

ROSÂNGELA SILVA RIGO

**ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS RENAIIS NA LEISHMANIOSE VISCERAL
(CALAZAR): MODELO DE DOENÇA EM CÃES**

**CAMPO GRANDE
2013**

ROSÂNGELA SILVA RIGO

**ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS RENAIIS NA LEISHMANIOSE VISCERAL
(CALAZAR): MODELO DE DOENÇA EM CÃES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul como parte dos requisitos necessários a obtenção do título de doutor.

Orientador: Profa. Dra. Iandara Schettert Silva.

Co-orientador: Prof Dr. Cristiano Marcelo Espinola Carvalho

**CAMPO GRANDE
2013**

*“A maior recompensa de nosso trabalho não é
o que nos pagam por ele, mas aquilo em que
ele nos transforma.”*

John Ruskin

A Larissa e Leonardo meus companheiros de
jornada e de fé, por me ensinarem a ser forte,
dedicada e perseverante.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela nossa existência.

A meus pais por me tornarem gente

Ao Dr Michael Robin Honer por acreditar na minha ideia e pela oportunidade de crescer intelectualmente.

Aos meus pacientes, grande motivação de minha pesquisa.

Aos cães sem os quais não concluiria esta pesquisa.

À Dra Iandara Schetter Silva minha oficial orientadora, pela ajuda e guia na conclusão deste trabalho.

À Dra Gisele Andrade pela dedicação, amizade e pelos conhecimentos em Patologia animal.

Ao Dr Cristiano Espinola sem o qual também não chegaria até aqui na conclusão de nossa pesquisa.

À Dra Lourdes (patologista do HU) pela revisão das lâminas.

A todos que de maneira direta ou indireta me ajudaram a construir este estudo.

RESUMO

Sendo a Leishmaniose Visceral uma doença emergente e de grande importância em saúde pública, e as alterações renais que a mesma provoca um fator importante na sua morbidade e mortalidade. Buscou-se caracterizar histopatologicamente, as lesões renais causadas pelo parasita, utilizou-se material de 100 cães naturalmente infectados com *Leishmania (L.) chagasi*, e material renal 5 cães também naturalmente infectados para avaliar as lesões após 21 dias de tratamento com antimoniato. As glomerulonefrites e lesões tubulointersticiais foram classificadas segundo critérios da Organização Mundial de Saúde e Banff modificado. O acometimento renal mostrou-se freqüente nos casos estudados e o padrão de lesão renal foram a glomerulonefrite membranoproliferativa e a membranosa, sendo também freqüentes as alterações tubulointersticiais. O modelo de doença em cães reproduziu as alterações renais causadas pelo parasita descritas em humanos, assim como as lesões observadas com o uso de antimoniato; com tendência a normalização da função renal no decorrer do pós-tratamento, desde que não exista grande comprometimento da função renal antes do tratamento. Concluiu-se que é de extrema importância na leishmaniose humana a avaliação da função renal tanto no momento do diagnóstico assim como no decorrer do tratamento desta doença.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral, Leishmaniose visceral canina, antimoniato, nefropatia na leishmaniose.

ABSTRACT

Renal histopathological findings in visceral leishmaniasis (kala-azar): the model disease in dogs

Visceral leishmaniasis is an emerging disease of great importance in Public Health and renal alterations it causes a major factor in morbidity and mortality. We sought to characterize histopathologically, the renal lesions caused by the parasite; using material was renal hundred dogs naturally infected with *Leishmania (L.) chagasi*, and material renal five dogs naturally infected also to evaluate the lesions after treatment for twenty-one days with antimony. The glomerulonephritis and tubulointerstitial lesions were classified according to criteria of the World Health Organization and modified Banff. The renal involvement showed up frequently in the cases studied and the pattern of renal lesion were glomerulonephritis membranoproliferative and membranous; being too frequent alterations tubulointerstitial. The model reproduced the disease in dogs renal alterations caused by the parasite described in humans; as well as the lesions observed with the use of antimony; with tendency to normalization of renal function during the post treatment, since there is not severely compromised renal function before it. We conclude that the assessment of renal function becomes of relevant importance not only for the diagnosis as well as during the disease.

Keywords: Visceral leishmaniasis, Canine visceral leishmaniasis, Antimoniate, Nephropathy in leishmaniasis.

LISTA DE TABELAS

Distribution of renal morphological findings, according to Banff classification* in 100 dogs naturally infected with <i>Leishmania sp</i> , Campo Grande, MS, July-August 2010.....	25
Percentage distribution of glomerulonephritis found in dogs naturally infected with <i>Leishmania sp</i> , according to the presence of clinical symptoms, Campo Grande, MS, July-August 2010.....	27
Tubulointerstitial findings, according to the glomerulonephritis found in dogs naturally infected with <i>Leishmania sp</i> , Campo Grande, MS, July-August 2010.....	28
Alterações tubulointersticiais e níveis iniciais e finais de proteinúria e creatinina sérica, de acordo com a presença de lesão glomerular, em cães tratados com antimoníato (N=5).....	37

LISTA DE FIGURAS

Representação das estruturas de um rim.....	12
1 and 2 Segmental and focal glomerulosclerosis – GESF (40x), showing the collapse of the capillary loop, A with HE and B with Masson trichrome; 3 and 4 Membrano-proliferative glomerulonephritis – GNMP (40x), thickening of the glomerular basal membrane 3A (HE) and 4B (PAS), hypertrophy of the capillary tuft in 3A; 5 and 6 Membranous glomerulonephritis- GNMB (10x) showing thickening of the basal glomerular membrane without increase in glomerular cells, A with HE and B with PAS.....	26
Glomeruloesclerose segmentar e focal e dilatação tubular, HE 10x.....	37
Infiltrado periglomerular e áreas de fibrose, picrosirius 10x.....	37

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	10
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
OBJETIVOS.....	20
Geral.....	20
Específicos.....	20
ARTIGO 1 - RENAL HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS IN DOGS WITH VISCERAL LEISHMANIASIS.....	21
ARTIGO 2 - Alterações laboratoriais e histopatológicas de rins de cães soropositivos à Leishmaniose visceral tratados com antimoniato.....	33
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
ANEXOS.....	53

INTRODUÇÃO GERAL

A leishmaniose visceral ou calazar é uma doença causada por um protozoário, pertencente à ordem *Kinetoplastidae*, família *Tripanosomatidae* e gênero *Leishmania*. Tem uma distribuição cosmopolita, endêmica, com alta morbidade e mortalidade; de acometimento sistêmico, e como vetor principal no Brasil o flebotominio *Lutzomia longipalpis* e o hospedeiro principal o cão doméstico. Existem três formas de manifestação clínica da doença: cutânea, mucocutânea e visceral. Sendo uma doença emergente e de grande importância em saúde pública¹.

As medicações utilizadas para o tratamento da leishmaniose visceral têm como um dos efeitos colaterais a nefrotoxicidade, a exemplo do antimoniato, medicação de escolha no Brasil. Estudos têm demonstrado que a leishmaniose causa lesões tanto à nível glomerular como tubulointersticiais. Sendo a insuficiência renal uma das principais complicações da leishmaniose visceral.

Pela similaridade no desenvolvimento da doença no cão e no homem, e pelas contra-indicações de estudo *in vivo* no tecido renal humano, utiliza-se o cão como modelo de doença. O presente estudo visa o melhor entendimento das alterações renais tanto no homem como no cão, decorrentes da própria doença e de seu tratamento. Para tal estudou-se o material renal proveniente da necropsia de 100 cães naturalmente infectados, e de cinco cães, também naturalmente infectados, tratados por 21 dias com antimoniato. Para melhor realçar os tipos de lesões estudadas o material foi corado pelas técnicas de hematoxilina-eosina, ácido periódico de schiff, tricromo de Masson e picrosirius.

As lesões glomerulares e tubulointersticiais encontradas no estudo estão compatíveis com as da literatura revisada. Demonstrando que o cão é um ótimo modelo para este tipo de estudo.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Na Figura 1 temos a representação das estruturas renais.

Segundo Barros et al (1999)² a anatomofisiologia renal é caracterizada:

No humano os rins estão localizados no espaço retro peritoneal, pesando em média 125-170g no homem e 115-155g na mulher, medindo 11-12 cm de comprimento, 5-7,5 cm de largura e 2,5-3,0 de espessura. Revestidos por uma forte cápsula fibrosa, facilmente destacável.

“Em um corte transversal, distinguem-se duas regiões bem distintas. Região externa: pálida, corresponde a córtex renal, onde se encontram os glomérulos e os túbulos proximais e distais. Região medular: escura, no homem, é dividida em 8 a 18 massas cônicas estriadas, em forma de pirâmides. No vértice de cada pirâmide temos a abertura de 10 a 25 orifícios que representam o final dos túbulos coletores. O rim é bem vascularizado pela artéria renal, dividida em ramo anterior e posterior. O ramo anterior divide-se em três segmentos ou artérias lobares.”

O néfron é a unidade funcional do rim, sendo constituído por: glomérulo, túbulo proximal, alça de Henle, túbulo distal e segmento coletor. Cada rim possui aproximadamente 1 milhão de néfrons, originados embriologicamente do blastoma metanéfrico.

O sistema coletor formado pelo túbulo coletor inicial, ducto coletor cortical no raio medular e os segmentos medular interno e externo, que não são considerados parte do néfron por terem origem embrionária diferente, a partir do broto ureteral. No entanto, do ponto de vista didático, considera-se todo o sistema tubular coletor como parte do néfron, assim como o aparelho justamedular.

O corpúsculo renal é formado por várias estruturas: as células endoteliais, que revestem o capilar glomerular; as células mesangiais com sua matriz, o epitélio visceral, a membrana basal e a camada de células parietais da cápsula de Bowman. O glomérulo é responsável pela ultrafiltração glomerular. A barreira de filtração entre o sangue e o espaço urinário é composta de um endotélio fenestrado, membrana basal e um diafragma poroso entre os podócitos.

O aparelho justaglomerular é constituído de um componente vascular, tubular e de células mesangiais e sua matriz. Está localizado no polo vascular do glomérulo, onde uma porção do néfron distal entra em contato com as arteríolas glomerulares. O componente vascular é composto pela porção terminal da arteríola aferente e inicial da arteríola eferente. O componente tubular é formado pela mácula densa, que é a porção do ramo espesso ascendente em contato com o componente vascular.

No componente vascular temos dois tipos de células: células granulares justaglomerulares, também chamadas de mioepiteliais ou epitelióides; e as células mesangiais extraglomerulares agranulares. As células granulares estão localizadas nas paredes das arteríolas aferentes e eferentes, assim como na região mesangial extraglomerular, e produzem renina e óxido nítrico; importantes mediadores na hemodinâmica renal.

