

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

ACHADOS ULTRASSONOGRAFÍCOS BIDIMENSIONAIS E
DOPPLERFLUXOMÉTRICOS ASSOCIADOS À PROTEINÚRIA E
ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS RENAI EM CÃES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL.

Andreia Regis de Assis

CAMPO GRANDE, MS

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

**ACHADOS ULTRASSONOGRÁFICOS BIDIMENSIONAIS E
DOPPLERFLUXOMÉTRICOS ASSOCIADOS À PROTEINÚRIA E
ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS RENAI EM CÃES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL.**

Ultrasonographic and dopplerfluxometrics findings associated with proteinuria and
histopathologic renal in dogs with visceral leishmaniosis

Andreia Regis de Assis

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eurico Fernandes

Tese apresentada à Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul, como
requisito à obtenção do título de DoutorA
em Ciência Animal.

Área de concentração: Saúde Animal.

CAMPO GRANDE, MS

2017

Certificado de aprovação

ANDREIA REGIS DE ASSIS

Achados ultrassonográficos bidimensionais e dopplerfluxométricos associados à proteinúria e achados histopatológicos renais em cães com Leishmaniose Visceral 1

Ultrasonography and dopplerfluxometric associated to proteinure and histopathological findings in dogs infected with Visceral Leishmaniasis

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de doutora em Ciência Animal.

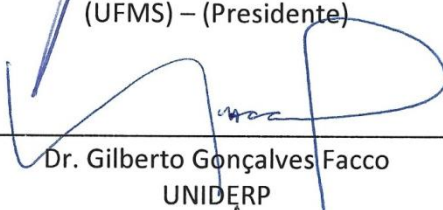
Área de concentração:
Saúde Animal.

Aprovado(a) em: 26-07-2017

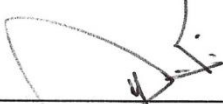
BANCA EXAMINADORA:



Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes
(UFMS) – (Presidente)



Dr. Gilberto Gonçalves Facco
UNIDERP



Dr. Paulo Antonio Terrabuio Andreussi
UFMS



Dra. Alda Izabel Souza
UFMS



Dr. Carlos Alberto do Nascimento Ramos
UFMS

Dedicatória

*Aos meus amados filhos Pedro, Marina e Isadora,
razões do meu viver, com todo o meu amor.*

*Ao meu companheiro amado, Robson Fukuda,
que superou uma especialização, um mestrado e
agora um doutorado, ainda
falta o pós-doctor. Conto com você.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador professor Dr. Carlos Eurico Fernandes, por ter me acolhido e me ajudado com as suas precisas e incisivas pontuações.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, incluindo professores, funcionários administrativos e colegas do programa de pós-graduação em Ciência Animal, que em algum momento me incentivaram e apoiaram durante a jornada do Doutorado.

Ao programa Fundect/CAPES, pela bolsa de estudo.

A Professora Dra Alda Isabel Souza e seus pupilos, Paulo Henrique Braz e Kelly Cristina, grandes parceiros na fase de coleta de dados do experimento e da vida profissional.

À equipe técnica e administrativa do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande-MS que se prontificou e colaborou na seleção dos animais que compõe o grupo experimental deste projeto, minha admiração pelo apoio e incentivo a pesquisa desta maldita doença que assola humanos e animais.

À Dr. Karen Kuibida e toda a equipe do laboratório Diagnovet – Campo Grande -MS, pela execução eficiente dos exames laboratoriais deste experimento e pelo carinho e atenção sempre dispensados.

Ao Dr. Gilberto Gonçalves Facco pela contribuição nas etapas finais de confecção das lâminas histológicas e pelo apoio incondicional em vários momentos da vida profissional e pessoal.

Aos tutores dos peludos que formaram o grupo controle deste experimento, pela paciência e confiança em permitir a participação dos seus amados na pesquisa.

À todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram com o sucesso deste trabalho.

A interpretação de imagens diagnósticas é um equilíbrio entre ciência e arte. A ciência envolve o conhecimento da anatomia, fisiopatologia, da clínica e da cirurgia. A Arte é uma função da experiência do observador.

Donald Thall e Clifford Berryo

Resumo

ASSIS, Andreia Regis. Aspectos ultrassonográficos bidimensionais e dopplerfluxométricos proteinúria associados à proteinúria e achados histológicos renais em cães com leishmaniose visceral. Ano. 2017. 112f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2017.

A leishmaniose visceral é uma zoonose de transmissão vetorial grave, causada pelo protozoário *Leishmania (leishmania) infantum chagasi*, apresentando característica multissistêmica, com sinais clínicos secundários à inflamação promovida pela multiplicação do parasito em distintos tecidos, dentre estes, os rins. A doença renal tem desenvolvimento lento e progressivo sendo considerada como a principal causa de óbito de cães infectados. Proteinúria e hipertensão arterial sistêmica são relatadas com alta incidência nestes animais. A ultrassonografia bidimensional, Doppler colorido e pulsado provêm importantes informações anatômicas e de perfusão vascular em cães com doença renal. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar a associação dos achados ultrassonográficos morfológicos, dopplerfluxométricos, histopatológicos com ocorrência de proteinúria e hipertensão arterial em cães com leishmaniose visceral. Dosagens séricas de ureia e creatinina, urinalise, determinação da razão proteína/creatinina urinária, aferição da pressão arterial sistêmica, ultrassonografia renal em modo B, Doppler colorido e pulsado foram realizados em 40 cães com diagnóstico confirmado para leishmaniose visceral e em 10 cães saudáveis. Fragmentos renais dos cães infectados foram analisados histologicamente. Hiperecogenicidade cortical, proteinúria e infiltrado intersticial inflamatório linfoplasmocitário foram os achados mais frequentes em cães com leishmaniose visceral apresentando associação significativa entre as variáveis ($p \leq 0,05$). Cães doentes apresentaram perfusão renal diminuída em relação a cães saudáveis Pressão arterial sistêmica e índice de resistividade renal não indicaram relevância estatística. A ecogenicidade cortical associada ao monitoramento da proteinúria é uma ferramenta clínica importante na estimativa da possibilidade de alterações histológicas renais em cães com leishmaniose visceral.

Palavras chave: Diagnóstico por imagem. LVC. Proteína urinária. Doppler. Doença renal.

Abstract

ASSIS, Andreia Regis. Association between proteinúria, ultrasonographic, dopplerfluxometric and histopathological findings in dogs naturally infected with visceral leishmaniasis. Ano. 2017. 112f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2012.

Visceral leishmaniasis is a several zoonosis of vector transmission caused by *Leishmania (leishmania) infantum chagasi*, presenting a multisystemic characteristic, with clinical signs secondary to the inflammation promoted by the multiplication of the parasite in different tissues, among them the kidneys. Kidney disease has a chronic and progressive development and is attributed the leading cause of death of infected dogs. Proteinúria and systemic arterial hypertension are reported with high incidence in these animals. Two-dimensional ultrasound, color and pulsed Doppler provide important anatomical information and vascular perfusion in dogs with renal disease. Therefore, the objective of this study was to verify the association of ultrasound anatomy, dopplerfluxometric, histopathological findings with occurrence of proteinúria and arterial hypertension in dogs with visceral leishmaniasis. Serum urea and creatinine dosages, urinalysis, urinary protein / creatinine ratio, systemic blood pressure, renal B-mode ultrasound, color and pulsed Doppler were performed in 40 dogs with visceral leishmaniasis diagnosis and in 10 healthy dogs. Renal fragments of infected dogs were histologically analyzed. Cortical hyperechogenicity, proteinúria and lymphoplasmacytic inflammatory interstitial infiltrate were the most frequent findings in dogs with visceral leishmaniasis presenting a significant association between the variables ($p \leq 0.05$). Sick dogs had decreased renal perfusion compared to healthy dogs. Systemic blood pressure and renal resistivity index did not indicate statistical relevance. Cortical echogenicity associated with proteinúria monitoring is an important clinical tool in estimating the possibility of renal histological changes in dogs with visceral leishmaniasis.

Keywords: Renal ultrasound, CVL. Urinary protein. Renal Doppler. Renal disease.

LISTA DE ABREVIATURAS e SIGLAS

CHGM	Concentração de hemoglobina globular média
DRC	Doença renal crônica
DU	Débito urinário
Elisa	Ensaio imuno enzimático/Enzyme linked immuno sorbent assay
EPM	Erro médio padrão
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HB	Hemoglobina
IR	Índice de resistividade
IRA	Insuficiência renal aguda
IRIS	International Renal Interest Society
JCM	Junção corticomedular
LVC	Leishmaniose visceral canina
Modo B	Modo bidimensional
n.	Frequencia absoluta
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Reação da cadeia da polimerase (do inglês polymerase chain reaction)
pH	Potencial hidrogeniônico
PPT	Proteína plasmática total
PRF	Frequência de repetição de pulso
R/Ao	Razão comprimento longitudinal renal por diâmetro da aorta
RD	Rim direito
RE	Rim esquerdo
SRD	Sem raça definida
TGF	Taxa de filtração glomerular
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
VDF	Velocidade diastólica final
VPS	Velocidade de pico sistólico

LISTA DE SÍMBOLOS

µg	Micrograma
µL	Microlitro
µm	Micrometro
cm	Centímetro
Kg	Kilograma
mg/dl	Miligramma por decilitros
MHz	Megahertz
mmHg	Milímetros de mercúrio
<	Menor
>	Mayor

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 Anatomia renal	7
2.2 Ultrassonografia renal	8
2.2.1 Morfologia ultrassonográficos anormal	10
2.2.2 Ultrassonografia Doppler.....	10
2.3 Classificação das doenças renais	13
2.4 Proteinúria e razão proteína/creatinina urinária (P/C U).....	14
2.5 Pressão arterial sistêmica	18
2.6 Leishmaniose visceral canina.....	19
2.6.1 Aspectos epidemiológicos.....	19
2.6.2 Lesões renais em cães com LVC	22
2.6.3 Aspectos clínico-laboratoriais em cães com LVC	22
2.6.3.1 Hematologia e bioquímica sérica	22
2.6.3.2 Proteinúria em cães com LVC.....	24
2.6.2.3 Estadiamento clínico-laboratorial de cães com LVC	25
2.6.3 Hipertensão arterial sistêmica em cães com LVC	25
2.6.4 Ultrassonografia renal em cães com LVC	26
2.6.5 Histologia renal em cães com LVC	26
3 OBJETIVOS.....	29
3.1 Geral	29
3.2 Específicos.....	29
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 Animais.....	30
4.2 Aspectos éticos	30
4.3 Critérios de inclusão no estudo	30
4.4 Confirmação diagnóstica para leishmaniose visceral canina	31
4.5 Aferição de pressão arterial sistêmica.....	31

4.6 Avaliação ultrassonográfica bidimensional (Modo B)	32
4.7 Avaliação ultrassonográfica Doppler	33
4.8 Exames laboratoriais	34
4.9 Eutanásia dos animais	36
4.10 Processamento histológico renal.....	36
4.11 Análise Estatística	37
REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma enfermidade multissistêmica grave, com caráter zoonótico e endêmica em regiões tropicais (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012). A doença é caracterizada por curso lento, evolução crônica e progressiva, com início insidioso e período de incubação médio em cães, entre três e sete meses, podendo se estender por vários anos (ALEXANDRE-PIRES et al., 2010, BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012; SILVA et al., 2013).

O comprometimento renal é um achado clínico frequentemente observado na Leishmaniose Visceral Canina (SOLANO-GALLEGO et al., 2009) com frequência relatada entre 30% a 54% nas populações de cães infectados (CORTADELLAS et al., 2006; FRANCESCHI et al., 2007; PLANELLAS et al., 2009). Os aspectos histológicos das injúrias renais na Leishmaniose Visceral Canina (LVC) tem sido amplamente estudados e descritos, sendo as lesões mais comuns a glomerulonefrite membranoproliferativa e a nefrite tubulointersticial (COSTA et al., 2003; ALBUQUERQUE et al., 2008; RIGO et al., 2014).

A doença renal em cães com LVC apresenta desenvolvimento lento, progressivo e irreversível, interferindo na capacidade funcional do órgão, provocando quadros de proteinúria, que progridem para síndrome nefrótica ou insuficiência renal crônica (FERRER, 1999; MOURA et al., 2002; BONFANTI et al., 2004). A insuficiência renal crônica tem sido relatada como a principal causa de óbito em cães infectados (DIETZE, 1997).

Clinicamente, as principais alterações urinárias identificadas na LVC são poliúria, proteinúria, isostenúria ou presença de urina inapropriadamente diluída (Canine Leishmaniasis Working Group – CLWG, 2007; PEREIRA DA FONSECA; VILLA DE BRITO, 2008). Cerca de 71 a 85% dos cães infectados exibem proteinúria (BANETH, 2012). Níveis séricos de ureia e creatinina elevados (azotemia) associados à nefropatias em cães com LVC são reportados com frequências variadas (NIETO et al., 1992; SOARES et al., 2005; COUTINHO et al 2005.; PLANELLAS et al 2009).

