sendo assim, doenças renais são consideradas alterações em caninos infectados com *Leishmania (L.) chagasi*, sendo os danos renais expressos por lesões glomerulares e tubulares imunomediadas (Poli et al., 1991).

A ocorrência de glomerulonefrite proliferativa, membrano-proliferativa difusa (Tafari et al., 2001) e nefrite intersticial podem provocar insuficiência renal, considerada a principal causa de morte em animais com LVC (Slappendel e Ferrer, 1990; Pumarola et al., 1991; Nieto et al., 1992; Ferrer et al., 1995; Lopez et al., 1996; Poci et al., 1998).

Em função do aumento de novos casos de LVC em clínicas veterinárias na região metropolitana do Recife, aliado à

* Mestre em Ciência Veterinária pela Universidade Federal Rural de Pernambuco / UFRPE, Rua Dom Manuel de Medeiros s/n - Dois Irmãos, CEP-52171-900 – Tel.: (81) 3320-6011 – Recife, PE, Brasil, e-mail: barbaracalb@gmail.com

** Doutor em Ciência Veterinária / UFRPE

*** Mestrando do Curso de Pós-graduação em Ciência Veterinária / UFRPE

**** Prof. Associado do Departamento de Medicina Veterinária / UFRPE

***** Prof. Adjunto do Departamento de Morfologia e Fisiologia / UFRPE

escassez de dados sobre patogênese da insuficiência renal em cães com Calazar, objetivou-se avaliar as alterações estruturais em rins de caninos naturalmente infectados por *Leishmania (L.) chagasi*.

Material e métodos

Foram utilizados 20 caninos de raças e idades variadas, de ambos os sexos, provenientes da região metropolitana do Recife. Constituíram-se dois grupos experimentais, a saber: grupo infectado (GI), formado por 12 caninos atendidos no Hospital Veterinário, do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE, com sorologia positiva no teste ELISA e/ou exame parasitológico positivo para *Leishmania (L.) chagasi* e com sinais clínicos; e grupo controle (GC), formado por oito caninos provenientes do Centro de Vigilância Ambiental da Cidade do Recife, com sorologia negativa no teste ELISA e exame parasitológico negativo na pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania (L.) chagasi* na medula óssea e sem sinais clínicos da doença.

Após a necropsia de cada animal foram retirados fragmentos de rins para histopatologia. As amostras foram acondicionadas em formalina tamponada a 10%, e processadas de acordo com as técnicas de rotina para inclusão em blocos de parafina, cortadas em micrótomo com espessura de quatro a cinco micrômetros (μm) e corados pela técnica da hematoxilina-eosina (HE) e ácido periódico de Schiff (PAS), segundo metodologia descrita por Behmer, Tolosa e Freitas Neto (1976). As análises das lâminas foram realizadas em microscópio óptico.

Resultados e discussão

Macroscopicamente foram observadas alterações na coloração do tecido renal, notadamente congestões e isquemias nas áreas corticais e medulares, além de nefrite intersticial, caracterizada pela presença de vários pontos esbranquiçados nos rins dos animais do GI.

As principais lesões renais encontradas nos animais do GI estão demonstradas na Tabela 1. No grupo controle não foi observada nenhuma alteração macroscópica nem microscópica digna de nota.

A análise histopatológica revelou proliferação e vacuolização de células mesangiais (Figura 1A) em 91,6% (11/12) dos animais do GI. Concomitantemente, 83,3% (10/12) destes animais possuíam espessamento dos folhetos parietal e visceral da cápsula de Bowman com hialinização, além de diferentes estágios de atrofia (Figura 1B) e degeneração glomerular.

Segundo Ayala (1973) e Mancianti et al. (1989), alterações nos glomérulos renais de caninos naturalmente infectados com *Leishmania donovani* variam desde espessamento difuso do mesângio, sem hiperplasia, até glomerulonefrite proliferativa progressiva nas formas focal e difusa.

Aumento de celularidade dos glomérulos com proliferação endotelial e mesangial e deposição de imunocomplexos na membrana basal têm sido associados aos processos inflamatórios do tecido renal (Jones et al., 2000). Nestas circunstâncias o mesângio assume papel importante na evolução da glomerulonefrite, limitando sua repercussão e duração através da degradação dos imunocomplexos depositados.