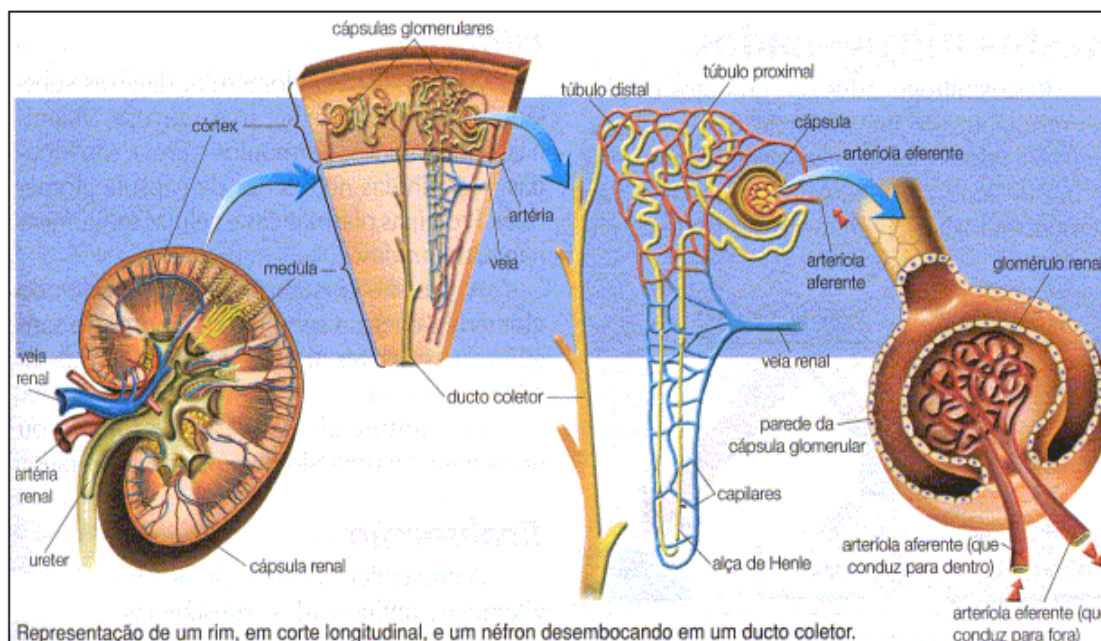


IMAGEM: CHEIDA. LUIZ EDUARDO. *Biologia integrada*. São Paulo. Ed.FTD. 2002

Figura 1- Representação das estruturas de um rim.

A nível renal, estudos têm demonstrado que na leishmaniose há comprometimento renal principalmente as glomerulonefrites do tipo mesangial e membranoproliferativa focal e difusa e também lesões tubulointersticiais. Estas alterações são responsáveis pela ocorrência de proteinúria, alterações do sedimento urinário e perda da função renal. Além disso, os medicamentos usados no tratamento do calazar também são nefrotóxicos.

Segundo Kirsztajn (1999)³ a glomerulonefrite membranoproliferativa (GNMP) é:

Também conhecida como mesangiocapilar, denominação preferida por alguns e que descreve o acometimento histológico, caracterizado por anormalidades acentuadas na região mesangial e de alças capilares. Caracteriza-se morfológicamente por aumento das células endocapilares, principalmente mesangiais, expansão mesangial secundária a um aumento de células e matriz, alças capilares tem aspecto característico de “duplo contorno” ou “trilho de trem”, à microscopia óptica. Crescentes epiteliais estão variavelmente presentes. Inflamação intersticial crônica e fibrose são focais no início, generalizando-se posteriormente.

Tem prognóstico reservado, mas não se sabe ao certo que fatores determinam a evolução para insuficiência renal crônica terminal ou até mesmo à morte do paciente. Do ponto de vista de sobrevida renal a glomerulonefrite membranoproliferativa é uma das glomerulonefrites que mais evoluem para insuficiência renal terminal. Em adultos a sobrevida renal em 10 anos está entre 54% e 64%. Enquanto, em crianças esta sobrevida é de 50% a 60%. A Glomerulonefrite

membranoproliferativa frequentemente se associa às doenças infecciosas como: esquistossomose, hepatite B ou C, hanseníase e sífilis, além da leishmaniose visceral.

Segundo Soares et al (1999)⁴ a glomerulonefrite membranosa (GNMB) é:

Uma das principais causas da síndrome nefrótica em adultos. Caracteriza-se por espessamento difuso da membrana basal glomerular, sendo o espessamento variável em intensidade e dependente da gravidade e da fase da evolução da doença.

A coloração específica de eleição para análise do espessamento é o ácido periódico de Schiff (PAS). As alterações da membrana basal estão relacionadas a depósitos de imunocomplexos, neoformação de membrana com deposição de colágeno e glicoproteínas, evoluindo com incorporação dos depósitos na membrana basal glomerular.

As alterações tubulares de degeneração hialinogoticular são secundárias à reabsorção de proteínas plasmáticas e lipoproteínas filtradas pelos glomérulos lesados. Em fase avançada da doença, os túbulos podem sofrer atrofia, havendo diminuição do volume celular e espessamento da membrana basal glomerular.

Fibroelastose das artérias caracterizada por fibrose da camada íntima e hialinização das arteríolas, podem estar presentes em fase avançada da doença. Infiltrado inflamatório intersticial geralmente é discreto, demonstra o predomínio de monócitos e leucócitos TCD4⁺. Macrófagos xantomatosos podem estar presentes no interstício e decorre da fagocitose de lipoproteínas. Pode-se observar número aumentado de miofibroblastos no interstício, que precedem o aparecimento de fibrose e apresentam correlação com o grau de proteinúria e função renal na evolução da doença. O surgimento dessas células poderia ser utilizado como marcador precoce da progressão para cronicidade.

Segundo Dantas e Costa et al (1999)⁵ a glomeruloesclerose segmentar e focal (GESF) é:

O termo utilizado para descrever e classificar uma lesão glomerular caracterizada por colapso vascular e esclerose mesangial envolvendo, ao menos na fase inicial ou intermediária da evolução da doença, um segmento do glomérulo, mas sem envolver o glomérulo como um todo (segmentar), e apenas alguns glomérulos, mas não todos eles (focal). Às vezes, inicia-se pelo pólo vascular dos glomérulos justamedulares e caracteriza-se por aumento da matriz mesangial associado a colapso das alças capilares, focos de nefrite túbulo intersticial crônica inespecífica, caracterizados por atrofia tubular, com ou sem dilatação do lúmen, fibrose e infiltrado mononuclear do interstício; costumam acompanhar o acometimento glomerular; geralmente em intensidade correspondente. Esclerose arteriolar hialina, conseqüente à insudação de proteínas plasmáticas na camada íntima das arteríolas, pode acompanhar a lesão glomerular.

A leishmaniose visceral tem uma distribuição cosmopolita, ocorrendo na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e nas Américas. Na América Latina, onde é denominada leishmaniose visceral americana (LVA) ou calazar neo-tropical, foi descrita em 12 países sendo que 90% dos casos ocorrem no Brasil⁶.

Nas Américas o agente responsável pela leishmaniose é a *L. (L.) chagasi*. Considerada uma zoonose, tem o homem como hospedeiro acidental. É transmitida ao hospedeiro vertebrado através da picada do inseto *Lutzomya longipalpis*, pertencente à Ordem *Díptera*, família *Psychodidae*, sub-família *Phlebotominae*^{1,7}.

O primeiro registro da doença no Brasil ocorreu em 1913, quando Migone⁸, no Paraguai, descreveu o primeiro caso em material de necropsia de um paciente vindo de Boa Esperança, Mato Grosso⁹.

Desde então, a transmissão da doença vem sendo descrita em vários municípios, de todas as regiões do Brasil. Na década de 90, aproximadamente 90% dos casos notificados de leishmaniose visceral ocorriam na região Nordeste do País. À medida que a doença se expandiu para outras regiões a situação vem se modificando. No período de 2000 a 2002, a região Nordeste reduziu a sua participação de 90% para 70% dos casos no País. A doença tem apresentado mudanças importantes no padrão de transmissão: inicialmente predominaram as características de ambientes rurais e periurbanos, mas mais recentemente surgiu em centros urbanos como Rio de Janeiro, RJ; Belo Horizonte, MG; Araçatuba, SP; Palmas, TO; Três Lagoas, Corumbá e Campo Grande, MS⁶.

O envolvimento do cão doméstico, no ciclo de transmissão, foi sugerido pela primeira vez por Nicole e Comte na Tunísia, em 1908¹⁰. No Brasil, o primeiro caso de leishmaniose visceral canina foi relatado no Estado do Ceará, por Chagas, em 1938¹¹. Mais tarde, em 1951¹², Deane confirmou o papel do cão como reservatório. No Mato Grosso do Sul, na década de 80, o calazar canino foi relatado no município de Corumbá, estudos posteriores relatam também a infecção de canídeos silvestres pela *L. chagasi*¹³.

As drogas utilizadas no tratamento da leishmaniose visceral têm potencial nefrotóxico. Sendo elas: os antimoniais pentavalentes, que inibem seletivamente as enzimas glicolíticas da via oxidativa dos ácidos graxos do parasito levando-o a morte; a aminosidina, um aminoglicosídeo que inibe a função ribossômica normal e causa a produção de proteínas anormais; a anfotericina B, que atua de forma irreversível ligando-se ao ergosterol, componente da membrana celular do parasito, causando ruptura da membrana celular e a morte do parasito; e o alopurinol, tem efeito leishmaniostático, é um análogo da hipoxantina, que atua incorporando-se ao RNA do parasito alterando a síntese de proteínas induzindo a formação de proteínas anormais, diminuindo a replicação do parasito, mas como os mamíferos são capazes de sintetizar purinas, são de baixa toxicidade para os mesmos¹⁴.

A evolução da infecção depende do vetor, do parasito e do hospedeiro. A falha no hospedeiro vertebrado em controlar a infecção está relacionada à habilidade de algumas cepas de *Leishmania sp* resistirem ao efeito microbicida dos macrófagos ativados e a falha da resposta imune celular protetora do hospedeiro¹⁵.

A resposta imune protetora contra leishmaniose é mediada por células T, manifestada por uma forte resposta proliferativa por linfócitos do sangue periférico aos antígenos do parasita e mediadas por citocinas, como o interferon-gama, e fator de necrose tumoral alfa, aos quais são necessários à ativação de macrófagos e posterior destruição do parasito intracelular¹⁶. Os diferentes padrões de reação e desenvolvimento da doença dependem da resposta das células T.