A ultrassonografia bidimensional é a modalidade de diagnóstico por imagem mais empregada para avaliação dos rins, provendo informações

anatômicas sobre topografia, dimensões, formato, contorno e arquitetura interna (VAC, 2014; GARCIA et al., 2015). A dopplerfluxometria é um recurso não invasivo útil para a estimativa da hemodinâmica renal no cão (NYLAND et al., 1993; MIYAMOTO et al., 1997; RIVERS et al., 1997). Estudos em animais têm sido realizados para demonstrar as possibilidades da técnica na avaliação de doenças renais (MORROW et al, 1996; RIVERS et al, 1997).

Alteração na perfusão pode ser o primeiro sinal de comprometimento da funcionalidade renal. O decréscimo da perfusão renal pode ocorrer por distúrbios glomerulares, tubulares e vasculares, acarretando muitas vezes lesões irreversíveis e assintomáticas em estágios iniciais. A possibilidade de antecipar um possível agravamento do quadro clínico é importante no intuito de evitar lesões adicionais, as quais poderão conduzir a disfunção renal permanente (MORROW et al., 1996; KOMURO, 2010).

Considerando o exposto, apesar da importância do envolvimento renal, há uma carência de estudos dos aspectos ultrassonográficos morfológicos e fluxométricos renais em cães com LVC. Neste contexto, o presente estudo objetivou esclarecer os aspectos ultrassonográficos dos rins de cães infectados, na expectativa de ampliar a aplicação do exame no acompanhamento da doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia renal

Os rins são órgãos pares situados em posição retroperitoneal, em região sublombar lateralmente à artéria aorta e veia cava caudal. São circundados por proporção variável de tecido adiposo. Cada rim apresenta: polos cranial e caudal, superfícies dorsal e ventral e, bordas lateral e medial. Os polos cranial e caudal caracterizam-se por contornos convexos. A borda medial possui uma indentação, o hilo, que define a região do seio renal, o qual contém o ureter, artéria e veia renal, vasos linfáticos e nervos (ELLENPORT, 1986; KÖNIG et al., 2004; DYCE et al., 2012).

A superfície dorsal encontra-se em sintopia com a musculatura lombar hipo-axial e não é recoberta por peritônio, enquanto a superfície ventral é revestida por peritônio. Cada rim está situado lateralmente à aorta e à veia cava caudal nos seus respectivos lados. O hilo renal é orientado ventromedialmente. Os rins possuem cápsula fibrosa que se irradia para dentro do hilo irradiando-se para o parênquima e em torno das estruturas neurovasculares do hilo. O rim esquerdo localiza-se caudal à curvatura maior do estômago e medial ao baço, cranialmente está em contato com o ramo pancreático esquerdo e medialmente com a adrenal esquerda. O rim direito é localizado mais cranialmente em relação ao seu par contralateral, lateralmente à direita da veia cava caudal e dorsal ao duodeno e ao ramo pancreático direito. O polo cranial está na fossa renal no lobo caudado do fígado (ELLENPORT, 1986; KÖNIG et al., 2004; DYCE et al., 2012).

Cada rim é composto por aproximadamente um milhão de néfrons. O néfron é a unidade morfofuncional do rim, o qual é composto por um corpúsculo e um túbulo renal. O corpúsculo renal é formado por dois componentes: uma estrutura vascular que caracteriza o glomérulo e a cápsula de Bowman que o envolve (ELLENPORT, 1986; KÖNIG et al., 2004; DYCE et al., 2012).

As artérias renais são ramos pares oriundas da aorta abdominal responsáveis pelo suprimento sanguíneo arterial de cada rim. São vasos de

calibre considerável, que penetram no hilo renal, acompanhados pelo plexo de nervos renais (ELLENPORT, 1986; KÖNIG et al., 2004; DYCE et al., 2012). Assim como o rim direito, a localização da artéria renal direita é mais cranial, cruzando ventralmente a veia cava caudal. A artéria renal esquerda surge caudalmente à sua correspondente contralateral, salvo em casos excepcionais, nos quais ambas se posicionam ao mesmo nível. A artéria renal, tanto direita quanto esquerda, pode apresentar padrões variados de segmentação, sendo única, dupla ou tripla, com esta divisão surgindo junto ou separadamente da parede da aorta abdominal (SAJJARENGPONG; ADIREKTAWORN, 2006; MARQUES-SAMPAIO et al., 2007; SALINAS; SCHWERTER, 2015). Após penetrar no hilo do órgão, cada artéria renal ramifica-se em artérias interlobares originando ramos craniais médios e caudais em número variado (MARQUES-SAMPAIO et al., 2007; SALINA; SCHWERTER, 2015). As artérias interlobares delimitam as pirâmides renais e ramificam-se em artérias arqueadas dispostas na junção corticomedular, as quais originam as inúmeras artérias interlobulares radiais que irrigam os lóbulos renais no córtex renal. Das artérias interlobulares surgem as arteríolas glomerulares aferentes, que penetram no pólo vascular do glomérulo (DYCE et al., 2012; MARQUES-SAMPAIO et al., 2007; SALINAS; SCHWERTER, 2015), deste surgem como arteríola glomerular eferente, que posteriormente se ramifica numa rede capilar que envolve os túbulos renais (capilares peritubulares). O sangue é escoado do órgão por meio da confluência das veias interlobulares, veias arqueadas e das veias interlobares, que terminam na veia renal, estes vasos acompanham o trajeto anatômico das artérias com sinonímias correspondentes (ELLENPORT, 1986; DYCE et al., 2012).

2.2 Ultrassonografia renal

A ultrassonografia bidimensional é a modalidade de diagnóstico por imagem mais empregada para avaliação dos rins, provendo informações anatômicas sobre topografia, dimensões, formato, contorno e arquitetura interna (VAC, 2014; GARCIA et al., 2015). As regiões cortical e medular, o limite corticomedular e o sistema coletor podem ser distinguidos em imagens ultrassonográficas sagitais e coronais (WALTER et al., 1987; GARCIA et al., 2015). Alterações uni ou bilaterais na morfologia e tamanho do órgão

frequentemente representam sinais de distúrbios renais (CARVALHO et al., 2010).

O conhecimento da morfologia sonográfica normal e anormal renal é essencial para diagnósticos bem sucedidos. Os critérios de avaliação ultrassonográfica renal incluem localizar e dimensionar o órgão, delimitar contorno e margens, inspeção da arquitetura renal interna com identificação das regiões cortical e medular, seio renal, divertículos renais, pelve, bem como ureteres proximais, além de avaliar as diferenças de ecogenicidade do parênquima renal (CARVALHO et al., 2010; LARSON, 2012; VAC, 2014; GARCIA et al., 2015).

O rim inalterado apresenta um complexo ecogênico central brilhante representando o seio renal e a gordura peripélvica. A gordura pode causar uma discreta sombra acústica, a qual não deve ser confundida com sombreamento acústico causado por mineralização. A região medular é caracterizada por uma área homogênea hipoecoica em relação à cortical. A camada cortical mais externa apresenta ecogenicidade intermediária e ecotextura homogênea de granulação fina. O rim esquerdo normal apresenta região cortical hipoecoica em relação ao baço, enquanto o rim direito é isoecogênico ou discretamente hiperecogênico em relação ao parênquima hepático. Um eco linear periférico brilhante representa a cápsula renal fibrosa. Os recessos pélvicos renais e os vasos interlobares são frequentemente visibilizados como ecogenicidades lineares múltiplas, uniformemente espaçadas, que se estendem perpendicularmente da região pélvica renal. O limite entre as regiões cortical e medular é denominado na prática de junção corticomedular (JCM) e deve ser bem demarcado (NYLAND et al., 1993; D'ANJOU, 2008; LARSON, 2012; VAC, 2014; GARCIA et al., 2015).

Devido a grande variedade de peso e tamanho entre as raças de cães, o estabelecimento de um padrão absoluto de tamanho do órgão é subjetivo (D'ANJOU, 2008; GARCIA et al., 2015). Pode-se utilizar como referência a razão rim/aorta proposta por Mareschal et al. (2007), em que se divide o comprimento longitudinal renal pelo diâmetro interno da aorta (R/Ao), mensurada na altura dos rins. O tamanho renal é considerado reduzido quando

a R/Ao for menor que 5,5, e aumentado quando maior que 9,1 (MARESCHAL et al., 2007).

2.2.1 Morfologia ultrassonográfica anormal

Os parâmetros morfológicos e morfométricos obtidos pelo exame ultrassonográfico são utilizados na rotina clínica como referências para verificar a normalidade do rim. A avaliação de tamanho, ecogenicidade do parênquima e definições das camadas cortical e medular, são elementos que possibilitam estabelecer a hígidez ou não do órgão (NYLAND et al., 2002; D'ANJOU, 2008; VAC, 2014; GARCIA et al., 2015). Padrões ultrassonográficos renais são mais específicos para doenças focais ou multifocais, porém, o exame é limitado na distinção entre lesões benignas e malignas. Anormalidades sonográficas muitas vezes não são específicas para a doença renal difusa. Adicionalmente, os achados sonográficos em doenças difusas tornam-se mais ou menos evidentes de acordo com a duração da doença (JANTHUR, WIRTH, 1997; GARCIA et al., 2015). Contudo, o exame é considerado uma técnica de baixa sensibilidade e especificidade em doenças renais difusas sendo recomendado que seus resultados sejam interpretados associados ao histórico do paciente, sinais clínicos, exame físico e parâmetros bioquímicos no intuito de constituir um diagnóstico diferencial adequado. (WALTER et al., 1987; JANTHUR, WIRTH, 1997). A histopatologia é essencial para o diagnóstico definitivo da doença renal. Conhecendo a morfologia e a fisiologia do órgão, pode-se somar tal conhecimento com as informações obtidas pela ultrassonografia para definir o diagnóstico, que será confirmado por meio do exame histopatológico (CARVALHO et al., 2010).

2.2.2 Ultrassonografia Doppler

O recurso Doppler tem sido reconhecido como método não invasivo na avaliação de características hemodinâmicas da vascularização arterial renal em humanos nefropatas (PLATT et al., 1990; PLATT et al., 1991; GALESIC et al., 2004; CAPOTONDO et al., 2010). As modalidades de Doppler colorido e espectral são utilizadas para identificação da irrigação sanguínea renal,

subsidiando informações em relação à presença, direcionamento e tipo de fluxo sanguíneo (SZATMÁRI et al., 2001; CAPOTONDO et al., 2010; KOMURO, 2010; MEOLA et al., 2012), possibilitando, deste modo, executar ponderações quantitativas e qualitativas da circulação no órgão (CAPOTONDO et al., 2010; MEOLA et al., 2012).

O rim é um órgão bem vascularizado recebendo cerca de 20-25% do débito cardíaco. Muitas doenças renais têm importante componente vascular e algumas doenças sistêmicas, tais como a hipertensão, são mediadas pelo sistema de controle vascular do aparelho justaglomerular. Isto torna os rins adequados para avaliação com as diferentes modalidades de Doppler, pois se espera que doenças renais acarretem alterações no suprimento vascular, microcirculação e retorno venoso do órgão (MORROW et al., 1996; MIYAMOTO et al., 1997; IKEE et al., 2005; MELO et al., 2006; CHOI et al., 2013).

O mapeamento Doppler colorido evidencia a arquitetura vascular do órgão, facilitando a localização dos vasos de interesse, produzindo imagens concomitantes com a convencional em tempo real. Nesta técnica, os vasos interlobares, arqueados, e os interlobulares são identificados (GARCIA et al., 2015, MARTÍN et al., 2016). O Doppler pulsado baseia-se na alternância dos ecos de retorno, devido à movimentação das células sanguíneas no interior do vaso analisado, dentro de um volume único de amostra do fluxo sanguíneo, em uma região específica desse vaso (GARCIA et al., 2015).

Alteração na perfusão pode ser o primeiro sinal de comprometimento da funcionalidade renal. O decréscimo da perfusão renal pode ocorrer por desordens glomerulares, tubulares e vasculares, acarretando muitas vezes injúrias irreversíveis e assintomáticas em estágios iniciais. A possibilidade de antecipar um possível agravamento do quadro clínico é importante no intuito de evitar lesões adicionais, as quais poderão conduzir a disfunção renal permanente (PLATT et al., 1991; MORROW et al., 1996; KOMURO, 2010). Segundo NYLAND et al., (1993), aplicação do Doppler renal em animais teve sua origem em estudos realizados em humanos, nos quais a técnica tem se demonstrando útil no provimento de informações adicionais, em pacientes

transplantados, portadores de insuficiência renal aguda, obstruções do trato urinário, e neoplasias renais (CAPOTONDO et al., 2010).