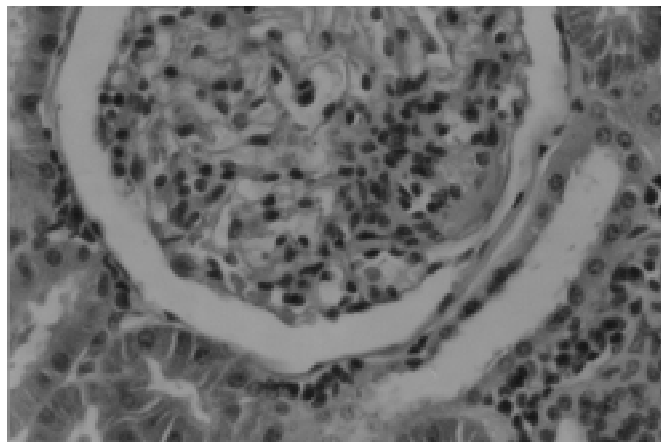


Figura 1A: Fotomicrografia de lesão renal. Vacuolização (seta) de células mesangiais nos glomérulo

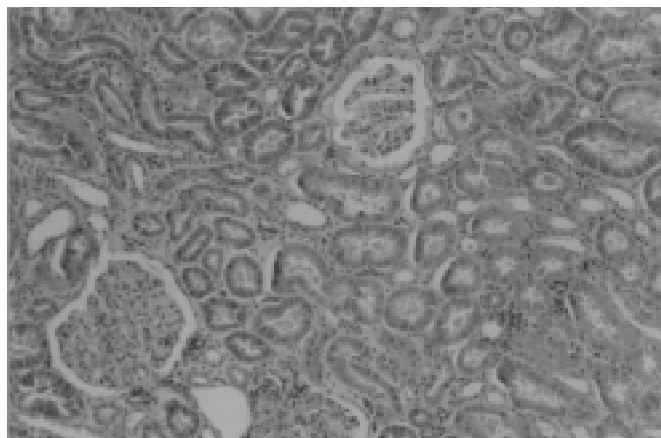


Figura 1B: Fotomicrografia de diferentes estágios de atrofia (seta) e degeneração glomerular

Tafuri et al. (1989) analisaram rins de caninos com infecção natural e experimental e observaram proliferação mesangial focal e difusa com intenso espessamento da matriz, além de espessamento irregular da membrana basal, infiltrado intertubular de células plasmáticas nas regiões cortical e medular e aderência entre os folhetos parietal e visceral da cápsula de Bowman.

Os achados deste estudo se assemelham aos encontrados por Nieto et al. (1992), que admitiram associação entre o aumento da área mesangial ao depósitos de imunocomplexos.

A presença de grande quantidade de cilindros hialinos nas alças de Henle foi visualizada em 58,3% (7/12) dos animais do GI. Segundo Jones et al. (2000), quando a integridade do mecanismo de filtração glomerular está comprometida, moléculas em excesso podem fazer parte do filtrado, especialmente proteínas, como mencionado nas glomerulonefrites (Feitosa et al. 2000; Bush, 2004).

Poli et al. (1991) e Costa et al. (2003) observaram diversos quadros de glomerulonefrite em caninos com infecção natural por *Leishmania infantum* e *Leishmania chagasi*, sem deixar de correlacionarem a glomerulonefrite com a presença de proteinúria.

Neste estudo, apesar do envolvimento glomerular, infiltrados linfoplasmocitários na região cortical foram observados em 50% (6/12) com discreta congestão nos capilares glomerulares em 41,6% (05/12) nos animais do GI.

Redução do espaço de Bowman e depósitos multifocais de cálcio nas alças de Henle foram visualizados em 33,3% (4/12) dos animais do GI.

Acúmulo de proteína no espaço de Bowman, com restos de células degeneradas, além de infiltrados inflamatórios periglomerulares e peritubulares multifocais difusos e acúmulo de material hialino foram observados em 25% (3/12) dos animais.

Em 8,33% (1/12) dos animais se observaram congestão e hemorragias, notadamente intersticiais peritubulares, periglomerulares, intraglomerulares (espaço de Bowman) e intratubulares na região cortical. Na região medular havia intensa hemorragia, congestão e presença de hemácias nas alças de Henle.

Conclusão

As lesões glomerulares observadas nos rins de caninos com infecção natural por *Leishmania (L.) chagasi* são compatíveis com a deposição de imunocomplexos no parênquima renal provocados pela doença.