A resposta humoral tem pouca importância como defesa. Por ser um parasita intracelular de células do sistema fagocitário mononuclear, causa destruição das mesmas causando uma supressão reversível e específica da imunidade mediada por células, permitindo sua multiplicação e disseminação. Só uma pequena parcela de indivíduos infectados desenvolve a doença. A infecção e a doença não determinam imunidade permanente ao indivíduo. Após a infecção, mesmo que o indivíduo não desenvolva a doença, esta poderá vir a se manifestar se o indivíduo vier sofrer algum tipo de imunossupressão⁶.

Estudos têm demonstrado que em pacientes com calazar há ocorrência de proteinúria, alterações no sedimento urinário e da função renal^{17,18}.

Estudo realizado por Salgado Filho et al¹⁹ em humanos demonstrou a presença de proteinúria em 90,9% dos pacientes, hematúria em 63,3% e leucocitúria em 54,5%. Na avaliação do grau de comprometimento tubular proximal, verificou-se que 45,4% dos pacientes apresentavam aumento da proteína carreadora de retinol e 81,8% apresentavam níveis elevados de microalbuminúria.

Através da creatinina sérica e da proteinúria qualitativa, é possível, de forma indireta, avaliar a função renal^{20,21,22}.

Em estudo prospectivo²³ com 50 pacientes com LVA, as anormalidades laboratoriais sugestivas de envolvimento renal foram freqüentes. A proteinúria ocorreu em 57% dos pacientes. Anormalidade do teste de acidificação urinária foi demonstrada em 12 dos 18 pacientes estudados, antes da terapia com n-metil glucamina. Interessante foi a demonstração do envolvimento túbulo-intersticial e glomerulonefrite proliferativa na histologia renal de 7 pacientes avaliados. A reversão da lesão renal foi vista, em geral, um mês após tratamento e cura da LVA.

Raí et al²⁴ estudando 27 pacientes, que apresentaram disfunção renal após terapia com antimoniato, observaram 18 destes com comprovação diagnóstica de calazar, os demais com outras patologias. Em 10 que foram submetidos a biópsia renal, 6 tinham necrose tubular, 1 proliferação mesangial e 3 biópsias normais. A insuficiência renal aguda ocorre com frequência em pacientes com LVA e está relacionada à morbidade e mortalidade na doença; podendo ser atribuída à presença de danos diretos causados pelo parasito e quando associada ao tratamento é potencializada pela toxicidade do medicamento^{25,26}.

Achados histopatológicos de biópsia renal em 21 pacientes com LVA demonstrou infiltrado inflamatório intersticial difuso de linfócitos e células plasmáticas, sendo que no geral os glomérulos não mostraram nenhuma alteração importante. Estas alterações intersticiais normalmente parecem não determinar manifestações clínicas²⁷, uma vez que os achados clínicos-laboratoriais estão relacionados ao grau de comprometimento glomerular.

Achados constantes em pacientes com calazar são a hipoalbuminemia e hipergamaglobulinemia²⁸. A hipergamaglobulinemia presente em todos os pacientes com calazar decorre da grande produção de anticorpos da classe IgG, IgM, e IgA, resultantes da ativação policlonal dos linfócitos B. Como resultado temos uma formação excessiva de anticorpos específicos e inespecíficos. Sinais da ativação da cascata do complemento são observados em 70% dos pacientes estudados. Em 43,4% destes casos havia queda simultânea das frações C3, C4 e CH100, sugerindo a ativação da via clássica do complemento. Evidências de consumo de C3 e C4 foram também observadas em paciente com calazar que apresentou quadro de insuficiência renal aguda, demonstrando a presença de imunocomplexos circulantes no calazar^{25,29,30,31}.

A Leishmaniose Visceral Canina – LVC é imunologicamente mediada e parece se desenvolver de acordo com o modelo anérgico, induzindo supressão das células T ativação das células B policlonais, produção de anticorpos específicos e não específicos, culminando na formação de altos níveis de anticorpos anti-leishmania e imunocomplexos circulantes^{32,33}.

Infecções crônicas pela *Leishmania* estão frequentemente associadas à formação de imunocomplexos que podem se depositar nos glomérulos e região túbulo-intersticial, produzindo glomerulonefrite e nefrites intersticiais com comprometimento da função renal^{34,35}.

Depósitos mesangiais, hiperplasia de células mesangiais e tumefação de células endoteliais dos glomérulos foram encontradas em estudos em humanos, alterações estas que justificam a proteinúria encontradas nestes pacientes^{36,37}.

Os eventos imunológicos relacionados com a resistência e susceptibilidade para a LVC não estão bem definidos, mas parecem ser mediados por células T^{33,38,39}. Imunidade celular específica é observada em cães assintomáticos naturalmente infectados com *Leishmania infantum*^{40,41}.

Um estudo experimental longitudinal na LVC mostrou uma mistura de resposta de Th1 e Th2, na qual o controle da replicação do parasito, a progressão da doença ou a cura, é determinada pelo balanço entre esses dois padrões de resposta⁴².

Por outro lado, alguns estudos têm mostrado que a resposta protetora em cães está relacionada com a imunidade celular associada com a ativação das células Th1 produzindo IFN γ , IL2, TNF α e anticorpos específicos IgG2. Os macrófagos ativados pela Th1 (IFN γ) levando a eliminação das formas intracelulares da leishmania assim como a ativação de células CD8+T que também estão relacionadas com a resolução da doença; levando a ausência de sinais clínicos, pelos baixos níveis de anticorpos anti-leishmania, pela baixa carga do parasito e pela presença de forte resposta linfoproliferativa ou resposta de hipersensibilidade tipo tardia para antígeno da leishmania na pele^{43,44}.

O IFN γ tem mostrado ser um mediador de resistência ao parasito, devido a sua habilidade para induzir à morte dos parasitos pelos macrófagos⁴⁵.

O rim é um órgão frequentemente afetado no curso da LVC. Estudo com 55 cães naturalmente infectados verificou a presença de glomerulonefrite em 100% e nefrite intersticial em 78,2% dos casos, ambos em cães sintomáticos e assintomáticos. Os achados foram relacionados à presença de antígeno da leishmania. Análise bioquímica realizada no soro e urina de 11 destes cães mostraram alterações na função renal de 6 cães. Estas alterações foram observadas somente nos cães que tinham concomitante nefrite intersticial e glomerulonefrite⁴⁶.

O envolvimento renal na LVC é considerado uma frequente causa de morte dos animais⁴⁷. Cães com severa lesão renal são aqueles com doença ativa e também são aqueles com grande poder para infectar o vetor.

O rim responde à infecção com ativação do sistema imune humoral e celular, e ele não está relacionado nem à resistência nem à susceptibilidade à doença, assim como

se observa na resposta sistêmica, no entanto esta resposta sistêmica está relacionada com o mecanismo de lesão renal, como observado na nefropatia em geral^{48,49}.

Além disso, tem sido sugerido que uma predisposição genética para susceptibilidade e resistência para que ocorra a LVC⁴². Dois genes têm sido envolvidos na susceptibilidade para LVC: DLA (dogs leukocyte antigen)-RB1*01502 alelo em cães no Brasil⁵⁰ e gen haplotipo canino Slc 11a1 na Espanha⁵¹.

Em material histopatológico proveniente de cães naturalmente infectados por *Leishmania sp* observou-se o desenvolvimento de glomerulonefrites tipo mesangial e membrano proliferativa focal ou difusa, aumento da matriz mesangial e, à microscopia eletrônica, presença de depósitos de imunocomplexos contendo IgG, IgM e C3^{52,53}.

Outro estudo em cão demonstrou a presença de depósito granular em região subendotelial, intramembranosa e subepitelial, sugerindo que a nefrite intersticial foi causada pela presença de elementos do parasito no interstício renal, assim como o envolvimento glomerular poderiam ser causados pelo depósito de imunocomplexos⁵⁴.

As diferentes manifestações clínicas dependem de complexas interações entre as diferentes espécies de *Leishmania* e o sistema imune do hospedeiro infectado. A resistência às infecções causada pelas espécies de leishmania necessita da resposta imunológica mediada por células, que induz à morte do parasita pelos macrófagos através da secreção de radicais ativos de oxigênio e radicais nitrogenados, principalmente óxido nítrico⁵⁵. Estudos em modelos caninos demonstram que a produção de uma imunidade protetora contra a leishmaniose é mediada por células T^{56,57,58} e citocinas como interferon gama e fator de necrose tumoral alfa, as quais são requeridas para a ativação de macrófagos e eliminação dos parasitas intracelulares^{58,59}. Estudos recentes demonstram claramente que alguns cães podem desenvolver uma resposta celular protetora, levando à resistência imunológica natural^{56,60}.

Os estudos realizados em sub-populações de linfócitos periféricos de cães sintomáticos indicam uma diminuição significativa dos níveis de células CD4^{60,61}, que pode ser explicada pela indução à apoptose pelo parasita⁶² ou em consequência da migração destas células para outros órgãos^{61,63}.

Na grande maioria dos casos, o curso fatal da LVA canina se deve ao comprometimento renal^{52,64}. A principal lesão renal em cães⁵² e no homem com leishmaniose^{34,37} é a glomerulonefrite. No entanto, nefrite intersticial, nefropatia tubular e amiloidose glomerular em conjunto com glomerulonefrite também podem ser observadas⁶⁵.

As lesões renais de humanos e cães infectados são similares, mas sua patogênese ainda não está bem definida. Há crescentes evidências da participação da resposta imune celular na patogênese desta glomerulonefrite imunomediada^{66,67,68,69,70}.

OBJETIVOS

Geral

Caracterizar as alterações renais em cães naturalmente infectados por *Leishmania (L.) chagasi*..

Específicos

- 1) Demonstrar as lesões histopatológicas renais em cães naturalmente infectados por *Leishmania (L.) chagasi*.
- 2) Demonstrar as lesões histopatológicas renais pós-tratamento com antimoníato em cães naturalmente infectados por *Leishmania (L.) chagasi*.
- 3) Demonstrar marcadores da função renal como creatinina sérica e proteinúria qualitativa na leishmaniose.

ARTIGOS

ARTIGO 1 Publicado – Rev Inst Med Trop São Paulo; 2013 55(2):113-6.