Na medicina veterinária, estudos têm sido realizados com o intuito de ampliar os meios de avaliação e detecção precoce de injúrias renais (MELO et al., 2006). A dopplerfluxometria é um recurso não invasivo útil para a estimativa da hemodinâmica renal no cão (NYLAND et al., 1993; MIYAMOTO et al., 1997; RIVERS et al., 1997). Pesquisas em animais têm sido realizadas para demonstrar as possibilidades da técnica na avaliação de doenças renais. Os trabalhos de Rivers et al (1996), Morrow et al. (1996) e Rivers et al., (1997) evidenciaram a utilidade da técnica em cães com insuficiência renal aguda, nefrites e glomerulopatias, contudo as análises destes levantamentos tem sido baseadas apenas em critérios clinico-laboratoriais.

Os resultados quantitativos obtidos por meio do Doppler pulsado abrangem as velocidades máxima, mínima e média do fluxo sanguíneo. A partir destes valores, o índice de resistividade (IR) é calculado proporcionando informação indireta sobre a expressão da resistência ao fluxo de sangue arterial (RIVERS et al., 1997; CHETBOUL et al., 2012; MEOLA et al., 2012). O IR, descrito por Pourcelot (1974), representa a resistência da parede vascular ao fluxo sanguíneo durante a perfusão no órgão (RIVERS et al., 1996). O cálculo do IR é muito utilizado na avaliação Doppler renal, devido à sua praticidade em relação à obtenção das medidas de velocidade, são independentes do ângulo de insonação da amostra e pode ser obtido em pequenos vasos (GARCIA et al., 2015).

Em humanos, o IR é considerado indicador de reversibilidade da insuficiência renal, apresentando-se significativamente mais elevado em quadros de insuficiência renal persistente em relação a pacientes convalescentes (PLATT et al., 1991). As elevações dos valores do IR da artéria renal representa redução do fluxo sanguíneo no órgão caracterizando possível doença renal, tais como nefropatia obstrutiva, doença renal aguda ou necrose tubular aguda. A elevação do IR pode estar associada a um rápido declínio de função renal (PETERSEN et al., 1997). Galesic et al. (2004) correlacionaram os parâmetros Doppler com achados histopatológicos renais em 50 pacientes humanos constatando aumento do IR estatisticamente significativo em

pacientes com glomerulonefrites, registrando maior elevação em quadros de glomerulonefrite membranosa. Em um estudo em 60 pacientes humanos, foi constatada alta especificidade e sensibilidade na associação do IR às lesões tubulointersticiais (SUGIURA et al., 2004). O IR tem sido considerado um instrumento complementar no diagnóstico de doenças renais predizendo a gravidade de lesões tubulointersticiais (PRABAHAR et al., 2008). Contudo, na medicina, os estudos prospectivos relacionando o IR com classificação histológica da lesão foram realizados com amostras renais coletadas por biópsia percutânea (PLATT et al., 1990; GALESIC et al., 2004; SUGIURA et al., 2004; IKEE et al., 2005; PRABAHAR et al., 2008).

O IR tem sido descrito em cães saudáveis (RIVERS et al., 1996; MITCHELL et al., 1998; MORROW et al., 1996) com valores diferindo discretamente entre os estudos. Alguns autores sugerem um valor superior máximo de 0,70 para os cães (MITCHELL et al., 1998; MORROW et al., 1996) que também é o limite utilizado na medicina (PLATT et al., 1990). Em cães, o IR considerado normal é de $0,63 \pm 0,05$ e este valor é a representação numérica da relação das velocidades de pico sistólico e diastólico final (PLATT et al., 1991). Quando o exame ultrassonográfico em modo bidimensional é normal ou a hiperecogenicidade de parênquima é achado isolado, o IR renal é utilizado para sugerir doença renal em cães (RIVERS et al., 1997). Entretanto, o valor clínico da ferramenta Doppler no diagnóstico de doenças do parênquima renal, especialmente doenças glomerulares, ainda, permanece obscuro na Medicina Veterinária.

2.3 Classificação das doenças renais

Existem dois tipos de injúrias renais, a doença renal aguda (IRA) e doença renal crônica (DRC). A IRA distingue-se pela redução abrupta da função renal com alteração da taxa de filtração glomerular (TGF) e débito urinário (DU). O diagnóstico precoce e instituição de adequada terapia podem promover remissão completa do quadro. A DRC tem caráter permanente, aproximadamente 75% dos néfrons devem estar comprometidos e não existe possibilidade de reversibilidade (BROWN, 2013).

As manifestações clínicas nos estágios iniciais da doença renal são discretas em decorrência da capacidade de reserva funcional dos rins, sendo a disfunção constatada quando ocorre o deterioramento de aproximadamente 66% a 75% dos néfrons; desencadeando a perda da capacidade de concentração urinária e acúmulo de compostos nitrogenados na circulação sanguínea com subsequente manifestação de sinais clínicos (BROWN, 2013, 1997; GRAUER, 2007).

A perda progressiva de néfrons e a redução da filtração glomerular na insuficiência renal crônica promovem elevação das concentrações séricas de das substâncias que sofrem excreção renal. As concentrações plasmáticas crescentes destas substâncias são responsáveis pelo conjunto de sinais clínicos designado de síndrome urêmica. Na IRC, pode ocorrer perda da manutenção do equilíbrio acidobase e hidroeletrolítico, incidindo muitas vezes em acidose metabólica, hiperfosfatemia e hipocalcemia (GRAUER, 2011).

2.4 Proteinúria e razão proteína/creatinina urinária (P/C U)

Proteinúria consiste em algum tipo de proteína na urina podendo ou não refletir função renal inadequada. A perda urinária de proteínas plasmáticas, especialmente albumina, é um dos sinais deletérios precoces desencadeados por glomerulonefrites e hipertensão glomerular (LEES et al., 2005; WEHNER et al., 2008; GRAUER, 2011; HARLEY; LANGSTON, 2012). A quantificação da proteinúria é fundamental na avaliação de doentes renais crônicos, uma vez que permite avaliar a gravidade e progressão das lesões renais (GRAUER et al., 2006; WEHNER et al., 2008).

O filtrado glomerular contém somente proteínas de baixo peso molecular, as quais são reabsorvidas no túbulo contorcido proximal (BUSH, 2004; HARLEY; LANGSTON, 2012). Concentrações de proteína urinária em até 0,5 g/L (50mg/dL) são insignificantes em cães normais, nos quais aproximadamente metade desta quantidade é representada por albumina de origem renal, uma vez que, os túbulos contorcidos proximais reabsorvem 90% da proteína filtrada. A outra porção de proteína é proveniente de túbulos contorcidos distais, ductos coletores e do trato genital, a qual é composta de

mucoproteínas de Tamn-Horsfall e algumas imunoglobulinas que atuam como proteção contra infecções. É importante destacar que a concentração de proteína urinária é dependente do volume de água excretado, logo, a proteinúria pode ter origem fisiológica em urinas concentradas (BUSH, 2004).

A quantidade exacerbada de proteína na urina pode ser de origem fisiológica ou patológica (WEHNER et al; 2008; GRAUER, 2011; HARLEY; LANGSTON, 2012; VADEN; ELLIOT, 2016). O mecanismo de proteinúria fisiológica não está completamente elucidado. Suspeita-se que possa estar relacionado à vasoconstrição renal transitória, isquemia e/ou congestão (BUSH, 2004). A condição fisiológica ou benigna é de pequena magnitude e transitória, tendendo a reduzir quando o agente causal é removido. As principais causas são ingestão de alimento hiperprotéico, exercícios exaustivos, estresse, convulsões, febre, e exposição ao temperaturas extremas (frio ou calor) (HARLEY; LANGSTON, 2012).

A proteinúria patológica pode ser proveniente de causas pré-renais, renais ou pós-renais. A proteinúria pré-renal é frequentemente transitória e de pequena magnitude, relacionando-se a condições patológicas que aumentam a concentração sanguínea de proteínas de baixo peso molecular: estados febris, anemia hemolítica (hemoglobinúria), lesões musculares extensas (mioglobinúria), cardiopatias e choque (BARSANTI et al., 2004; GRAUER, 2011; LITTMAN et al., 2013). Proteinúria de origem pré e pós renais na ausência de doença renal, deve ser excluída (GRAUER, 2007; LEES et al., 2005).

A proteinúria renal ocorre por comprometimento da filtração glomerular, devido a anormalidades na permeabilidade glomerular, ou decorrente de decréscimo na potencialidade de reabsorção tubular, promovendo aumento significativo na concentração de proteína urinária (WEHNER et al; 2008; GRAUER, 2011; HARLEY; LANGSTON, 2012). A proteinúria renal está relacionada à hipertensão intraglomerular, deposição glomerular de imunocomplexos, vasculite ou distorções estruturais na membrana basal glomerulares (GRAUER, 2011). Em cães, a glomerulonefrite consiste em uma importante causa de proteinúria de origem renal, na qual o mecanismo de filtração glomerular perde a permeabilidade seletiva, consentindo o

extravazamento de proteínas séricas em grande proporção. A lesão glomerular promove proteinúria mais grave em relação ao que é observado em lesões tubulares (BARSANTI et al., 2004; GRAUER, 2011). Quando ocorre proteinúria de origem renal, sua persistência e magnitude devem ser monitoradas associadas à concentração sérica de creatinina, uma vez que a proteinúria pode diminuir com a progressão da doença renal e redução da população de néfrons funcionais (GRAUER, 2011). A ocorrência de proteinúria é um forte indicador de redução progressiva da função renal, mesmo em pacientes com TFG normal (BRANTSMA et al., 2008). A proteinúria consiste em fator de risco associado com a ocorrência de crise urêmica e óbito em cães com DRC (JACOB et al., 2005; HARLEY; LANGSTON, 2012).

A proteinúria renal é classificada em funcional (transitória) ou patológica (persistente). A distinção entre estas apresentações é realizada por meio de repetição da análise urinária em diferentes momentos clínicos, com intervalo mínimo de duas semanas. A proteinúria persistente é considerada sinal de doença renal, estando associada a sedimento urinário normal ou com cilindros hialinos nas glomerulonefrites, e a glicosúria e/ou excreção anormal de eletrólitos se houver lesões nos túbulos renais afetando sua reabsorção (LEES et al., 2005; GRAUER, 2007).

Proteinúria pós-renal é de ocorrência comum sendo oriunda de processos inflamatórios em trato urinário inferior (bexiga, uretra e próstata), nefrolitíases e ureterolitíases (LESS et al., 2005; GRAUER, 2011, HARLEY; LANGSTON, 2012). O sedimento urinário deve ser avaliado para a diferenciação entre a proteinúria renal e pós-renal. Os critérios incluem presença de sangue, leucócitos, bactéria, aumento das células epiteliais de transição ou outros indicadores de inflamação (LESS et al., 2005; GRAUER, 2011; VADEN; ELLIOT, 2016).

A razão proteína/creatinina urinária (P/C U) é um teste semi-quantitativo que permite quantificar a concentração da proteína na urina auxiliando na avaliação da gravidade das lesões renais e progressão da doença (JACOB et al., 2005; LEES et al., 2005; WEHNER et al 2008; HARLEY; LANGSTON; 2012). Este parâmetro baseia-se no princípio de que os níveis urinários de creatinina e proteína são gerados pela filtração glomerular e por isso, um

aumento do razão P/C U, na ausência de inflamação pós-glomerular, reflete o aumento da perda proteica e possivelmente a progressão da DRC (GRAUER, 2011). A *International Renal Interest Society* (IRIS 2015) preconiza o estadiamento da doença renal crônica em cães, com a finalidade de direcionamento diagnóstico, colaborando com o tratamento e monitoramento do paciente renal.

A classificação da IRIS (2015) inclui os seguintes estágios e baseia-se na concentração sérica de creatinina:

- Estágio 1: Concentração de creatinina sérica dentro dos parâmetros de normalidade, apresentado sinais de comprometimento renal como proteinúria;
- Estágio 2: Animais azotêmicos, com concentração de creatinina sérica inferior a 2,0 mg/dl;
- Estágio 3: Concentração de creatinina sérica entre de 2,1 a 5,0 mg/dl;
- Estágio 4, Concentração de creatinina sérica acima de 5,0 mg/dl (IRIS, 2015).

Os animais são subcategorizados conforme a magnitude da proteinúria e evidências de hipertensão arterial sistêmica (BROWN, 2013). O subestadiamento das doenças renais crônicas é baseado na concentração sérica de creatinina associada a P/C U, cujos valores até 0,2 não caracterizam proteinúria, enquanto valores entre 0,2 a 0,5 são considerados no limite para ocorrência de proteinúria (*borderline*) (IRIS, 2015).