Tabela 1: Alterações histopatológicas encontradas em rins de caninos naturalmente infectados por *Leishmania (L.) chagasi* (GI). Recife, 2005

Animal	Proliferação de CM ¹	Espessamento da CB ² e hialinização	Presença de Proteína no EB ³ com CD ⁴	Cilindros hialinos e DCAH ⁵	Esclerose glomerular	Nefrite intersticial
1	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente
2	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
3	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente
4	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente
5	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente
6	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente
7	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente
8	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente
9	Presente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente
10	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente
11	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Ausente
12	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Ausente

¹CM - Células Mesangiais; ²CB - Cápsula de Bowman; ³EB - Espaço de Bowman; ⁴CD - Células Degeneradas;

⁵DCAH - Depósito de Cálcio na Alça de Henle.

Referências

AYALA, M. P. A. R. Alterações no calazar canino espontâneo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. São Paulo, v. 8, n. 6, p. 353-358, 1973.

BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS NETO, A. G. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo: Edart, 1976. cap. 1-9, p. 27-80, 257 p.

BUSH, B. M. *Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais*. São Paulo: Roca, 2004. 371 p.

CARAVACA, F. et al. Acute renal failure in visceral leishmaniasis. *American Journal of Nephrology*, Basel, v. 11, p. 350-352, 1991.

COSTA, F. A. L. et al. Histopathologic Patterns of Nephropathy in Naturally Acquired Canine Visceral Leishmaniasis. *Veterinary Pathology*, Baltimore, v. 40, p. 677-684, 2003.

COUNCILMAN, W. T. Acute interstitial nephritis. *Journal Experimental Medicine*, New York, v. 3, p. 393-420, 1898.

FEITOSA, M. M. et al. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba, São Paulo (Brasil). *Clínica Veterinária*, São Paulo, ano 5, n. 28, p. 36-44, set./out. 2000.

FERRER, L. et al. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. *Veterinary Record*, London, v. 136, n. 20, p. 514-516, 1995.

FERRER, L. Canine leishmaniasis: evaluation of the immunocompromised patient. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION CONGRESS, 27. 2002, Granada. *Anais eletrônicos...* Granada, 2002. Disponível em: <http://www.avepa.org/granada2002>. Acesso em: 7 jan. 2004.

GOTO, H; LINDOSO, J. A. Immunity and immunosuppression in experimental visceral leishmaniasis. *Brazilian Journal Medical Biological Research*, Ribeirão Preto. v. 37, n. 4, p. 615-23, Apr. 2004.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. *Patologia Veterinária*. 6. ed. São Paulo: Manole, 2000. p. 1131-1168.

LOPEZ, R. et al. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. *Journal of Veterinary Medicine*. Berlim, v. 43, n. 8, p. 469-474, 1996.

MANCIANTI, F.; POLI, A.; BIONDA, A. Analysis of renal immunodeposits in canine leishmaniasis. Preliminary results. *Parasitology*, New York, v. 31, p. 213-230, 1989.

MORENO, J.; NIETO, J.; CHAMIZO, C. The immune response and PBMC subsets in canine visceral leishmaniasis before, and after, chemotherapy. *Veterinary Immunopathology*. Amsterdam, v. 71, n. 3-4, p. 181-195, nov. 1999.

NIETO, C. G. et al. Pathological changes in kidneys of dogs with natural *Leishmania* infection. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam. v. 45, n. 1-2, p. 33-47, 1992.

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

POLI, A. et al. Renal involvement in canine leishmaniasis. A light-microscopic, immunohistochemical and electron-microscopic study. *Nephron*, Basel, v. 57, p. 444-452, 1991.

PUMAROLA, M. et al. Canine leishmaniasis associated with systemic vasculitis in two dogs. *Journal of Comparative Pathology*. Edimburgh. v. 105, n. 3, p. 279-286, 1991.

SLAPPENDEL, R. J.; FERRER, L. Leishmaniasis. In: GREENE, C. E. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1990. p. 450-458.

TAFURI, W. L. et al. Optical and electron microscopic study of the kidney of dogs naturally and experimentally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*. São Paulo. v. 31, n. 3 p. 139-145, 1989.

TAFURI, W. L. et al. Canine visceral leishmaniasis: a remarkable histopathological picture of one case reported from Brazil. *Veterinary Parasitology*. Amsterdam, v. 96, p. 203-212, 2001.