RENAL HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS IN DOGS WITH VISCERAL LEISHMANIASIS

Rosangela Silva Rigo - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul –
lrigo@terra.com.br – autor correspondente

Cristiano Marcelo Espínola Carvalho – Universidade Católica Dom Bosco –
cristiano@ucdb.br

Michael Robin Honer - Universidade Católica Dom Bosco – mrhoner@terra.com.br

Gisele Brazilião de Andrade - Universidade Católica Dom Bosco – gisele@ucdb.br

Iandara Shettert Silva - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul –
ian.da.ra.@hotmail.com.br

Leonardo Rigo – Secretaria Municipal de Saúde de Campo Grande, MS –
lrigo@terra.com.br

Helen Rezende Figueiredo – Mestre em Biotecnologia/UCDB –
helenrezende.bio@gmail.com

Wanessa Teixeira Gomes Barreto – Bolsista de Iniciação Científica do CNPq
PIBIC/UCDB – nessapin77@hotmail.com

SUMMARY

Histopathological renal findings in dogs with visceral leishmaniasis

Visceral leishmaniasis affects various organs including the kidneys; which can lead to renal failure and death. In order to verify this renal involvement, material was evaluated from 100 dogs naturally infected and with serological diagnosis of canine visceral leishmaniasis (CVL). Inflammatory changes were present in 25.3% of the tubules, in 67.0% of interstitium and in 52.0% of glomeruli. There was no significant difference ($P > 0.05$) between the presence of glomerulonephritis in symptomatic and oligosymptomatic dogs. The membranous and membranoproliferative glomerulonephritis were the most frequent, both with 18.0% frequency followed by focal segmental glomerulosclerosis with 14.0%. Changes were observed such as cylindruria; tubular and fibrosis hypertrophy; periglomerular inflammatory infiltrate; and multifocal and diffuse peritubular inflammatory infiltrate. The findings agree with those of other authors indicating that renal involvement is common in CVL and the

standards of membranous and membranoproliferative glomerulonephritis, as well as the tubulointerstitial involvements are frequent.

Keywords: Histopathology renal; Visceral leishmaniasis; Dogs.

RESUMO

Achados histopatológicos renais em cães com leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral acomete vários órgãos entre eles os rins; o que pode levar a insuficiência renal e a morte. Com o objetivo de verificar este acometimento renal foram avaliados materiais de 100 cães naturalmente infectados e com diagnósticos sorológicos de leishmaniose visceral canina - LVC. As alterações inflamatórias estavam presentes em 25,3% dos túbulos, em 67,0% do interstício e em 52,0% dos glomérulos. Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre a presença de glomerulonefrite em cães sintomáticos e oligossintomáticos. As glomerulonefrites membranosa e membrano proliferativa foram as mais frequentes, ambas com 18,0% de frequência seguidas da glomerulosclerose segmentar e focal com 14,0%. Foram observadas alterações como cilindúria, hipertrofia tubular e fibrose e infiltrados inflamatórios periglomerulares e peritubulares multifocais e difusos. Os achados concordam com os de outros autores indicando que o acometimento renal é comum na LVC e que os padrões de glomerulonefrites membranoproliferativa e membranosa; assim como o acometimento tubulointestinal são frequentes.

Palavras-Chave: Histopatologia renal; Leishmaniose visceral; Cães.

INTRODUCTION

The numerous species of *Leishmania* are geographically defined, with a high prevalence in regions of Latin America, Southern Europe and the Middle East. There are three forms of clinical manifestation of the disease: cutaneous, mucocutaneous and visceral.

Brazilian leishmaniasis became urbanized in the 90's, with the dog as the main component in the cycle of human transmission; the disease then became of great importance in public health⁴. By developing the disease in a similar manner to man, the dog can serve as model for human studies⁹.

Renal involvement is common being the cause of renal failure and death^{15,18}. Renal involvement is very common in dogs with canine visceral leishmaniasis (CVL) due to the deposition of immunocomplexes in the basal membranes of the renal parenchyma. This is caused by persistent infection associated with prolonged

antigenemy¹⁷. Symptomatic and asymptomatic dogs can have varying degrees of renal lesions¹⁷, as some studies have shown that nearly 100% of dogs with CVL have macro- or microscopic renal lesions^{9,18}. Clinical signs of renal dysfunction, however, appear only with extensive tissue injury⁷. Canine visceral leishmaniasis is usually associated with hyperimmunoglobulinemia with high IgG levels, circulating immune complexes and high titers of rheumatoid factor and cryoglobulin. Together with the presence of immunoglobulins in the glomeruli, this suggests the pivotal role of polyclonal B-cell activation and “classical” B-cell activation in the pathogenesis of leishmanial nephritis²⁷.

The objective of this study was to demonstrate renal lesions caused by this parasitic infection. Histopathological studies were carried out with renal tissue of dogs naturally infected by *Leishmania L. chagasi*, proceeding from the Zoonosis Control Center, in the city of Campo Grande, MS, Brazil, in July and August 2010.

MATERIAL AND METHODS

Kidney tissue was obtained from 100 dogs of different breeds, adults of both sexes, positive in ELISA and indirect immunofluorescence (IIF) tests for leishmaniasis, collected at the Zoonosis Control Center, in the city of Campo Grande, Mato Grosso do Sul State (MS), Brazil, in July and August 2010. The dogs were euthanized with the application of intravenous thiopental 50mg/kg, following anesthesia with a lethal dose of potassium chloride (2mmol/kg, flask of 19.1% KCl: 2,56mEq/ml)⁷. The material was preserved in 10% formalin, embedded in paraffin, sliced with a microtome to a thickness of 5µm and stained by the following methods: hematoxylin and eosin for the visualization of nuclear and cytoplasmic alterations, PAS for changes of the glomerular basal membrane, and Masson trichrome for fibrosis. The slides were evaluated with light microscopy, where the classification of the histopathological findings was made according to the criteria of the World Health Organization⁶ and the Banff classification 1997, updated in 2007²³.

To classify and grade the lesions in the renal fragments, those with 10 or more glomeruli, and 2 or more sections of arteries, were considered adequate. The interstitial areas were evaluated for the presence of fibrosis, tubular atrophy and mononuclear infiltrate, quantifying these alterations relative to the extension of the renal cortex.

Weight loss is an important clinical sign that accompanies the evolution of the disease, being part of the clinical diagnosis and used in the classification of the animals for the presence of clinical signs⁴. Since there was no record of weight loss in the records of the animals, their condition at the moment of euthanasia was used to classify them into groups: **Group #1** oligosymptomatic, 35 animals, all with good corporal conditions, all being relatively mild and of a form common to leishmaniasis, such as: hyperkeratosis, local alopecia, popliteal lymphadenopathy and opacity of coat. **Group #2**, 65 symptomatic animals with poor corporal conditions, with the signs listed above, but more advanced, and associated with onychogryphosis, skin ulcers, increased abdominal volume, indicative of hepatomegaly and/or splenomegaly; clinical signs more characteristic of the disease.

Differences between the groups were analysed by Chi-square and Fishers exact tests for a frequency ($p < 5$).

All procedures were carried out with the approval of the University Ethics Committee, protocol #74/2008B.

RESULTS

In 74.7% of the material evaluated, there was no tubular inflammatory infiltrate, while in 67% there was some degree of interstitial involvement and in 52% glomerular lesions was found (Table 1).

Figure 1 demonstrates the principal glomerulonephritis type encountered. In membranoproliferative glomerulonephritis, an increase in the cells in the glomerular tuft was observed and an increase in the thickness of the basal glomerular membrane, with a characteristic doubled outline. In the case of membranous glomerulonephritis the basal membrane was thickened, without an increase in the cells in the glomerular tuft. In the case of segmental and focal glomerulonephritis, the capillary loops collapsed, present as a partial form within the same glomerulus (segmental) or in only a few glomeruli (focal).

Table 1 - Distribution of renal morphological findings, according to Banff classification* in 100 dogs naturally infected with *Leishmania* sp, Campo Grande, MS, July-August 2010.

Criteria	%
Quantitative of tubulitis	
No tubular mononuclear cells	75.0
Foci with 1-4 mononuclear cells per tubular section	22.0
Foci com 5-10 mononuclear cells per tubular section	0.0
Foci with >10 mononuclear cells per tubular section	3.0
Quantitative of interstitial inflammation	
No significant inflammation	33.0
10-25% of cortical interstitial inflammation	43.0
26-50% of cortical interstitial inflammation	11.0
>50% of cortical interstitial inflammation	13.0
Quantitative of glomerulonephritis	
No glomerulonephritis	48.0
Glomerulonephritis in up to 25% of glomeruli	4.0
Glomerulonephritis in within 25-75% of glomeruli	21.0
Glomerulonephritis in up to >75% of glomeruli	27.0

* Banff Classification 97/ Banff 2007 update

The most frequent types of glomerulonephritis were membranoproliferative glomerulonephritis and membranous glomerulonephritis, 18.0% respectively (Table 2).

In the group of oligosymptomatic dogs, 54.3% had some degree of glomerular lesions, and in the symptomatic dogs, 50.8% had no significant difference between the two groups ($p > 0.05$).