Valores de P/C U iguais ou superiores a 0,5 são ocasionados por perda de proteína, porém a proteinúria persistente de origem renal é determinada quando verificada em três ou mais repetições do exame, realizadas no intervalo mínimo de 15 dias, e excluídas as causas pré e pós-renal de proteinúria (LEES et al., 2005; BROWN, 2013; ELLIOTT, GRAUER ; HARLEY; LANGSTON, 2012; VADEN; ELLIOT, 2016). A magnitude dos valores de P/C U está relacionada com o tipo e evolução da lesão renal. Valores de P/C U > 2,0 são altamente sugestivos de lesão glomerular e valores de menor intensidade ocorrem em lesões túbulo intersticiais (LESS et al., 2005; GRAUER, 2011; LITTMAN et al., 2013; VADEN; ELLIOT, 2016). A permeabilidade seletiva dos

capilares glomerulares encontra-se alterada na amiloidose promovendo valores de P/C U superiores a 3,0. Ressalta-se que a interpretação isolada dos valores de P/C U não possibilita a distinção entre a perda de proteína glomerular e a proteinúria associada à inflamação ou hemorragia do trato urinário inferior (GRAUER, 2011). Neste caso, avaliação do sedimento urinário e histórico clínico devem ser utilizados para o diagnóstico diferencial (GRAUER, 2011; LITTMAN et al., 2013; VADEN; ELLIOT, 2016).

2.5 Pressão arterial sistêmica

Pressão arterial sistêmica é a pressão exercida pelo sangue na parede arterial e de grandes vasos. Elevações sustentadas da pressão arterial sistólica (PAS) e/ou diastólica (PAD) são denominadas de hipertensão arterial sistêmica (HAS). A HAS em cães teve sua importância reconhecida há cerca de duas décadas. Diretrizes semelhantes às estabelecidas na Medicina foram publicadas pelo Consensus Statement Of The American College Of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) (BROWN et al., 2007). A HAS pode promover sequelas em olhos, rins, coração e no sistema nervoso central (órgãos alvo). Os riscos associados à hipertensão são consistentemente atribuídos à pressão arterial sistólica, sendo atualmente o foco principal nos protocolos terapêuticos. Os efeitos adversos comumente observados incluem retinopatia hipertensiva, hemorragia intraocular e encefalopatia hipertensiva, principalmente em elevações acudas da PAS acima de 180 mmHg (BROWN et al., 2007; REUSCH et al., 2010).

A HAS é relatada em até 85% dos cães com glomerulopatias (BARTGES, 1996). A condição afeta diretamente os capilares glomerulares promovendo hipertensão glomerular e consequente danos nestas estruturas. Este mecanismo promove redução progressiva da função renal (BROWN et al., 2007; WEHNER et al., 2008; REUSCH et al., 2010). O limiar de elevação da PAS para que ocorra danos ao tecido renal na espécie canina é desconhecido. No entanto, é admitido que seja de aproximadamente 160 mmHg, uma vez que tem sido constatadas injúrias renais em cães com PAS inferior a 180 mmHg. (REUSCH et al., 2010).

A IRIS (2015) categorizou valores para cães com DRC: pressão arterial sistólica de 130 a 150 mmHg é classificada como mínimo risco, de 150 a 160 mmHg de baixo risco, de 160 a 180 mmHg moderado risco e superior a 180 mmHg de alto risco. Em cães, a aferição da pressão arterial é realizada por meio de técnicas diretas ou indiretas. A técnica de mensuração direta é realizada por meio de canulação arterial (artéria carótida ou femoral) requerendo aparelhagens específicas e procedimento anestésico. A mensuração indireta é rotineiramente aplicada na prática clínica. As opções para determinação da PA pelo método indireto incluem o emprego do método oscilométrico ou do Doppler vascular. Pelo método oscilométrico (detecção das oscilações na pressão com manguitos) obtêm-se os valores de pressão sanguínea sistólica, diastólica e média; o Doppler vascular consiste em detectar o fluxo sanguíneo arterial (BROWN et al., 2007; CORTADELLAS, 2012). Para a aferição adequada da pressão arterial, é recomendada aplicação de manguitos com tamanhos apropriados com largura relativa a 40% da circunferência do membro utilizado (BROWN et al., 2007).

2.6 Leishmaniose Visceral Canina

2.6.1 Aspectos epidemiológicos

A leishmaniose visceral é uma enfermidade sistêmica grave, com caráter zoonótico e endêmica em regiões tropicais (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012). O agente etiológico é um parasito tripanossomatídeo da ordem Kinetoplastida, do gênero *Leishmania* (ROSS, 1903; COSTA et al., 2000). No Brasil é causada pela espécie *Leishmania (leishmania) infantum chagasi* (BRASIL, 2014), atualmente considerada como a mesma espécie de *Leishmania chagasi*, representando um sinônimo (FRAGA et al., 2010; ROMERO; BOELAERT, 2010; BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012).

O principal vetor biológico, responsável pela transmissão em território brasileiro, são fêmeas de flebotomíneos da espécie *Lutzomyia longipalpis* (*L. longipalpis*) pertencente à ordem díptera, família psychodidae (LUTZ; NEIVA, 1912; GENARO; 1993; BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012; SILVA et al., 2014). Em ambientes urbanos o cão é o principal reservatório epidemiológico

da doença sendo considerado um importante hospedeiro e fonte de infecção para vetores (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012).

As espécies de *Leishmania* apresentam ciclo de vida heteroxeno, são protozoários digenéticos, que exibem formas distintas no hospedeiro mamífero (forma amastigota) e no inseto vetor (forma promastigota). A forma promastigota é encontrada no trato digestivo do hospedeiro invertebrado. No hospedeiro vertebrado, o parasito intracelular obrigatório, aloja-se em células do sistema mononuclear fagocitário na forma amastigota, a qual se multiplica por divisão binária (DIAS; REBÊLO, 2003; ALVAR et al., 2004; BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012; BRASIL, 2014).

Durante a hematofagia em um hospedeiro mamífero infectado, as fêmeas dos flebotomíneos contraem formas amastigotas, as quais se tornam promastigotas em seu tubo digestivo. Em um novo repasto sanguíneo, os vetores infectados inoculam as formas promastigotas na derme de um hospedeiro susceptível, gerando reação inflamatória local e subsequente fagocitose das formas parasitárias por células do sistema mononuclear fagocitário, principalmente macrófagos. Nestas células, as formas promastigotas perdem o flagelo e diferenciam-se em amastigotas. As formas amastigotas multiplicam-se por divisões binárias sucessivas no interior das células do hospedeiro, resultando em seu rompimento e liberação das formas parasitárias, as quais serão fagocitadas por novos macrófagos. Assim, ocorre disseminação hematogena e linfática para tecidos de órgãos com abundância de células do sistema mononuclear fagocitário (linfonodos, medula óssea, baço e fígado). O ciclo se completa com a ingestão de formas amastigotas pelos flebotomíneos durante a hematofagia (ALVAR et al., 2004; BANETH e SOLANO-GALLEGO, 2012; KOUTINAS; KOUTINAS 2014).

A doença é caracterizada por curso lento, evolução crônica e progressiva, com início insidioso e período de incubação médio em cães, entre três e sete meses, podendo se estender por vários anos. Um percentual de cães nunca exibirá quadro clínico da doença, enquanto outros poderão apresentar inúmeros sinais clínicos (FERRER, 1999; FEITOSA et al., 2000; ALVAR et al., 2004; BANETH, 2008; ALEXANDRE-PIRES et al., 2010, BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012; SILVA et al., 2013; ANDRADE et al., 2014). Apesar de

evolução crônica, a doença pode se apresentar na forma assintomática, ou aguda e grave, tornando-se fatal em poucas semanas (FERRER, 1999; FEITOSA et al., 2000; ALVAR et al., 2004; BANETH, 2008; SILVA et al., 2014).

Em cães susceptíveis, a doença acarreta sinais clínicos variados secundários à inflamação promovida pela multiplicação do parasito em distintos tecidos. Estudos conduzidos em áreas endêmicas demonstram que linfadenopatia generalizada, perda progressiva de peso, anemia, hipertermia, hepatoesplenomegalia, lesões oftálmicas, dermatológicas, onicogribose e lesões renais são as alterações mais comumente observadas nos animais que desenvolvem a doença, podendo ocorrer febre irregular por longos períodos (GENARO, 1993; FERRER, 1999; FEITOSA et al., 2000; PALTRINIERI et al., 2010; BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012; LEITE et al., 2015). Sinais clínicos envolvendo o sistema digestivo, locomotor e nervoso também são relatados. A evolução da doença é relacionada a competência imunológica do hospedeiro (CIARAMELLA et al., 1997; ALEXANDRE-PIRES et al., 2010; ANDRADE et al., 2014), a qual pode acarretar uma formação acentuada quantidade de imunocomplexos circulantes que se depositarão em vasos sanguíneos e nos tecidos dos órgãos, causando vasculites e artropatias, complicações sistêmicas, infecções secundárias, hipotensão e sepse (FERRER, 1999; COSTA et al., 2003).

Clinicamente, a manifestação da doença está relacionada ao potencial de controle do parasitismo pelo hospedeiro, podendo evoluir com caráter assintomático, passando por uma forma intermediária, chegando à forma clínica debilitante, relacionada à falência do controle do parasitismo ocasionado pela condição de imunossupressão exacerbada. Cães infectados são classificados em três categorias: assintomáticos (sem manifestação de sinais clínicos da doença); oligossintomáticos (opacidade da pelagem, alopecia localizada, perda de peso corporal moderado, linfonodopatia); sintomáticos (todos ou alguns sinais graves de doença ativa como alterações cutâneas alopecia, eczema furfuráceo, úlceras, hiperqueratose, onicogribose, emagrecimento acentuado, ceratoconjuntivite) (MANCIANTI et al., 1988).

2.6.2 Lesões renais em cães com LVC

O envolvimento renal é um achado clínico frequentemente observado em cães acometidos por leishmaniose visceral (POLI et al., 1991; PRIANTI et al., 2007; SOLANO-GALLEGO et al., 2009). A doença renal pode ser a única manifestação em alguns cães com LVC (LOPEZ et al., 1996; MOURA et al., 2002). Nefrite intersticial e/ou lesão glomerular, relacionadas a LVC, são atribuídas a deposição do antígeno do parasito nos glomérulos. A deposição de imunocomplexos nos tecidos renais acarreta lesões glomerulares e tubulares (ALBUQUERQUE et al., 2008; GOMES et al., 2008). As lesões mais comuns são glomerulonefrite membranoproliferativa e nefrite tubulointersticial (TAFURI et al., 2001; ALVAR et al., 2004; ALBUQUERQUE et al., 2008; RIGO et al., 2014). Estudos prévios evidenciaram prevalência de doença renal crônica de 30% a 54% em populações de cães infectados (COSTA et al., 2003; CORTADELLAS et al., 2006; FRANCESHI et al., 2007; PLANELLAS et al., 2009), sendo a maior a maior prevalência descrita por Costa et al. (2003) em uma população de 6/11 cães infectados. Planellas et al. (2004) obtiveram evidências laboratoriais de doença renal crônica em 30% de uma população canina com LVC (116 animais). Em uma população de 105 cães, Cortadellas et al. (2006) observaram que 49,5% revelaram diagnóstico laboratorial de doença renal crônica, nos quais, 32,7% demonstravam exclusivamente proteinúria, e 67,3% azotemia. Franceshi et al. (2007) constataram prevalência de doença renal em 52,5% entre 40 cães naturalmente infectados.

2.6.3 Aspectos clínico-laboratoriais em cães com LVC

2.6.3.1 Hematologia e bioquímica sérica

Os achados laboratoriais em cães com leishmaniose caracterizam-se por alterações hematológicas como anemia, frequentemente normocítica normocrômica arregenerativa (SOARES et al., 2005; REIS et al., 2006; AGUIAR et al., 2007; COSTA-VAL et al., 2007; DIAS et al., 2008), hiperglobulinemia, hipoalbuminemia, hiperproteinemia, trombocitopenia, leucocitose ou leucopenia associada à linfopenia (CIARAMELLA et al., 2003).

Anemia de origem multifatorial pode ocorrer secundária à inflamação crônica, insuficiência renal, perdas sanguíneas, hemólise, sequestro esplênico e hipoplasia ou aplasia de medula, acarretadas direta ou indiretamente pelo parasito (COSTA-VAL et al., 2007). Um estudo realizado em cães com LVC revelou anemia normocítica normocrômica em 80% animais (90/150 cães) (CIARAMELLA et al; 1997).

O aumento da proteína sérica total (hiperproteinemia) é uma observação laboratorial frequente em cães com LVC, sendo caracterizada pela elevação de gamaglobulinas (hiperglobulinemia) decorrente da resposta imune humoral com estimulação policlonal de linfócitos B, mediada pelos antígenos do protozoário, com subsequente produção de anticorpos e descrécimo do nível sérico de albumina (hipoalbuminemia). Apesar de a hipergamaglobulinemia estar presente em 80% dos cães doentes, não é patognomônica da doença. Hiperglobulinemia e hipoalbuminemia resultam em redução da razão albumina/globulina, que se torna inferior a 0,5 (KOUTINAS et al 1999; PEREIRA DA FONSECA; VILLA DE BRITO, 2008), no entanto, a elevação sérica das gamaglobulinas pode ser mascarada em quadros de intensa hipoalbuminemia. A hipoalbuminemia advém de perdas renais, redirecionamento da síntese protéica para globulinas, doenças hepáticas ou desnutrição (CIARAMELLA et al., 1997; REIS et al., 2006; MOURA et al., 2002; AMUSATEGUI et al., 2003; DE FREITAS, 2012).