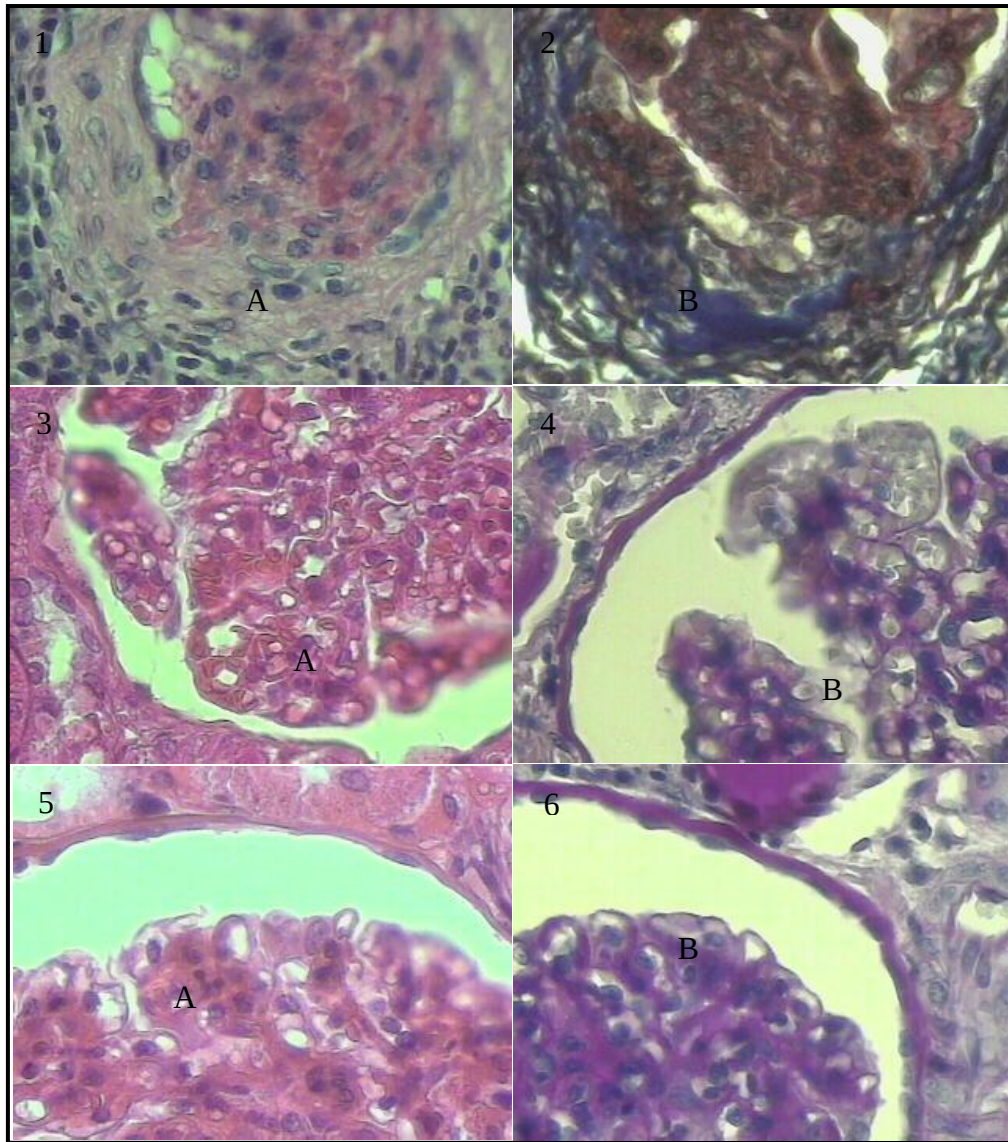


Figure 1 - 1 and 2 Segmental and focal glomerulosclerosis – GESF (40x), showing the collapse of the capillary loop, A with HE and B with Masson trichrome; 3 and 4 Membrano-proliferative glomerulonephritis – GNMP (40x), thickening of the glomerular basal membrane 3A (HE) and 4B (PAS), hypertrophy of the capillary tuft in 3A; 5 and 6 Membranous glomerulonephritis- GNMB (10x) showing thickening of the basal glomerular membrane without increase in glomerular cells, A with HE and B with PAS

When using the histopathological classification of glomerular lesions, there was a significant difference ($p < 0.05$) between the groups; in cases of focal segmental glomerulosclerosis and chronic glomerulonephritis.

Table 2 – Percentage distribution of glomerulonephritis found in dogs naturally infected with *Leishmania sp*, according to the presence of clinical symptoms, Campo Grande, MS, July-August 2010.

Classification of glomerulonephritis	Symptoms Presence		Total (n=100)
	Oligosymptomatic (n=35)	Symptomatic (n=65)	
Without glomerulonephritis	45.7	49.2	48.0
Membranous glomerulonephritis	22.9	15.4	18.0
Membranoproliferative glomerulonephritis	22.9	15.4	18.0
Focal segmental glomerulosclerosis	8.6	16.9	14.0
Chronic glomerulonephritis	0.0	3.1	2.0

Table 3 shows that in the presence of membranous glomerulonephritis there was tubular hypertrophy, isolated or associated with intratubular cylinders, in 50.0% of the sample; in 16.0% there was present of fibrosis, and in 11.0% associated of the fibrosis and inflammatory infiltration in the sample. In membranoproliferative glomerulonephritis there was greater presence of cylinders, isolated or associated with hypertrophy, and inflammatory infiltration, 27.8% and 22.2%, respectively. In cases of focal segmental glomerulosclerosis there was a 64.3% incidence of cylinders, isolated or associated with tubular hypertrophy, and fibrosis areas, isolated or associated with inflammatory foci, was observed in 58.2%. Even in the materials of normal glomeruli there was a presence of inflammatory infiltration cylinders in 47.9% and 33.4%, respectively.

Table 3 – Tubulointerstitial findings, according to the glomerulonephritis found in dogs naturally infected with *Leishmania sp*, Campo Grande, MS, July-August 2010

Structure/Injury	% by glomerulonephritis type			
	MGN (n=18)	PMGN (n=18)	FSGS (n=14)	Normal (n=48)
Tubules				
Hypertrophy	33.3	11.1	14.3	10.4
Cylinders	5.6	22.2	14.3	22.9
Hypertrophy and cylinders	16.7	5.6	50.0	25.0
Interstice				
Fibrosis	16.6	11.1	29.6	4.2
Infiltrate	11.1	22.2	21.4	27.1
Infiltrate and fibrosis	11.1	0.0	28.6	6.3

MGN - membranous glomerulonephritis; MPGN – membranoproliferative glomerulonephritis; FSGS - focal segmental glomerulosclerosis and Normal -Normal glomeruli.

DISCUSSION

Regardless of the existence of clinical signs, the kidneys are often affected in canine visceral leishmaniasis⁷. TAFURI *et al*²⁷ stated that the occurrence of glomerulonephritis was considered the principal cause of mortality in VCL – these findings confirm the importance of renal damage in leishmaniasis.

In a study of kidney material from 12 dogs, 91.7% of interstitial inflammatory alterations and 83.3% of glomerulosclerosis were seen¹; rates above those found in this study - 24.7% of interstitial alterations and 31.3% of glomerular alterations. Histological alterations found in host animals depend on the inflammatory response to the infection, influenced by the ability of the parasite to resist macrophage action and the capacity to inhibit the cellular immune response of the host¹⁵. Histochemical studies are more indicated to confirm these responses, but microscopic observations of the renal tissue studied here, with inflammatory infiltrate in 25.3% of the samples, suggest the participation of the immunological response in the pathology of the disease.

Lymphocytes from symptomatic dogs proliferated against specific leishmania antigens and asymptomatic dogs can evolve to spontaneous healing, presenting a positive cellular immune response⁵. Canine visceral leishmaniasis is thought to be an immune-mediated disease; where the presence of humoral response is associated with clinical disease, while the cellular response has been observed in asymptomatic animals^{1,17}. A study of dog kidney fragments showed significant differences between membranoproliferative glomerulonephritis and the presence or absence of symptoms²⁴. In the present study there was no significant difference between the presence of glomerulonephritis in symptomatic and oligosymptomatic groups, assuming that the renal alterations are more related to immune status and immune cell response of dogs than the presence of signs and symptoms and exposure time¹. In visceral leishmaniasis activation of the immune system occurs and lesions in non-lymphoid organs, including kidneys, occur not only by immune complex deposition, but there is also the participation of macrophages, T cells, cytokines and immunoglobulins, by mechanisms not yet clear^{14,27}.

In the present study the histological pattern was found equal to membranous (18.0%) and membranoproliferative glomerulonephritis (18%), followed by segmental and focal glomerulosclerosis (14%). An experimental model showed histological alterations from 7-14 days post infection²¹. Since the animals in this study were naturally infected, there was no control over the time of infection, which may influence the degree of the alterations described here. The pattern of membranoproliferative glomerulonephritis was the most frequent in studies on renal damage in CVL^{2,9,11,25}. POLI *et al*²⁰ found 61.8% of proliferative mesangial focal or diffuse glomerulonephritis in 61.8% and 35.3% membranoproliferative in the animals studied. SOARES²⁵ found the mesangial proliferative pattern in 64.7% of asymptomatic dogs, while the symptomatics showed 61.7% with membranoproliferative glomerulonephritis. A study by BENDERITTER *et al*³ found 72.7% with glomerular lesions characterized by acute and membranous glomerulonephritis. Studies using mice²¹ and hamster²² models observed mesangial proliferative glomerulonephritis.

As in this study, others observed segmental and focal in the second place^{9,11}. Studies with dogs naturally and experimentally infected with (*L. chagasi*) found focal or diffuse mesangial glomerulonephritis and proliferation of mesangial cells, interstitial nephritis with heavy infiltration of plasma cells and tubular dilatation²⁶. Increased intensity of interstitial inflammatory infiltrate was observed in the cortical and

medullary region, mainly in the kidneys of dogs with glomerulonephritis and membranoproliferative glomerulonephritis with minimal alterations¹³.

Alterations such as cylindruria, tubular hypertrophy and fibrosis, as well as periglomerular inflammatory infiltrates and multifocal and diffuse peritubular, were present, as reported in other studies^{1,9,13}.

The present study may indicate that renal involvement is common in CVL and that the membranous and membranoproliferative glomerulonephritis patterns, as well as tubulointerstitial involvement, are frequent. Therefore renal lesions are important factors in the evolution of the disease¹² Using the dog as a model, this type of lesion should be evaluated in the diagnosis of the disease and taken into consideration in its treatment.

REFERENCES

1. Albuquerque BCNC, Maia FCL, Silva Jr VA, Lima AMA, Albuquerque ERC, Pimentel DS, *et al.* Alterações estruturais em rins de caninos naturalmente infectados por leishmaniasis (*Leishmania*) chagasi. R Bras Ci Vet. 2008;15(1):3-5.
2. Barros RM. Caracterização histopatológica da leishmaniose visceral canina no Distrito Federal. Brasília. Dissertação [Mestrado em Saúde Animal]. Universidade de Brasília; 2011.
3. Benderitter T, Casanova P, Nashkidachvili L, Quilici M. Glomerulonephritis in dogs with canine leishmaniasis. Ann Trop Med Parasitol. 1988;82(4):335-41.
4. Brasil, Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Departamento de vigilância epidemiológica. Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral. Brasília: Ministério da saúde; 2003; 120p.
5. Campino L, Santos Gomes G, Riça Capela MJ, Cortes S, Abranches P. Infectivity of promastigotes and amastigotes of leishmaniasis Vet Pathol, 2000;92:269-75.
6. Churg J, Sobin LH, editors. Renal disease: classification and atlas of glomerular diseases. Tokyo: Igaku-Shoin; 1995.
7. Ciaramella P, Oliva G, Luna R, Ambrosio R, Cortese L, Persechino A, Gradoni L, Scaloni A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. Vet Rec. 1997;141:539-43.
8. Conselho Federal de Medicina Veterinária (Brasil). Resolução CFNV nº1000 de 11 de maio de 2012. Dispõe sobre os procedimentos e métodos de eutanásia em