Tanto a leucocitose (CIAMARELLA et al., 1997; MOURA et al., 2002; AMUSATEGUI et al., 2003; SOARES et al., 2005) como leucopenia (AMUSATEGUI et al., 2003; SOARES et al., 2005) são descritas em quadros de LVC. Eosinofilia associada a lesões cutâneas (DIAS et al., 2008) e trombocitopenias também foram relatadas em cães infectados (MOURA et al., 2002; SOARES et al., 2005).

Níveis séricos de ureia e creatinina elevados (azotemia) associados a nefropatias em cães com LVC são reportados com frequências variadas (NIETO et al., 1992; SOARES et al., 2005; COUTINHO et al 2005.; PLANELLAS et al 2009). Glomerulonefrite membranoproliferativa e nefrite túbulo-intersticial tem sido as lesões mais comumente descritas nestes animais (TAFURI et al., 1989; ALVAR et al., 2004; BONFANTI et al., 2004), tais

alterações apresentam desenvolvimento lento, progressivo e irreversível, interferindo na capacidade funcional do órgão, provocando quadros de proteinúria, que progridem para síndrome nefrótica ou insuficiência renal crônica (LOPEZ et al., 1996; FERRER, 1999; MOURA et al., 2002; BONFANTI et al., 2004). O desenvolvimento de insuficiência renal crônica tem sido relatado como a principal causa de óbito dos cães acometidos pela LVC (DIETZE, 1997).

2.6.3.2 Proteinúria em cães com LVC

As principais alterações urinárias identificadas em cães com LVC são poliúria, proteinúria, isostenúria ou presença de urina inapropriadamente diluída. A análise do sedimento urinário pode revelar cilindros hialinos ou finamente granulados (Canine Leishmaniasis Working Group – CLWG, 2007; PEREIRA DA FONSECA; VILLA DE BRITO, 2008). Cerca de 71 a 85% dos cães com LVC exibem proteinúria (BANETH, 2012). Em dois estudos conduzidos em populações de cães com LVC foram constadas ocorrências de proteinúria em 06/11 (COSTA et al., 2003) e 82 /105 (CORTADELLAS et al., 2006). Cortadellas et al (2008), ao avaliarem 155 cães naturalmente infectados apresentando diferentes estágios de doença renal crônica, observaram hiperfosfatemia em 3/25 (12%) cães no estágio 1a (creatinina < 1,4 mg/dl e P/C U 0,5 a 1), 4/34 (11,8%); no estágio 1b (creatinina < 1,4 mg/dl e P/C U >1), 11/22 (50%) no estágio 2 (creatinina 1,4 – 2 mg/dl), 30/39 (76,9%) no estágio 3 (creatinina 2,1 – 5 mg/dl) e, 9/9 (100%) no estágio 4 (creatinina > 5 mg/dl).

Ocorrência de P/C U elevada foi observada em dois estudos conduzidos em cães com LVC na prevalência de 54,6% (COSTA et al., 2003) e 41,5% (CORTADELLAS et al., 2006) correspondendo a uma população de 6/11 e 34/82 animais que apresentavam proteinúria, respectivamente. Em ambos os estudos, foi a proteinúria foi definida quando os valores de P/C U estavam acima de 1,0. Valores de P/C U > 1,0 foram observados em cães com glomeruloesclerose segmentar focal, glomerulonefrites membranoproliferativa, mesângio-proliferativa e crônica (COSTA et al., 2003).

2.6.2.3 Estadiamento clínico-laboratorial de cães com LVC

Solano-Gallego et al. (2011) propuseram diretrizes atualizadas para o estadiamento clínico da LVC. A classificação dos cães apenas pelo sinais clínicos (assintomáticos, oligossintomáticos e polissintomáticos) não inclui as disfunções orgânicas graves, as quais podem ocorrer independente dos sinais clínicos. Na glomerulonefrite secundária a leishmaniose visceral, por exemplo, a proteinúria discreta à moderada pode ocorrer sem quaisquer manifestações clínicas (GRAUER et al., 2005; LESS et al., 2005)

No atual esquema, os resultados de exames laboratoriais devem ser incluídos no estadiamento da doença, sendo a ocorrência e a intensidade da doença renal os principais indicadores da gravidade do quadro clínico (Solano-Gallego et al., 2011):

- Estágio 1: sinais clínicos discretos (linfadenomegalia e dermatite papular). Valores de creatinina sérica < 1,4 mg/dl e P/C U < 0,5.
- Estágio 2: diversos sinais clínicos (alopecia, descamação cutânea, ulcerações mucocutâneas, onicogribose, emaciação, epistaxe e hipertermia). Anemia arregenerativa, hipoalbuminemia e hiperglobulinemia. Valores de P/C U < 0,5 (sub-estágio A) ou entre 0,5-1 (sub-estágio B).
- Estágio 3: evidências laboratoriais de DRC (valores de P/C U > 1 e/ou valores de creatinina sérica entre 1,4 - 2 mg/dl).
- Estágio 4: evidências laboratoriais de DRC avançada (valores de creatinina sérica > 2 mg/dl).

2.6.3 Hipertensão arterial sistêmica em cães com LVC

Em cães com LVC, o levantamento primitivo da ocorrência de HSA foi realizado por Cortadellas et al. (2006). Neste estudo, 49,5% de 105 cães com LVC revelou algum grau de doença renal caracterizada por elevação dos níveis séricos de creatinina e da razão P/C U. A hipertensão sistêmica foi constatada em 61,5% dos cães com envolvimento renal. Três cães hipertensos não apresentaram sinais de doença renal. Em um segundo levantamento, os autores constataram a ocorrência de HAS em 34,7% de uma população de 26

cães com DRC, determinada por azotemia, relação proteína/creatinina urinária elevada e microalbuminúria (CORTADELLAS et al., 2008). Em nenhum destes trabalhos, a hipertensão arterial sistêmica foi correlacionada a resultados histológicos anormais. Em um levantamento recente, Braga et al. (2015) observaram prevalência de 8,8 % de hipertensão arterial em cães infectados. Na população total de cães do estudo, 83,3% revelaram valores de P/C U superiores a 0,5 (Braga et al., 2015).

2.6.4 Ultrassonografia renal em cães com LVC

A ultrassonografia pode detectar precocemente as alterações renais associadas à LVC. As alterações incluem redução do tamanho renal, contorno irregular, perda da definição da JCM e aumento da ecogenicidade cortical decorrentes do processo inflamatório promovido pela doença. Estes achados contribuem para o diagnóstico de DRC em cães com leishmaniose, contudo o diagnóstico definitivo deve ser associado aos sinais clínicos e laboratoriais (GAMA et al., 2009).

2.6.5 Histologia renal em cães com LVC

Diversos estudos realizaram investigação das alterações nos tecidos renais em cães com LVC, alguns demonstrando comprometimento do órgão em todos os animais avaliados (BENDERITTER et al., 1988; POLI et al., 1991; NIETO et al., 1992; COSTA et al., 2003). Glomerulonefrite membranoproliferativa associada à LVC foi descrita em 10 cães na Espanha (NIETO et al., 1992) e 11 na França (BENDERITTER et al., 1998). Lesões glomerulares foram constatadas em 34 cães (100%) naturalmente infectados por *Leishmania infantum*, 31/34 (91,2%) apresentaram lesões tubulares concomitantes (POLI et al., 1991). Neste estudo, as glomerulonefrites foram classificadas em mesângioproliferativa (21/34 cães) e membranoproliferativa (12/34 cães). Outro levantamento verificou ocorrência de lesões glomerulares em 41 cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral, as quais foram classificadas em glomerulonefrites membranoproliferativa (29,3%), membranosa (26,8%), proliferativa mesangial (21,9%) e glomeruloesclerose

segmentar focal (19,5%). Neste estudo, alterações túbulo-intersticiais, demonstradas em 23/41 (56%) cães ocorreram concomitantemente as lesões glomerulares e portanto não foram consideradas como lesões primárias (ZATELLI et al., 2003).

Um padrão histológico variado de lesões glomerulares, classificadas por meio dos critérios da OMS, foi descrito em um grupo de 55 cães naturalmente infectados por *L. chagasi*: glomerulonefrite membranoproliferativa (32,7%), glomerulonefrite mesângio-proliferativa (30,9%), glomeruloesclerose segmentar focal (18,2%), glomerulopatia com alterações mínimas (14,5%), glomerulonefrite em crescente (1,8%) e glomerulonefrite crônica (1,8%) (COSTA et al., 2003). Nefrite intersticial caracterizada por infiltrado inflamatório linfoplasmocitário foi observada em 53 (96,3%), sendo mais exuberante na cortical renal. Em 43 (78,2%) animais lesões tubulares, predominando degeneração e necrose, foram encontradas (COSTA et al., 2003). Glomerulonefrite crônica foi descrita em 7/11 (63,7%) cães com infecção natural por *leishmania infantum*, entretanto os autores relataram lesões renais variadas em todos os animais independente da presença de insuficiência renal (BENDERITTER et al., 1988). Em um estudo com 20 cães naturalmente infectados por *Leishmania sp.*, o parasito foi encontrado no mesângio e no infiltrado inflamatório intersticial em três animais, os quais tinham glomerulonefrite membranoproliferativa. As intensidades e tipos de alterações renais não foram correlacionadas a presença do parasita nos tecidos do órgão (FERRARI et al., 2010).

Atualmente, o padrão histológico das lesões renais que ocorrem na leishmaniose visceral canina encontra-se bem caracterizado. Contudo, as descrições da associação entre alterações histológicas e laboratoriais indicativas de doença renal são insuficientes para a compreensão dos mecanismos patogênicos da lesão (COSTA et al., 2003; CORTADELLAS et al., 2008). A evidência de doença renal por meio da concentração sérica de creatinina e da proteinúria foi estudada em cães com LVC. Laboratorialmente, algum grau de comprometimento renal foi constatado em 52 animais dos 105 cães avaliados, apresentando, respectivamente, proteinúria e azotemia em, respectivamente, 35/52 (67,3%) e 34/52 (65,3%) (CORTADELLAS et al., 2006).

Apesar das anormalidades histológicas renais na LVC terem sido amplamente descritas, o esclarecimento do mecanismo das lesões ainda é parco. Anteriormente, a maioria dos autores considerava que a patogênese da lesão renal, decorrente da deposição de imunocomplexos promovendo injúria glomerular tanto em cães quanto em humanos com leishmaniose visceral (TAFURI et al., 1989; COSTA et al., 2000). Atualmente, esta hipótese tem sido discutida considerando a presença de infiltrado celular nos tecidos renais e os mecanismos de imunidade celular associados a glomerulonefrites (COSTA et al., 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Verificar correlação entre os parâmetros laboratoriais, ultrassonográficos morfológicos, índices dopplerfluxométricos e classificação anatomopatológica de lesões renais parenquimatosas em cães com leishmaniose, por meio de um estudo prospectivo transversal de coleta de dados.

3.2 Específicos

Determinar a relação entre anormalidade ultrassonográficas renais e proteinúria em cães com leishmaniose visceral.

Determinar relação entre alterações ultrassonográficos e histológicas renais na leishmaniose visceral canina.

Determinar a relação concomitante entre aspectos do mapeamento Doppler colorido, lesões histológicas renais e proteinúria em cães com leishmaniose visceral.

Determinar relação entre o índice de resistividade das artérias intrarrenais, proteinúria e lesões histológicas renais em cães com leishmaniose visceral.

Verificar a associação entre os valores de pressão arterial sistêmica em cães com LVC e achados histológicos, sonográficas e laboratoriais pertinentes ao rim.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Este estudo foi realizado em uma amostra de 50 cães, sendo 40 animais com LVC oriundos do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande-MS e 10 cães saudáveis de tutores particulares.

4.2 Aspectos éticos

Ambos os grupos foram submetidos a exames laboratoriais, aferição da pressão arterial e avaliação ultrassonográfica renal bidimensional e Doppler. O estudo atendeu aos requisitos impostos pela Comissão de Ética no Uso de Animais de acordo com os princípios éticos na experimentação animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (protocolo CEUA/UFMS número 499/2013).

4.3 Critérios de inclusão no estudo

Foram incluídos 40 cães com diagnóstico sorológico positivo para LVC oriundos do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande- MS, peso corporal até dez quilos e idade entre um e cinco anos declarada pelo proprietário.

O grupo controle foi composto por 10 cães saudáveis de tutores particulares com diagnóstico sorológico negativo para LVC, obedecendo aos critérios quanto ao peso e idade determinados para o grupo experimental. O grupo controle foi utilizado com a finalidade de demonstrar padronização de normalidade das técnicas ultrassonográfica, laboratoriais e aferição de pressão arterial. Os animais foram selecionados de acordo com a disposição dos tutores em autorizar por meio do termo de consentimento livre e esclarecido para participação de seus animais neste estudo.