- animais. D Of União. 17 mai 2012; seção 1:124-5. Disponível em: www.in.gov.br.
9. Costa FA, Goto H, Saldanha LC, Silva SM, Senhorini IL, Silva TC, Guerra JL. Histopathologic patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. *Vet Pathol*. 2003;40:677-84.
 10. Costa FA, Guerra JL, Silva SM, Klein RP, Mendonça IL, Goto H. CD4+ T cells participate in the nephropathy of canine visceral leishmaniasis. *Braz J Med Biol Res*. 2000;33:1455-58.
 11. Dias CA. Estudo das alterações clínico-laboratoriais e histopatológicas renais em cães com leishmaniose visceral canina naturalmente infectados no Distrito Federal. Brasília. Dissertação [Mestrado em Saúde Animal]. Universidade de Brasília; 2008.
 12. Efstratiadis G, Boura E, Giamalis P, Mandala E, Leontsini M, Tsiaousis G, Memmos D. Renal involvement in a patient with visceral leishmaniasis. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(1):235-6.
 13. Gomes LA, Goto H, Guerra JLG, Mineiro ALB, Silva SMMS, Costa FAL. *RPCV*. 2008;103:157-63.
 14. Goto H, Prianti MG. Immunoactivation and immunopathogeny during active visceral leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2009;51(5):241-6
 15. Grimaldi R Jr, Thes RB. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. *Clin Microbiol Rev*. 1993;6(3):230-50.
 16. Lopez R, Lucena R, Novales M, Ginel PJ, Martin E, Molleda M. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. *J Vet Med B*. 1996;43:467-74.
 17. Moreno J, Nieto J, Chamizo C, González F, Blanco F, Barker DC, *et al*. The immune response and PBMC subsets in canine visceral leishmaniasis before, and after, chemotherapy. *Vet Immunol Immunopathol*. 1999; 71(3-4):181-95.
 18. Moura ROD, De Paula VV, Soares MJV. Alterações renais em cães (*Canis familiaris*) soropositivos para leishmaniose: aspectos clínicos, laboratoriais e histopatológicos. *Rv Bras Med Vet*. 2002; 24(2):61-64.
 19. Noli C. Leishmaniasis canina. *Waltham Focus*. 1999;9:16-24
 20. Poli A, Abramo F, Mancianti F, Nigro M, Pieri S, Bionda A. Renal involvement in canine leishmaiasis. A light-microscopic, immunohistochemical, and electron-miscroscopic study. *Nephron*. 1991;57(4):444-52.

21. Prianti MG, Yokoo M, Saldanha LC, Costa FA, Goto H. Leishmania (Leishmania) chagasi-infected mice as a model for the study of glomerular lesions in visceral leishmaniasis. *Braz J Med Biol Res.* 2007;40(6):819-23.
22. Oliveira AV, Roque-Barreira MC, Sartori A, Campos-Neto A, Rossi MA. Mesangial proliferative glomerulonephritis associated with progressive amyloid deposition in hamsters experimentally infected with *Leishmania donovani*. *Am J Pathol.* 1985 Aug;120(2):256-62.
23. Sementilli A, David DR, Malheiros D, Visona I, Pegas KL, Franco M, *et al.* Patologia do transplante renal: achados morfológicos principais e como laudar as biópsias. *J Bras Patol Med Lab.* 2008;44(4):293-304.
24. Soares MJV, Moraes JRE, Palmeira Borges V, Miyazato LG, Moraes FR. Renal involvement in visceral leishmaniasis dogs. *J Vemon Anim Toxins incl Trop Dis.* 2005;11(4):579-93.
25. Soares MJV. Leishmaniose visceral canina: aspectos clínico-laboratoriais, histopatologia renal e testes específicos para diagnóstico. Jaboticabal. Dissertação [Mestrado em Medicina Veterinária]. Universidade Estadual Paulista; 2003.
26. Tafuri WL, Michalick MS, Dias M, Genaro O, Leite VH, Barbosa AJ, *et al.* Estudo ao microscópio óptico e eletrônico de rim de cães natural e experimentalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1989;31(3):139-45.
27. Tafuri, WL, Oliveira MR, Melo MN, Tafuri WL. Canine visceral leishmaniasis: a remarkable histopathological picture of one case reported from Brazil. *Vet Parasitol.* 2001;96:203-12.
28. Velthuisen MLF, Florquim S. Glomerulopathy associated with parasitic infections. *Clin Microbiol Rev.* 2000; 13(1):55-6

ACHADOS LABORATORIAIS E HISTOPATOLOGICOS RENAIIS EM CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL E SEU TRATAMENTO COM ANTIMONIATO

Laboratorial and renal histopathological findings of dogs serologically positive to visceral leishmaniasis, treated with antimoniate

Rosangela S. Rigo¹, Iandara S. Silva¹, Gisele B. Andrade², Michael R. Honer², Leonardo Rigo³, Monise C. Benevides² e Cristiano M.E. Carvalho²,

¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS; ²Universidade Católica Don Bosco, Campo Grande, MS; ³Secretaria Municipal de Saúde, Campo Grande, MS

Correspondência: Rosangela Silva Rigo, Rua Ouro Negro, 1399 – Bairro Jockey Club, CEP 79080-270, Campo Grande – MS, e-mail lrigo@terra.com.br

Resumo

Para caracterizar as lesões renais na leishmaniose visceral canina e seu tratamento com antimoniato foram utilizados 5 cães naturalmente infectados e mantidos em baias isoladas. Receberam doses diária de 20 mg/kg de antimoniato de n-metilglucamina, por via intravenosa, por 21 dias. Foram coletadas amostras de sangue para dosagem de creatinina sérica e de urina para dosagem de proteínas, antes de iniciar o tratamento e 30 dias após o início do mesmo, onde os animais foram eutanasiados e coletado fragmentos renais para histopatologia. Foram encontradas alterações glomerulares compatíveis com glomeruloesclerose segmentar e focal em dois cães, os níveis séricos da creatinina mantiveram-se dentro da normalidade e a presença de proteinúria no início do experimento, em todos os animais, demonstrava haver comprometimento na filtração glomerular, a qual tendeu a ser revertida após o tratamento. Concluiu-se que o modelo canino reproduziu as alterações descritas em humanos, bem como a lesão causada pelo antimoniato. As alterações produzidas inicialmente pelo parasita e posteriormente pela droga tendem a se normalizar com o tempo, com exceção aos casos onde já exista um comprometimento maior da função renal.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral, glomerulonefrite, antimoniato

Abstract

Five dogs, naturally infected with canine leishmaniasis were kept in isolated pens in order to characterize their renal lesions and their treatment with antimoniate. The dogs received daily intravenous doses of 20mg/kg of antimoniate of n-

methylglucamine for 20 days. Blood samples were collected to determine serum creatinine, and urine samples for protein levels, before starting treatment and 30 days after their initiation, when the animals were euthanized and renal fragments taken for histopathology. Glomerular alterations, compatible with segmental and focal glomerular sclerosis were found in two dogs; the serum creatinine levels remained within normal limits, the presence of proteinuria at the start of the experiment, indicated involvement of the glomerular filtration, which tended to revert after treatment. It was concluded that the canine model reproduces the changes described in humans, as well as injury caused by antimony. The alterations produced initially by the parasite and afterwards by the medication tend to normality with time, with exception of those cases with previous major damage to the renal function.

Keywords: Visceral leishmaniasis, glomerulonephritis, antimony.

Introdução

No Brasil a medicação de primeira escolha para o tratamento da Leishmaniose Visceral é antimony de N-methylglucamine¹, comercializado com o nome Glucantime® (Sanofi-Aventis). O medicamento provoca regressão rápida das manifestações clínicas e hematológicas da doença, e diminuição rápida da carga parasitária¹. Tratamentos descontínuos e dosagens inadequadas levam a ocorrência de resistência à terapia^{2,3}. A dosagem preconizada não deve ultrapassar 20mg/Kg/dia, até o limite total de 850 mg de antimony, devido sua elevada toxicidade; mialgias, dores abdominais, alterações hepáticas, renais e cardíacas são efeitos colaterais deste medicamento².

Devido à excreção dos antimonias ser preferencialmente renal (90%)⁴, o seu principal efeito adverso é a diminuição na capacidade de concentração urinária, por competição da medicação com o hormônio antidiurético nos túbulos coletores renais. Estando, portanto, contra-indicado seu uso em qualquer grau de insuficiência renal⁵.

O antimony foi descrito como responsável pela insuficiência renal aguda e aumento da creatinina sérica durante tratamento de leishmaniose em humanos^{6,7,8}. As complicações renais desta droga podem contribuir na morte destes pacientes⁹. Adicionalmente sua nefrotoxicidade foi demonstrada em animais de laboratório¹⁰.

Por desenvolver a doença de maneira similar ao homem, o cão pode servir de modelo para estudos em humanos¹¹. O acometimento renal é freqüente na leishmaniose visceral canina, sendo causa de insuficiência renal e morte^{12,13}. Cães sintomáticos e

assintomáticos podem ter diferentes graus de lesão renal¹⁴ e estudos tem demonstrado que quase 100% dos cães com LVC têm lesão renal macro ou microscópica^{15,16}.

O objetivo deste estudo foi demonstrar as lesões histopatológicas renais pós-tratamento e as alterações laboratoriais encontradas na creatinina sérica e exame qualitativo de urina, como surgimento de proteinúria, no início e no pós-tratamento com antimoniato, em cães naturalmente infectados por *Leishmania L. chagasi*, procedentes do Centro de Controle de Zoonoses, do município de Campo Grande, MS, Brasil, nos meses de julho e agosto de 2010.

METODOLOGIA

Foram utilizados 5 cães adultos jovens provenientes do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Campo Grande, MS, naturalmente infectados com *Leishmania sp* identificados durante inquérito epidemiológico para leishmaniose visceral canina por meio de testes de imunofluorescência indireta (RIFI) e ensaio imunoenzimático (Elisa), classificados como sintomáticos (exibindo os sinais clássicos da doença como: alterações cutâneas como alopecia, dermatite exfoliativa seca ou úlceras, onicogribose; ceratoconjuntivite, perda de peso e anemia). O critério de inclusão foi o exame parasitológico positivo (esfregaço medular ou punção de linfonodo poplíteo).

Os animais selecionados foram vermifugados com anti-helmíntico oral de largo espectro, em duas doses com intervalo de 7 dias, tratados com produto tópico de efeito antiektoparasitário prolongado (Top Line, Merial Saúde Animal) e receberam coleira antiektoparasitária (Scalibur, Intervet). O experimento foi realizado no canil experimental do Hospital Veterinário da Universidade Católica Dom Bosco - UCDB. Os animais foram distribuídos em baias individuais, higienizadas diariamente equipadas com comedouro e bebedouro contendo água potável e ração comercial balanceada fornecida “*ad libitum*”.