4.4 Confirmação diagnóstica para leishmaniose visceral canina

A avaliação sorológica foi realizada pelo Centro de Controle de Zoonoses do município, Campo Grande – MS, conforme o protocolo para o diagnóstico de leishmaniose visceral estabelecido pelo ministério da saúde (nota técnica 01/2011) que utiliza o teste rápido imunocromatográfico (DPP®) como teste de triagem e o ensaio imunoenzimático (ELISA) como confirmatório (BRASIL, 2011).

Exames parasitológicos por punção aspirativa com agulha fina de linfonodos e baço, foram realizados com o objetivo de identificar a infecção por meio da observação de formas amastigotas. As lâminas foram fixadas em metanol, coradas pela técnica de Panótico rápido e analisadas em toda a sua extensão por microscopia óptica em aumento de 1000 vezes.

Animais com presença de anticorpos anti-*Ehrlichia canis*, verificados por meio de teste imunocromatográfico¹, foram excluídos do estudo.

4.5 Aferição de pressão arterial sistêmica

A mensuração da pressão arterial foi realizada previamente aos exames ultrassonográficos e à coleta de amostras para exames hematológicos e bioquímicos. O protocolo de aferição da pressão arterial (PA) foi padronizado para todos os animais, sendo realizada anteriormente aos exames ultrassonográficos e coletas das amostras sanguíneas. A aferição da pressão arterial sistólica (PAS) foi obtida pelo método não invasivo empregando aparelho oscilométrico e manguitos infláveis aplicados ao membro torácico direito, entre o cotovelo e o carpo, utilizando-se de manguitos pediátricos e neonatais correspondendo a 40-50% da circunferência do local de aferição.

A PAS foi estimada pela média aritmética de cinco aferições, descartando-se o maior e menor valor (BROWN et al., 2007). Os animais foram classificados em normotenso (150 mmHg), *borderline* (151 a 160 mmHg), hipertenso (160 a 180mmHg) ou hipertenso grave (>180 mmHg) de acordo com as diretrizes da IRIS (2015).

¹ Senspert®, Vencofarma, Londrina, Paraná Brasil.

4.6 Avaliação ultrassonográfica bidimensional (Modo B)

Os exames ultrassonográficos foram realizados na VetDx Diagnostic em Campo Grande-MS. A varredura sonográfica foi realizada por um único operador utilizando aparelho de ultrassonografia² com recursos Doppler colorido, de amplitude e pulsado, e transdutor microconvexo multifrequencial 5-8 MHz, cuja frequência foi selecionada de acordo com o biótipo do animal. Os exames foram documentados por meio de arquivos digitais em extensão Jpeg.

Após tricotomia abdominal permitindo livre acesso renal, os cães foram posicionados em decúbito dorsal em calha acolchoada e lateralizados de acordo com a necessidade do exame. Por meio de janelas acústicas abdominais e paralombares direita e esquerda, os rins foram sistematicamente acessados em planos de sagitais, longitudinais e transversais, aplicando-se ajustes de profundidade e ganho de acordo com o porte do paciente. Imagens padronizadas em cortes longitudinais e transversais foram obtidas para todos os animais.

Ao modo B, os parâmetros morfométricos renais foram categorizados quanto ao tamanho, regularidade do contorno, ecogenicidade cortical, definição da junção corticomedular, aspecto do aparelho calicial e arquitetura.

As mensurações de comprimento e altura renal foram obtidas em cortes longitudinais e transversais, respectivamente. Para o comprimento renal foram tomados como referência os pontos mais extremos dos polos cranial e caudal. A largura foi determinada entre os pontos médios das faces dorsal e ventral, estabelecidos no centro da medida da altura em cada face. A aorta foi visibilizada em decúbito dorsal e seu diâmetro foi mensurado em plano longitudinal, a altura do rim esquerdo. As medidas longitudinais renais e diâmetro da aorta foram obtidas três vezes e calculadas as médias aritméticas simples. O tamanho renal foi estimado utilizando a razão dimensão longitudinal renal pelo diâmetro da aorta (MARESCHAL et al., 2000).

Os parâmetros morfológicos foram classificados no momento da varredura em contornos (regular/irregular); junção corticomedular

² Modelo DC3Mindray®, Bio-Medical Electronics Co. Ltda, Shenzhen – Guangdong.

(definida/perda de definição); ecogenicidade cortical (preservada, aumentada, reduzida), arquitetura (preservada/alterada). A ecogenicidade cortical foi determinada subjetivamente em comparação ao parênquima esplênico à esquerda e o parênquima hepático à direita. As avaliações ultrassonográficas foram realizadas sem o conhecimento dos resultados laboratoriais. Para efeito de comparação estatística os dados qualitativos receberam escores numéricos.

4.7 Avaliação ultrassonográfica Doppler

A avaliação Doppler colorido e pulsado foi procedida sequencialmente à varredura em modo B. A perfusão renal foi avaliada pelo mapeamento Doppler colorido configurando o menor PRF (taxa de repetição de pulso) sem que ocorresse artefato de *aliasing*. Foi aplicado em porções cranial, média e caudal de cada um dos rins objetivando observação das artérias renais, interlobares, arqueadas e interlobulares.

A perfusão renal foi avaliada bilateralmente por meio do Doppler colorido, de forma semiquantitativa, de acordo com a visibilização e preenchimento das artérias e veias renais interlobares, arqueadas e interlobulares em todo o parênquima renal, sendo graduada em escore: (0) normovascularizados, (1) discretamente hipovascularizado, (2) hipovascularizados e (3) ausência de sinal. Rins normovascularizados apresentavam bom preenchimento das artérias renais, interlobares e arqueadas. Os rins classificados como discretamente hipovascularizado apresentavam mal preenchimento dos vasos interlobulares. Foram considerados hipovascularizado quando o preenchimento das artérias arqueadas encontrava-se inadequado. A ausência de sinal ao Doppler colorido incluía rins nos quais não era possível identificar o preenchimento dos vasos renais. O mapeamento Doppler colorido foi realizado com transdutor convexo de 5-8 MHz, ajustando a caixa colorida sobre o órgão, com filtro de parede médio e baixo, ganho em nível máximo e menor frequência de repetição de pulso (PRF) sem que ocorresse *aliasing*.

A aferição quantitativa e indireta da resistência vascular renal foi obtida por meio do Doppler pulsado orientado pelo mapeamento colorido do fluxo vascular. O cursor foi posicionado nas artérias interlobares nas porções

craniais, média e caudais de cada um dos rins com ângulo de insonação inferior a 60°, volume de amostra entre 2 e 4 mm, filtro de parede baixo, com PRF ajustado de modo que não ocorresse artefato de *aliasing*. Após obter traçado espectral livre de artefatos, a imagem foi congelada para mensuração da velocidade sistólica máxima (VPS) e velocidade diastólica final (VDF) para obtenção do índice de resistividade (IR). A partir destes três valores foram obtidas as médias aritméticas do IR para cada rim. O valor limítrofe máximo para normalidade de IR considerado foi de 0,73 (CARVALHO, 2009).

4.8 Exames laboratoriais

Após implementação de jejum alimentar (12h) e hídrico (2h), amostras sanguíneas foram colhidas por venopunção da veia jugular. As amostras de urina foram coletadas assepticamente por cistocentese guiada pela ultrassonografia, acondicionadas em tubos coletores estéreis e imediatamente encaminhadas ao laboratório. As análises hematológicas, bioquímica sérica e urinálise foram realizadas pelo Diagno Vet Laboratório Veterinário em Campo Grande-MS.

Os valores totais de eritrócitos e leucócitos, hematócrito e concentração de hemoglobina foram obtidos por meio de analisador automático de células³. A contagem leucocitária diferencial foi obtida em lâminas de esfregaços sanguíneos, devidamente fixados e corados com solução de metanol, May-Grunwald e Giemsa⁴. O volume corpuscular médio (VCM) e a concentração corpuscular média de hemoglobina (CHCM) foram estimados por cálculos padrão. A contagem de plaquetas foi obtida manualmente em hemocitômetro e conferida em lâmina de esfregaço sanguíneo por técnico habilitado.

As concentrações séricas de creatinina e ureia, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), proteínas plasmáticas totais e albumina, cálcio total e fósforo foram dosadas por analisador bioquímico automatizado⁵ pelo

³ Poch-100iy, Roche®, Roche Brasil.

⁴ Kit Instant-Prov®, Newprov, Pr, Brasil.

⁵ Cobas 111, Roche®, Roche Brasil.

método colorimétrico utilizando-se o protocolo de *kits* comerciais⁶. A globulina foi determinada por meio da diferença entre albumina e proteína plasmática total. A razão albumina/globulina foi obtida por meio da divisão da albumina por globulina.

Amostras de urina foram submetidas à avaliação física, química e sedimentoscopia. O exame físico consistiu de observação macroscópica. A densidade urinária foi mensurada por meio de refratometria. Fitas reagentes⁷ foram utilizadas para quantificação de proteínas, glicose, acetona, sangue oculto e determinação do pH. O sedimento urinário analisado por meio de microscopia de luz após centrifugação da amostra.

A proteinúria foi mensurada pelo método colorimétrico do vermelho de pirogalol e creatinina urinária pelo método de Jaffé com leituras procedidas em aparelho automático utilizando reagentes bioquímicos⁸. Para a determinação da razão proteína creatinina urinária (P/C U) utilizou-se da fórmula:

$$P/C\ U = UPT\ (mg/dl)/UCR\ (mg/dl)$$

Na qual:

P/C U= razão proteína/creatinina urinária;

UPT = concentração urinária de proteínas;

UCR = concentração urinária de creatinina

A proteinúria de origem renal foi classificada com base nos valores de P/C U (IRIS 2015 – CKD) e avaliação do sedimento urinário. Animais com valores de P/C U <0,5 foram considerados não proteinúricos. Em cães com valores > 0,5 o sedimento urinário foi criteriosamente avaliado. Animais com valores de P/C U entre 0,5 e 2,0 foram considerados não proteinúricos ou proteinúricos frente à observação de sedimento ativo e inativo, respectivamente. Animais com valores de P/C U acima de 2,0 foram categorizados como proteinúricos (LESS et al., 2005; GRAUER, 2011) e o sedimento urinário categorizado em ativo ou inativo segundo critérios padronizados pela literatura científica (CHEW e DIBARTOLA, 1998).

⁶ Roche®, Roche Brasil

⁷ Uriquest® Labtest Diagnóstica S. A.; Lagoa Santa, M.G.; Brasil

⁸ Labtest®, Labtest Diagnóstica S. A.; Lagoa Santa, M.G.; Brasil.

4.9 Eutanásia dos animais

Os cães identificados como positivos para LVC foram submetidos à eutanásia pela equipe técnica do Centro de Controle de Zoonoses do município de Campo Grande – MS, de acordo com a política sanitária adotada pelo Ministério da Saúde conforme portaria interministerial 1426, de 11 de julho de 2008 (Brasil, 2008), que proíbe o tratamento desta enfermidade em cães no país. Os animais do grupo controle não foram eutanasiados.

4.10 Processamento histológico renal

Os cães do grupo LVC foram necropsiados obedecendo a técnicas padronizadas. Os rins foram rapidamente retirados, avaliados macroscopicamente e seccionados. Os fragmentos renais foram colhidos e fixados em solução de formaldeído tamponado a 10%. Após a fixação adequada, as amostras foram incluídos em parafina. Cortes com 3 µm de espessura foram obtidos por microtomia e corados pela técnica hematoxilina-eosina. Os cortes foram examinados em microscópio óptico universal (Zeiss®). O processamento das amostras teciduais renais foi realizado no laboratório de patologia geral do CCBS-UFMS.

As lesões renais foram qualificadas em alterações glomerulares, intersticiais e tubulares conforme diretrizes estabelecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para doenças renais (CHURG et al., 1985). Dentre as lesões glomerulares a classificação incluía: glomeruloesclerose segmentar focal (GNSF), glomerulonefrite membranoproliferativa (GNMP), glomerulonefrite proliferativa mesangial (GNPM), glomerulonefrite membranosa (GNM), glomerulonefrite crescêntica, e glomerulonefrite crônica (CHURG et al., 1985). A distribuição e a intensidade das lesões glomerulares e tubulares foram classificadas semi-quantitativamente em uma escala de 0 a 3, em que 0 indica ausência de alterações; 1 = discreta, 2 = moderada e 3 = intensa. As lesões intersticiais foram graduadas em ausente (0), focal discreta (1), multifocal moderada (2) e difusa grave (3). As secções, em sua totalidade, foram avaliadas quanto à presença de formas amastigotas de *Leishmania sp.*

4.11 Análise Estatística

Os resultados relativos à hematimetria, albuminemia, proteínas plasmáticas totais, atividades séricas de ureia e creatinina, razão U/P C foram analisados empregando-se análise de variância – ANOVA. Quando apontadas diferenças entre médias o teste de Tukey foi aplicado.