Foram coletadas amostras de sangue para dosagem de creatinina sérica e de urina para dosagem de proteínas, logo que os animais foram recepcionados. Iniciou-se o tratamento com antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime[®], Rhodia Farma LTDA) na dose de 20 mg/kg/dia, por via intravenosa, que durou três semanas. Após o tratamento, uma segunda coleta de sangue e urina foi feita. A análise de sangue foi realizada pelo analisador de estimacão Reflotron Plus[®] e a de urina pelo analisador Urisys 1100[®], ambos da empresa Roche. Após 30 dias do início do tratamento, os animais foram submetidos a eutanásia conforme Resolução N°714, de 20 de junho de

2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária¹⁷, que dispõe sobre os procedimentos e métodos de eutanásia em animais. O procedimento incluiu sedação dos animais com acepromazina, na dosagem de 0,2 mg/kg via intramuscular profunda e após 10 minutos, aplicação de anestésico geral, tiopental, na dose de 25 mg/kg via intravenosa. Depois de atingido o plano anestésico adequado foi administrado uma dose letal de cloreto de potássio (2 mmol/kg, apresentação do frasco de KCl 19,1%: 2,56 mEq/mL). Após a comprovação da morte do animal realizou-se a necropsia e retirada dos órgãos a serem analisados que foram preservados em formol tamponado a 10%, pH 7,2.

Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com o Comitê de Ética da Universidade Católica dom Bosco N 74/2008B.

As amostras dos tecidos foram fixadas em formalina tamponada 10%, processadas pelos métodos convencionais e embebidos em parafina para rotina histológica. Cortadas em secções seriadas de 3 µm de espessura, desparafinadas em xilol e hidratadas com concentrações decrescentes de álcool. Coradas pelos métodos: Hematoxylin-Eosin (HE) para visualização das alterações morfológicas; Periodic-acid schiff (PAS) para alterações de membrana basal; e Picrosirius para evidênciação de fibrose. A leitura das lâminas realizada em microscopia de luz.

Para descrever os achados histopatológicos renais à microscopia óptica, utilizaram-se as classificações segundo critérios da Organização Mundial de Saúde²⁰. Para as análises comparativas os cães foram divididos em dois grupos: os que apresentaram lesão glomerular e os que não apresentavam lesão.

A análise estatística foi feita através do Teste t pareado para as médias das variáveis proteinúria e creatinina, antes e após o tratamento, para os cinco animais; e o Teste t para médias independentes, quando comparados os grupos (com alteração glomerular e glomérulo normal). As diferenças consideradas estatisticamente significativas para $p < 0,05$.

RESULTADOS

Na histopatologia foram encontradas alterações glomerulares compatíveis com glomeruloesclerose segmentar e focal (Figura 1) em material de dois cães, nos outros três os glomérulos estavam normais. Na Tabela 1 estão apresentadas as alterações tubulointersticiais observadas, de acordo com as alterações glomerulares. Os animais sem alterações glomerulares apresentavam túbulos normais e em um havia pequena presença de infiltrado inflamatório. Já nos casos de glomeruloesclerose segmentar e focal os túbulos apresentavam-se dilatados (Figura 2), sendo que em um havia também

a presença de cilindros; ambos apresentavam também infiltrado inflamatório periglomerular e áreas de fibrose (Figura 2).

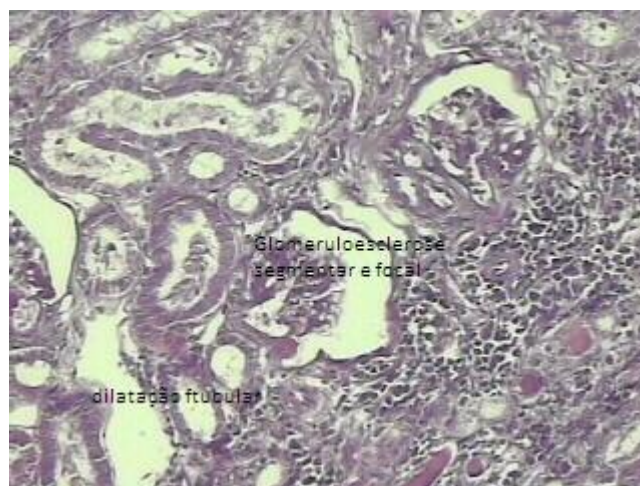


Figura 1- Glomerulosclerose segmentar e focal e dilatação tubular, HE 10x

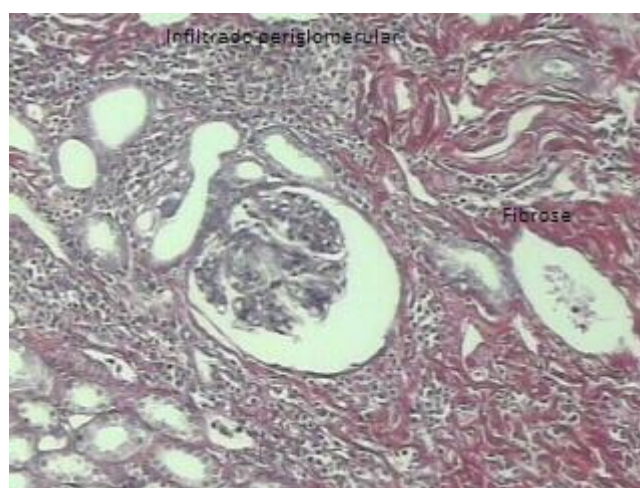


Figura 2 – Infiltrado periglomerular e áreas de fibrose, picrosirius 10x

Tabela 1 – Alterações tubulointersticiais e níveis iniciais e finais de proteinúria e creatinina sérica, de acordo com a presença de lesão glomerular, em cães tratados com antimoníato (N=5).

Glomérulo	Túbulo	Interstício	Proteinúria		Creatinina sérica	
			Inicial	Final	Inicial	Final
Sem lesão	Normal	Normal	75	0	1,05	0,675
Sem lesão	Normal	Normal	25	0	1,150	0,612

Sem lesão	Normal	Infiltrado inflamatório perivascular	25	500	0,500	0,678
GESF	Hipertrofia	Infiltrado inflamatório e fibrose peritubular	500	25	0,645	0,730
GESF	Hipertrofia e cilindros	Infiltrado inflamatório periglomerular	150	150	0,960	0,815

GESF: Glomeruloesclerose segmentar e focal.

Na Tabela 1 estão os valores absolutos da proteinúria e creatinina sérica, no início e ao final do experimento, dos cinco cães, de acordo com os achados de alteração glomerular, avaliado no exame histopatológico pós-eutanásia.

Os valores absolutos demonstram uma grande variabilidade da proteinúria, entre os grupos e mesmo dentro do grupo. Variabilidade esta observada tanto nos dados iniciais como nos finais. Assim como, nos valores da creatinina inicial. Isso leva a um grande distanciamento entre a média do conjunto (N=5) comparado a média dos grupos isolados – normais (N=3) e glomeruloesclerose segmentar e focal (N=2); conseqüentemente uma grande variância dos resultados. Com isso, não se observou diferença estatística significativa quando comparados os valores iniciais e finais das variáveis analisadas, nem na comparação destes valores entre os grupos.

DISCUSSÃO

Por serem os animais do experimento sintomáticos, debilitados e com risco de sangramento e conseqüente risco de vida, optou-se por não realizar uma biopsia renal antes do tratamento. Como parâmetro de lesão renal antes do tratamento utilizou-se estudo¹⁹ realizado em material renal de 100 cães provenientes da mesma instituição que os 5 cães deste estudo, o qual revelou 48% de glomérulos normais, 18% de glomerulonefrite membranosa, 18% de glomerulonefrite membranoproliferativa, 14% de glomerulonefrite segmentar e focal e 2% de glomerulonefrite crônica. Estes dados inferem que uma amostra de cães com LVC provenientes do CCZ tem uma probabilidade de 48% de não terem alteração histopatológica renal, ou seja, havia a possibilidade de já no início do tratamento alguns cães do experimento apresentarem histopatologia normal e outros com algum grau de alteração histopatológica a nível renal.

No presente estudo, as alterações histológicas observadas nos glomérulos foram de GESF. Dentre as alterações glomerulares na leishmaniose visceral canina as mais comumente encontradas são a glomerulonefrite membranoproliferativa e a membranosa, seguidas da glomeruloesclerose segmentar e focal.

Costa *et al*¹⁵ em estudo com 55 cães encontraram lesões glomerulares menores, glomeruloesclerose segmentar e focal, glomerulonefrite proliferativa mesangial, glomerulonefrite membranoproliferativa, glomerulonefrite crescentica e glomerulonefrite crônica. Estudo em cães natural e experimentalmente infectados com *L(L) chagasis* encontrou glomerulonefrite mesangial focal ou difusa e com proliferação de células mesangiais, nefrite intersticial com intenso infiltrado de plasmócitos e dilatação tubular²⁰.

Alterações como cilindrúria e hipertrofia tubular, assim como infiltrados inflamatórios periglomerulares e peritubulares estavam presentes neste estudo, sendo as mesmas alterações já previamente relatadas^{15,21,22}.

A GESF caracteriza-se por áreas de fibrose no tecido renal, sendo estas irreversíveis.

Os níveis séricos da creatinina mantiveram-se dentro da normalidade (0,5 a 1,5 mg/dL) desde o início do experimento. A presença de proteinúria no início do experimento demonstrava haver comprometimento na filtração glomerular, e foi observada em ambos os grupos; mesmo nos cães que apresentavam glomérulos normais. Em dois animais deste grupo ocorreu a desaparecimento da proteinúria no pós-tratamento.

Amostras pequenas e que apresentam grande variância podem levar a erros estatísticos e de interpretação dos resultados²³. Portanto, no conjunto das análises, quando se comparou os valores iniciais e finais da proteinúria e creatinina de todos os animais e entre os grupos, não foi possível estabelecer significância estatística; mesmo que os números absolutos demonstrem uma melhora nos dados coletados. Como esta melhora foi mais observada em cães sem lesão glomerular pode-se inferir que as alterações sejam mais dependentes da presença de lesão glomerular antes do tratamento.

A determinação dos parâmetros da função renal (creatinina e uréia séricas e proteinúria) é útil para avaliar o grau de lesão renal e monitoramento clínico durante o tratamento. O fato de a creatinina sérica persistir elevada durante o tratamento sugere um prognóstico reservado²⁴. Este dano renal é causado pela deposição de imunocomplexos IgG e IgM²⁵.

Os parâmetros da creatinina aqui encontrados ficaram próximos aos resultados encontrados por Freitas *et al*²⁶, no grupo de cães subclínicos com LVC e que não apresentavam alterações clínicas e laboratoriais. No estudo de Costa *et al*¹⁵ os cães com lesões glomerulares mínimas não apresentavam proteinúria e a creatinina sérica estava normal, mas nos cães com alterações glomerulares estes indicadores apresentaram alterações, além disso, estes autores afirmam que apesar das diferenças peculiares das espécies e maior evolução da doença no cão, as lesões glomerulares e intersticiais são semelhantes na doença no cão e no homem.