As variáveis ecobiométricas renais, razão R/Ao e índice de resistividade foram analisados empregando-se análise de variância – ANOVA. Quando apontadas diferenças entre médias o teste de Duncan foi aplicado.

A análise de correlação de Pearson foi empregada na comparação entre as variáveis ecobiométricas e as medidas pós-mortem de rins esquerdo e direito para cada grupo.

Para comparação entre as variáveis qualitativas (proteinúria, contorno, ecogenicidade cortical, definição de junção corticomedular, perfusão renal ao Doppler colorido), foi aplicado o teste do Qui-quadrado (χ^2) no nível de confiança de 95%.

As análises foram realizadas por meio do software Statistical Package for the Social Sciences (IBM SPSS). Foi estabelecido um erro $\alpha=5\%$, isto é, os resultados dos testes foram considerados estatisticamente significativos somente quando $p < 0,05$.

REFERÊNCIAS

- ACIERNO, M.J.; LABATO, M.A. Hypertension in renal disease: diagnosis and treatment. **Clinical Technology Small Animal in Practice**, n. 20, p.23–30, 2005.
- ALBUQUERQUE, B. C.; MAIA, F. C.; LIMA, A. M. A.; DE ALBUQUERQUE, E. R.; PIMENTEL, D. D. S.; ALVES, L. C. Alterações estruturais em rins de caninos naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 03-05, 2008.
- ALEXANDRE-PIRES, G.; DE BRITO, M. T. V.; ALGUERÓ, C.; MARTINS, C.; RODRIGUES, O. R.; DA FONSECA, I. P.; SANTOS-GOMES, G. Canine leishmaniasis. Immunophenotypic profile of leukocytes in different compartments of symptomatic, asymptomatic and treated dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.137, n.3, p. 275-83, 2010.
- ALVAR, J.; CAÑAVATE, C.; MOLINA, R.; MORENO, J.; NIETO, J. Canine leishmaniasis. **Advances in Parasitology**, v. 57, n. 1, p. 1-87, 2004.
- AMUSATEGUI, I.; SAINZ, A.; RODRIGUEZ, F.; TESOURO, M. A Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. **European Journal of Epidemiology**, v. 18, n. 2, p. 147-156, 2003.
- ANDRADE, G. B.; BARRETO, W. T. G.; SANTOS, L. L.; RIBEIRO, L. R. R.; MACEDO, G. C.; SOUSA, K. C. M.; ANDRE, M. R.; MACHADO, R. Z.; HERRERA, H. M. Pathology of dogs in Campo Grande, MS, Brazil naturally co-infected with *Leishmania infantum* and *Ehrlichia canis*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.23, n.4, p.509-515, 2014.
- BANETH, G.; AROCH, I. Canine leishmaniasis: A diagnostic and clinical challenge. **Veterinary Journal**, v.175, n.1, p.14-15, 2008.
- BANETH, G.; SOLANO-GALLEGU, L. Canine leishmaniosis, In: GREENE, C. E. Infectious diseases of the dog and cat. 4.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012. p. 735-746

BARSANTI, J. A.; LEES, G.E.; WILLARD, M.D.; GREEN, R.A. Urinary disorders. In: WILLARD, M. D.; TVEDTEN, H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. 4th Missouri: Saunders, 2004. 460 p.

BARTGES, J.W. Hypertension and renal disease. **Veterinary Clinics of North American**, v. 26, n. 6, p. 1331-1345, 1996.

BENDERITTER, T.H.; CASANOVA, P.; NASHKIDACHVILI, L. Glomerulonephritis in dogs with canine leishmaniasis. *Annals of **Tropical Medicine and Parasitology***. v.82, p.335-341, 1998.

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**. n. 24, p.45-51, 2015

BRANTSMA, A. H.; BAKKER, S. J.; DE ZEEUW, D.; DE JONG, P. E.; GANSEVOORT, R. T. Extended prognostic value of urinary albumin excretion for cardiovascular events. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 19, n. 9, p. 1785-1791, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral, 2014.

BROWN S. Introduction from the international renal interest society. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, p. 1939-1676, 2013.

BROWN, S.; ATKINS, C.; BAGLEY, R.; CARR, A.; COWGILL, L.; DAVIDSON, M.; LITTMAN, M. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 3, p. 542-558, 2007.

BUSH, B. M. Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais. 2. ed. São Paulo: Roca, 2004. 426 p.

CAPOTONDO, L.; NICOLAI, G.A.; GAROSI, G. The role of color Doppler in acute kidney injury. **Archives of Italian Urology and Andrology**, v. 82, n.4, p. 275-9, 2010.

CARVALHO, A.P.M.; SALAVESSA, C.M.; SILVEIRA, L.S. Ultrassonografia e histopatologia renal em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.4, p.1015-1017, 2010.

CHETBOUL, V.; DASTE, T.; GOUNI, V.; CONCORDET, D.; TREHIOU-SECHI E.; SERRES, F.; POUCHELON, J.L.; GERMAIN, C.A.; LAYSSOL-LAMOUR, C; LEFEBVRE H.P. Renal resistive index in 55 dogs with degenerative mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine** v. 26, p.101-108. 2012.

CHOI, H.; WON, S.; CHUNG, W.; LEE, K.; CHANG, D.; LEE, H.; YOON, J. Effect of intravenous mannitol upon the resistive index in complete unilateral renal obstruction in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 2, p. 158-162, 2003.

CHURG, J.; BERNSTEIN, J.; GLASSOCK, R.J. (1985). Renal disease: classification and atlas of glomerular disease. 2.ed. New York: Igaku-Shoin, 541p.

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

CORTADELLAS, O. 2012. Manual de Nefrologia e Urologia Clínica Canina e Felina. MedVet Ltda, São Paulo, p. 246.

CORTADELLAS, O. DEL-PALACIO, M.J.; BAYÓN, A.; ALBERT, A. TALAVERA, J. Systemic hypertension in dogs with leishmaniasis: prevalence and clinical consequences. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 20, p.941-947. 2006.

CORTADELLAS, O.; DEL-PALACIO, M.J.; TALAVERA, J. BAYÓN, A. Glomerular filtration rate in dogs with leishmaniasis and chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine** v. 22, p. 293-300, 2008.

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

COSTA, C.A.; MAYRING, W.; DIAS, M. (2000) Leishmaniose visceral americana. In: NEVES, D.P. Parasitologia Humana. 10.ed. São Paulo: Atheneu, p.56-72.

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

COUTINHO, J.F.V.; XIMENES, M.F.F.M.; JERÔNIMO, S. M. B.; CARVALHO, G.F.; QUIEROZ, P.V.S.; BATISTA, L.M.M.; CARLOTA, F.C.A. Estudo clínico-laboratorial e histopatológico em cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi*. Revista Universidade Rural, **Série Ciências da Vida**, v. 25, n.1, p. 123-124, 2005.

D'ANJOU M. Kidneys and ureters In: Penninck D. & D'Anjou M. Atlas of Small Animal Ultrasonography, Lipincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2008. 339-364p.

DE FREITAS, J. C. C.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S.; DE ABREU, C. R. A.; LOPES-NETO, B. E.; SANTOS, G. J. L.; BRAGA, R. R.; CAMPOS, R. M. Alterações clínicas e laboratoriais em cães naturalmente infectados com *Leishmania spp*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 1, 2012.

DIAS, C.Z. Estudo das alterações clinico-laboratoriais e histológicas renais em cães com leishmaniose visceral naturalmente infectados no distrito federal. **Dissertação de Mestrado**, Universidade de Brasília. Brasília, DF. 82p., 2008.

DIAS, F. O. P. L.; 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.

DIETZE, R.; BARROS, G.B.; TEIXEIRA, L.; HARRIS, J.; MICHELSON, K.; FALQUETO, A.; COREY, R. Effect of eliminating seropositive canines on the transmission of visceral leishmaniasis in Brazil. **Clinical Infectious Diseases**, v. 25, p. 1240-2, 1997.

DYCE, E.T.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. The pelvis and reproductive organs of the dog and cat. In: DYCE, E.T.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 4 ed. Saunders Elsevier, St. Louis. **2012**. 139p.

ELLENPORT, C.R. Aparelho Urogenital do Carnívoro. In: GETTY, R. **Sisson e Grossman: Anatomia dos animais domésticos**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.2, 1986, 1481-1482 p.

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

FERRARI, H.F.; CARREIRA, V.S.; MOREIRA, M.A.B.; MATTA, V.R.D.; HAGA, C.H.; LUVIZOTTO, M.C.R., Morphological, Immunohistochemical and molecular study of renal lesions in canine visceral leishmaniasis (CVL). **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 1, p. 123-131, 2010.

FERRER, L. Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM. Barcelona, Spain. Canine Leishmaniasis: an update. Wiesbaden: Hoeschst Roussel Vet, 1999. p.6.

FRAGA, J.; MONTALVO, A. M.; DE DONCKER, S.; DUJARDIN, J.-C.; VAN DER AUWERA, G. Phylogeny of Leishmania species based on the heat-shock protein 70 gene. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 10, n. 2, p. 238-245, 2010.

FRANCESCHI, A.; MERILDI, V.; GUIDI, G.; MANCIANTI, F. Occurrence of Leishmania DNA in urines of dogs naturally infected with leishmaniasis. **Veterinary Research Communications**, v.3, n. 3, p. 335-341, 2007

GALESIC, K.; SABLJAR-MATOVINOVIC, M.; TOMIC, M.; BRKLJACIC, B. Renal vascular resistance in glomerular diseases--correlation of resistance index with biopsy findings. **Collegium Antropologicum**; v. 28, n.2, p. 667-674, 2004.

GAMA, R. O. G.; LARANGEIRA, D. F.; AGUIAR, P. H. P.; BARROUIN-MELO, S. M. Ultrasound Evaluation of the Kidneys of Dogs with Visceral Leishmaniasis World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings, 2009.

GARCIA, P.H.S., CRIVELLENTI, L.Z., FELICIANO, M.A.R. 2015. Rins. In: FELICIANO, M.A.R, CANOLA, J.C, VICENTE, W.R.R. **Diagnóstico por Imagem em Cães e Gatos**. São Paulo: MedVet. p. 410-441.

GENARO, O. Leishmaniose visceral canina experimental. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 202p.,1993.

GOMES, L. A.; GOTO, H.; GUERRA, J. L.; MINEIRO, A. L.; SILVA, S. M.; COSTA, F. A. Lesões renais intersticiais e tubulares na leishmaniose visceral Renal lesions in interstitium and tubule in visceral leishmaniasis. **Revista Portuguesa De Ciências Veterinárias**, n.157, p.157-163, 2008.

GRAUER, G. F. Measurement, interpretation, and implications of proteinúria and albuminuria. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 37, n. 2, p. 283-295, 2007.

GRAUER, G. F. Proteinúria: Measurement and Interpretation. **Topics in Companion Animal Medicine** v.26 n. 3 p. 121 127, 2011

HARLEY, LEYENDA; CATHY LANGSTON. Proteinúria in Dogs and Cats. **The Canadian Veterinary Journal**. V.53, n.6, p. 631–638. 2012

IKEE, R.; KOBAYASHI, S.; HEMMI, N.; IMAKIIRE, T.; KIKUCHI, Y.; MORIYA, H.; SUZUKI, S.; MIURA, S. Correlation between the resistive index by Doppler ultrasound and kidney function and histology. **American Journal Kidney Diseases**; v.46, n.4, p. 603-609, 2005.

International Renal Interest Society IRIS. IRIS Guidelines (online). 2015. Acesso em. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com/guidelines/>.

JACOB, F.; POLZIN, DJ.; OSBORNE, C.A. Evaluation of the association between initial proteinúria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. **Journal American Veterinary Medical Association**. V. 226, p. 393–400. 2005;

JANTHUR, M.; WIRTH, W. Sonographic appearance of the canine kidney compared with pathologic-histologic morphology. **Berl Munch Tierarztl Wochenschr**; v.110, n.3, p. 102-110, 1997

KOMURO, K. Evaluation of kidney circulation using duplex Doppler ultrasonography. **Rinsho Byori**; v.58, n.8, p.816-822, 2010.

KÖNIG, H.E.; RUBERTE, J.; LIEBICH, H.G. Aparelho urogenital. In: König H.E.; Maierl J.; Liebich H.G. **Anatomia dos Animais Domésticos Órgãos e Sistemas**. 3ª ed. Artmed, Porto Alegre. 2004. 70p

KOUTINAS, A. F.; KOUTINAS, C. K. Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum/chagasi*. **Veterinary Pathology**, v. 51, n. 2, p. 527-538, 2014.

KOUTINAS, A.F.; POLIZOPOULOU, Z.S.; SARIDOMICHELAKIS, M.N.; ARGYRIADIS, D.; FYTIANOU, A.; PLEVRAKI, K.G. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.35, n.5, p.376-383, 1999.

LARSON, MM. Rins e Ureteres In: O'BRIEN, R; BARR, F. **Manual de Diagnóstico por Imagem Abdominal de Cães e Gatos**. Ed:Roca.2012. 225p.

LEE, K.; CHOI, M.; YOON, J.; JUNG, J. Spectral waveform analysis of major arteries in conscious dogs by Doppler ultrasonography. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 45, n. 2, p. 166-171, 2004.

LEES, G.E.; BROWN, S.A.; ELLIOT, J.; GRAUER, G.F.; VADEN, S.L. Assessment and management of proteinúria in dogs and cats: 2004 ACVIM forum consensus statement (small animal) **Journal Veterinary of Internal Medicina**. n. 19, p. 377–385, 2005.

LEES, G. E. Early diagnosis of renal disease and renal failure. *Veterinary Clinics of North America*. **Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 34, n. 4, p. 867-885, Nov. 2004.

LEITE, R.S.; SOUZA, N.A.; BARBOSA, A.D.; FERREIRA, A.L.C. ANDRADE A.S.R. Evaluation of conjunctival swab as a mass-screening tool for molecular

diagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Parasitology Research**, v. 144, n. 6, p. 2255-2262, 2015.

LITTMAN, M. P.; DAMINET, S.; GRAUER, G. F.; LEES, G. E.; DONGEN, A. M. Consensus recommendations for the diagnostic investigation of dogs with suspected glomerular disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. s1, 2013.

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

LUTZ, A.; NEIVA, A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 4, n. 84-95, 1912.

MANCIANTI, F.; GRAMICCIA, M.; GRADONI, L.; PIERI, S. Studies on canine leishmaniasis control. Evolution of infection of diferente clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. **Transactions of the Royal Society, of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82, n. 4, p. 566-567, 1988.

MARESCHAL, A.; D'ANJOU, M.; MOREAU, M.; ALEXANDER, K.; BEAUREGARD, G. Ultrasonographic measurement of kidney-to-Aorta ratio as a method of estimating renal size in dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.48, p.434-438, 2007.

MARQUES-SAMPAIO, B. P.; PEREIRA-SAMPAIO, M. A.; HENRY, R. W.; FAVORITO, L. A.; SAMPAIO, F. J. Dog kidney: anatomical relationships between intrarenal arteries and kidney collecting system. **The Anatomical Record**, v. 290, n. 8, p. 1017-1022, 2007.

MARTÍN, C. M.; SOUTO, C. K.; FERRANTE, B.; FONSECA-PINTO, A. C. B. Ultrassonografia modo B e Doppler na avaliação renal de cães após administração intravenosa de meio de contraste iodado: validação da técnica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 9, p. 801, 2015.

MELO, M.B.; VEADO, J.C.C.; SILVA, E.F.; MOREIRA, S.M.; PASSOS, L.M.F. Dopplerfluxometria das artérias renais: valores normais das velocidades

sistólica e diastólica e do índice resistivo nas artérias renais principais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.691-693, 2006.

MEOLA, M.; PETRUCCI, I.; GIOVANNINI, L.; SAMONI, S.; DELLAFIORE, C. Ultrasound and color Doppler applications in nephrology. The normal kidney: anatomy, vessels and congenital anomalies **Giornale Italiano di Nefrologia**.v.29, n.3, p.333-47, 2012.

MITCHELL, S.K., TOAL, R.L., DANIEL, G.B., ROHEBACH, B.W. Evaluation of renal hemodynamics in awake and isoflurane-anesthetized cats with pulsed-wave Doppler and quantitative renal scintigraphy. **Veterinay Radiology & Ultrasound**. v.39, n.5, p.451-458, 1998.

MIYAMOTO, T.; SHIRAHAMA, M.; KIRYU, C. Comparison of systemic and renal hemodynamics measured by Doppler ultrasonography in canine experimental hypovolemia. **Journal of Veterinary Medical Science**.; v.59, p.347-352, 1997.

MORROW, K.L.; SALMAN, M.D.; LAPPIN, M.R.; WRIGLEY, R. Comparison of the resistive index to clinical parameters in dogs with renal disease. **Veterinay Radiology & Ultrasound**. v.37, n.3, p.193–196, 1996.

MOURA, R.O.D. Alterações renais em cães (Canis familiaris) sorapositivos para leishmaniose: aspectos clínicos, laboratoriais e histopatológicos. **Revista Brasileira de Medicina Vetereinária**, n.4, p.61-64, 2002.

NIETO, C. G.; NAVARRETE, I.; HABELA, M. A.; SERRANO, F.; REDONDO, E. Pathological changes in kidneys of dogs with natural Leishmania infection. **Veterinary Parasitology**, v. 45, n. 1-2, p. 33-47, 1992.

NYLAND, T.G.; FISHER, P.E.; DOVERSPIKE, M.; HORNOF, W.J.; OLANDER, H.J. Diagnosis of urinary tract obstruction in dogs using duplex Doppler ultrasonography. **Veterinay Radiology & Ultrasound** v.34, n.5, p.348-352, 1993.

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

leishmaniasis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.36, n.11, p.1184-1191, 2010.

PEREIRA DA FONSECA, I. M.; VILLA DE BRITO, M. T. Capítulo VI: Diagnóstico. *Leishmaniose canina*, 2008. 83-92p.

PETERSEN, L.J.; PETERSEN, J.R.; TALLERUPHUUS, U.; LADEFOGED, S.D.; MEHLSEN, J.; JENSEN, H.A. The pulsatility index and the resistive index in renal arteries. Associations with long-term progression in chronic renal failure. **Nephrol.Dial.Transplant**. v.12, n.7, p.1376-1380, 1997.

PLANELLAS, M.; ROURA, X.; LLORET, A. Presence of renal disease in dogs with patent leishmaniasis. **Parassitologia**, v. 51, n. 1-2, p. 65-68, 2009.

PLATT, J.F.; ELLIS, J.H.; RUBIN, J.M.; DIPIETRO, M.A.; SEDMAN, A.B. Intrarenal arterial Doppler sonography in patients with nonobstructive renal disease: correlation of resistive index with biopsy findings. **American Journal Roentgenology**. v.154, n.6, p.1223-1227, 1990.

PLATT, J.F.; RUBIN, J.M.; ELLIS, J.H. Acute renal failure: possible role of duplex Doppler US in distinction between acute prerenal failure and acute tubular necrosis. **Radiology**. v.179, n.2, p.419-423, 1991.

POLI, A.; ABRAMO, F.; MANCIANTI, F. Renal involvement in canine leishmaniasis: a light-microscopic, immunohistochemical and electron-microscopic study. **Nephron**, v.57, p.444-452, 1991.

POURCELOT, L. Applications cliniques de l'examen Doppler transcutane. In: Peronneau P. Velocimetrie Ultrasonore Doppler. Semin Inserm, Paris. 1974. 213-240p.

PRABAHAR, M.R.; UDAYAKUMAR, R.; ROSE, J.; FERNANDO, E.M.; VENKATRAMAN, R.; BALARAMAN, V.; MANORAJAN, R.; AMALRAJ, R.E.; JAYAKUMAR, M. Prediction of tubulo-interstitial injury by Doppler ultrasound in glomerular diseases: value of resistive and atrophic indices. **Journal of the Association of Physicians of India**; v.56, p.21-26, 2008.

PRIANTI, M. G.; YOKOO, M.; SALDANHA, L. C. B.; COSTA, F. A. L.; GOTO, H. Leishmania (Leishmania) chagasi-infected mice as a model for the study of

glomerular lesions in visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 6, p. 819-823, 2007.

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

REUSCH, C E.; SCHELLENBERG, S; WENGER, M. Endocrine hypertension in small animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 40, n. 2, p. 335-352, 2010.

RIGO, R. S.; CARVALHO, C. M. E.; HONER, M. R.; ANDRADE, G. B.; SILVA, I. S.; RIGO, L.; FIGUEIREDO, H. R.; BARRETO, W. T. G. Renal histopathological findings in dogs with visceral leishmaniasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 2,p. 113-116, 2013.

RIVERS, B.J.; WALTER, P.A.; LETOURNEAU, J.G.; FINLAY, D.E.; RITENOUR, E.R.; KING, V.L. Duplex Doppler estimation of resistive index in arcuate arteries of sedated, normal female dogs: implications for use in the diagnosis of renal failure. **Journal American Animal Hospital Association**. v.33, n.1, p.69-76, 1997.

RIVERS, B.J.; WALTER, P.A.; POLZIN, D.J.; KING, V.L. Duplex doppler estimation of intrarenal pourcelot resistive index in dogs and cats with renal disease. **Journal American Animal Hospital Association**. v.11, n.4, p.250-260, 1996.

ROMERO, G. A. S.; BOELAERT, M. Control of visceral leishmaniasis in latin America A systematic review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 1, p. 584, 2010.

ROSS, R. Further notes on Leishman's bodies. **British Medical Journal**, v.2, n.2239, p.1401, 1903.

SAJJARENGPONG, K.; ADIREKTAWORN, A. The variations and patterns of renal arteries in dogs. **The Thai Journal of Veterinary Medicine**, v. 36, n. 1, p. 39-46, 2006.

SALINAS, P.; SCHWERTER, R. Anatomía del Segmento Prehiliar de la Arteria Renal en Caninos. **International Journal of Morphology**, v. 33, n. 3, p. 1027-1031, 2015.

SILVA, L. C.; CASTRO, R. S.; FIGUEIREDO, M. M.; MICHALICK, M. S.; TAFURI, W. L. Canine visceral leishmaniasis as a systemic fibrotic disease. **Int Journal Experimental Pathology**, v. 94, n. 2, p. 133-143, 2013.

SILVA, T. R. R. D.; ASSIS, M. D. G.; FREIRE, M. P.; RÊGO, F. D.; GONTIJO, C. M. F.; SHIMABUKURO, P. H. F. Molecular detection of *Leishmania* in sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) collected in the caititu indigenous reserve of the municipality of Iábreá, state of Amazonas, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 51, n. 6, p. 1276-1282, 2014.

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

SOARES, M.J.V.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. Renal involvement in canine leishmaniasis: a morphological and immunohistochemical study. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 4, p. 785-790, Aug. 2009.

SOLANO-GALLEGO, L.; KOUTINAS, A.; MIRÓ, G.; CARDOSO, L.; PENNISI, M.G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v.165, n.1, p.1-18, 2009.

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

SONODA, M. C.; ROSSI, C. N.; LAURENTI, M. D.; LARSSON, C. E. (2013). Estudo retrospectivo de casos caninos de leishmaniose atendidos na cidade de São Paulo, Brasil (1997-2007) **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 741-758, 2013.

SUGIURA, T.; NAKAMORI A; WADA A; FUKUHARA Y. Evaluation of tubulointerstitial injury by Doppler ultrasonography in glomerular diseases. **Clinical Nephrology**, v.61, n.2, p. 119-126, 2004

SZATMÁRI V.; SÓTONYI P.; VÖRÖS K. Normal duplex Doppler waveforms of the major abdominal blood vessels in dogs: A review. **Veterinary Radiology & Ultrasound** v.42, p.93-107, 2001.

TAFURI, W. L.; MICHALICK, M. S. M.; DIAS, M.; GENARO, O.; LEITE, V. H. R.; BARBOSA, A. J. A.; BAMBIRRA, E. A.; DA COSTA, C. A.; MELO, M. N.; MAYRINK, W. Histopathology and immunocytochemical study of type 3 and type 4 complement receptors in the liver and spleen of dogs naturally and experimentally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.38, n.2, p.81-89, 1996.

TORRES, M. M.; ALMEIDA, A. B.P. F.; SORTE, E. C.B.; PAULA, D. A. J.; OLIVEIRA, A. C. S.; PESCADOR, C. A.; MENDONÇA, A. J.; NAKAZATO, L. SOUSA, V. R. F. Associação da carga parasitária renal com achados laboratoriais em cães com leishmaniose visceral. **Ciência Rural**, v. 43, n. 5, p. 894-896, 2013.

VAC, M.H. (2014). Sistema Urinário: Rins, Ureteres, Bexiga Urinária e Uretra. In: Carvalho, C.F. **Ultra-sonografia em Pequenos Animais**. Roca: Rio de Janeiro, p.133-181.

VADEN, S. L.; ELLIOTT, J. Management of Proteinúria in Dogs and Cats with Chronic Kidney Disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 46, n. 6, p. 1115-1130, 2016.

WALTER, P.A.; FEENEY, D.A.; JOHNSTON, G.R.; O'LEARY, T.P. Ultrasonographic evaluation of renal parenchymal diseases in dogs: 32 cases (1981-1986). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 191, n. 8, p. 999-1007, 1987.

WEHNER, A.; HARTMANN, K.; HIRSCHBERGER, J. Associations between proteinúria, systemic hypertension and glomerular filtration rate in dogs with renal and non-renal diseases. **Veterinary Records**, v.162, p.141–147, 2008.

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