Cães que foram tratados com Glucantime[®] e que não apresentavam insuficiência renal, tiveram uma probabilidade 75% maior de sobrevivência por 4 anos²⁷. Já em cães com disfunção renal, o uso do antimoniató não melhorou a função renal²⁸. Estes relatos demonstram que quanto mais grave a lesão renal pior será a evolução da doença.

Estudo em humanos com diagnóstico de leishmaniose visceral, internados no Hospital Universitário/UFMS, indicou um risco relativo maior de persistência dos níveis elevados de creatinina sérica naqueles pacientes que apresentavam níveis altos de creatinina isolada ou associada à proteinúria já na admissão, sendo que um mês após o término do tratamento estes níveis tenderam a normalidade²⁹.

A proteinúria esteve presente em 57%³⁰ e 90,9%³¹ dos pacientes com leishmaniose visceral avaliados, demonstrando o comprometimento da função renal. A proteinúria tendeu a normalidade após um mês de tratamento³⁰.

Estudo realizado em três hospitais de referência para tratamento da leishmaniose visceral em Campo Grande, MS, demonstrou que, entre os pacientes tratados com antimoniató, 58,2% apresentaram reações adversas, sendo a insuficiência renal aguda a causa mais frequente, presente em 53,4% destes casos; assim como a causa de óbito em 20% dos pacientes estudados³².

Em dois estudos, no Hospital Universitário/UFMS também em Campo Grande, MS: o primeiro demonstrou mortalidade de 85,0% nos pacientes que apresentavam comorbidades como: insuficiência renal, hepática ou cardíaca, sendo estas, contraindicações ao uso do antimoniató³³. No segundo, de 13 pacientes tratados com antimoniató 61,5% apresentaram insuficiência renal e destes 75,0% evoluíram a óbito³⁴.

Em caso humano a suspensão do Glucantime[®] por uma semana e posterior retorno ao tratamento, reverteu a nefropatia intersticial no seguimento do paciente³⁵.

Experimento utilizando o dobro da dose usual do antimonial causou nefrotoxicidade, mas o seguimento dos pacientes revelou tendência a normalização da função renal após 30 dias do termino do tratamento³⁶.

Embora o seguimento dos animais ter sido curto no presente estudo, verificou-se também uma tendência a redução dos indicadores de nefropatia, principalmente nos animais sem alteração glomerular.

Com este estudo pode-se inferir que as alterações renais provocadas tanto pela doença, como pelo seu tratamento com antimoniato são similares no cão e no homem. E que as alterações provocadas inicialmente pelo parasita e posteriormente pelo antimoniato tendem a se normalizar com o tempo, com exceção dos casos onde já exista um comprometimento maior da função renal. Através de um estudo imunohistoquímico e/ou imunofluorescência poderá ser obtido um preditor de prognóstico da evolução da lesão renal e do indivíduo com leishmaniose, dependendo dos imunocomplexos obtidos a nível renal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil, Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Departamento de vigilância epidemiológica. Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral. Brasília: Ministério da saúde, 120p. 2003.
2. Balanã-Fouce R, Reguera RM, Cubria C, Ordóñez D. Gen Pharmacol. 1998;30(4):435-43.
3. Berman JD, Wyler DJ. An invitro model for investigation of chemotherapeutic agents in leishmaniasis. J Infect Dis. 1980;142(1):83-6.
4. Limongi JP. In: Corbett CE. Farmacodinâmica. Ed Arte Médicas: São Paulo, 1973, cap 61.
5. Tracy JW, Webster Jr LT. Drugs used in the chemotherapy of protozoal infections: amebiasis, trichomiasis, trypanosomiasis, leishmaniasis, and other protozoal infections. In: Hardman JC, Limbird LE, Gilman AG, editors. Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill; 2001 p. 1097-113.
6. Cucé LC, Belda Junior W, Dias MC. Alterações renais por hipersensibilidade ao uso de antimonial pentavalente (Glucantime®) na leishmaniose tegumentar americana. Relato de um caso. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1990;32(4):249-51.

7. Rodrigues MLO, Costa RS, Souza CS, Foss NT, Roselino AMF. Nephrotoxicity attributed to megalumine antimoniate (Glucantime) in the treatment of generalized cutaneous leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1999;41(1):33-7.
8. Daher, ELF, Silva Junior GB, Lima RS, Aragão EB, Arruda GA, Galeano NM, Mota RM, Oliveira RA, Silva SL. Clinical presentation and renal evaluation of human visceral leishmaniasis (kala-azar): a retrospective study of 57 patients in Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2008; 12(4):329-32.
9. Oliveira AL, Brustoloni YM, Fernandes TD, Dorval ME, Cunha RV, Bóia MN. Severe adverse reactions to meglumine antimoniate in the treatment of visceral leishmaniasis: a report of 13 cases in the southwestern region of Brazil. *Trop Doct*. 2009;39(3):180-2.
10. Moura FJ, Leal PP, Souza Furtado R, Muniz-Junqueira MI, Veiga JP. Pentoxifylline prevents the megalumine antimoniate-induced renal toxicity in rats, but not that induced by the inorganic antimony pentacholide. *Toxicology*. 2008;243(1-2):66-74.
11. Costa FA, Guerra JL, Silva SM, Klein RP, Mendonça IL, Goto H. CD4⁺ T cells participate in the nephropathy of canine visceral leishmaniasis. *Braz J Med Biol Res*. 2000;33:1455-58.
12. Noli C. Leishmaniasis canina. *Waltham Focus*. 1999; 9:16-24
13. Lopez R, Lucena R, Novales M, Ginel PJ, Martin E, Molleda M. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. *J Vet Med B*. 1996; 43:467-74.
14. Moreno J, Nieto J, Chamizo C, González F, Blanco F, Barker DC, et al. The immune response and PBMC subsets in canine visceral leishmaniasis before, and after, chemotherapy. *Vet Immunol Immunopathol*. 1999; 71(3-4):181-95.
15. Costa FA, Goto H, Saldanha LC, Silva SM, Sinhorini IL, Silva TC, Guerra JL. Histopathologic patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. *Vet Pathol*. 2003;40:677-84.
16. Moura ROD, De Paula VV, Soares MJV. Alterações renais em cães (*Canis familiaris*) soropositivos para leishmaniose: aspectos clínicos, laboratoriais e histopatológicos. *Rv Bras Med Vet*. 2002; 24(2):61-64.
17. Conselho Federal de Medicina Veterinária (Brasil). Resolução CFNV nº1000 de 11 de maio de 2012. Dispõe sobre os procedimentos e métodos de eutanásia em animais. D Of União. 17 mai 2012; seção 1:124-5. Disponível em: www.in.gov.br.

18. Churg J, Sobin LH, editors. Renal disease: classification and atlas of glomerular diseases. Tokyo: Igaku-Shoin; 1995.
19. Rigo RS, Carvalho CME, Honer MR, Andrade GB, Silva IS, Rigo L, Figueiredo HR, Barreto WTG. Renal histopathological findings in dogs with visceral leishmaniasis. Rev Inst Med Trop S Paulo. No prelo 2012.
20. Tafuri WL, Michalick MS, Dias M, Genaro O, Leite VH, Barbosa AJ, et al. Estudo ao microscópio óptico e eletrônico de rim de cães natural e experimentalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1989;31(3):139-45.
21. Albuquerque BCNC, Maia FCL, Silva Jr VA, Lima AMA, Albuquerque ERC, Pimentel DS, et al. Alterações estruturais em rins de caninos naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi*. R Bras Ci Vet. 2008;15(1):3-5.
22. Gomes LA, Goto H, Guerra JLG, Mineiro ALB, Silva SMMS, Costa FAL. RPCV. 2008;103:157-63.
23. Dawson B, Trapp RG. Bioestatística: básica e clínica. 3ª Ed Rio de Janeiro: McGraw Hill. 2003. 364p.
24. Ciaramella P, Corona M. Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. Vet Learn. 2003;25:358-368.
25. Soares MJV, Moraes JRE, Moraes FR. Renal involvement in canine leishmaniasis: a morphological and immunohistochemical study. Arq Bras Med Vet Zootec. 2009;61(4):785-90.
26. Freitas JCC, Nunes-Pinheiro DCS, Lopes Neto BE, Santos GJL, Abreu CRA, Braga RR, Campos RM, Oliveira LF. Clinical and laboratory alterations in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. Rev Soc Bras Med Trop. 2012;45(1):24-9.
27. Splapperndel, Teske E. The effect of intravenous or subcutaneous administration of megalimine antimoniate (glucantime®) in dogs with leishmaniasis. A randomized clinical trial. Vet Q. 1997;19(1):10-3.
28. Ikeda-Garcia FA, Lopes RS, Ciarlini PC, Marques FJ, Lima VM, Perri SH, Feitosa MM. Evaluation of renal and hepatic functions in dogs naturally infected by visceral leishmaniasis submitted to treatment with megalumine antimoniate. Res Vet Sci. 2007;83(1):105-8
29. Rigo RS, Rigo L, Honer MR. Aspectos clínicos e laboratoriais na leishmaniose visceral americana. J Bras Nefrol. 2009;31(1):48-54.

30. Dutra M, Martinelli R, Carvalho EM, Rodrigues LE, Brito E, Rocha H. Renal involvement in visceral leishmaniasis. *Am J Kidney Dis.* 1985;6:22-7.
31. Salgado Filho N, Ferreira TMAF, Costa JML Envolvimento da função renal em pacientes com leishmaniose visceral (calazar). *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003;36(2):217-21.
32. Oliveira JM, Fernandes AC, Dorval MEC, Alves TP, Fernandes TD, Oshiro ET, Oliveira ALL. Mortalidade por leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(2):188-93.
33. Alvarenga DG, Escalda PMF, Costa ASV, Monreal MTFD. Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados à letalidade. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(2):194-97.
34. Oliveira AL, Brustoloni YM, Dorval ME, Cunha RV, Boia MN. Severe adverse reactions to meglumine antimoniate in the treatment of visceral leishmaniasis: a report of 13 cases in the southwestern region of Brazil. *Trop Doct.* 2009;39(3):180-2.
35. Kaaroud H, Mhibik S, B Ji S, Moussa FB, Abdallah TB, Maiz HB. Visceral leishmaniasis in patient with sicca syndrome and nephropathy. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2003;14(4):526-9.
36. Sampaio RNR, Paula CDR, Sampaio JHD, Furtado RS, Leal PP, Rosa TT, Rodrigues ME, Veiga JPR. Avaliação da tolerância e nefrotoxicidade do antimonial pentavalente administrado na dose de 40mgSbv/kg/dia, de 12/12h, por 30 dias na forma cutâneo-mucosa de leishmaniose. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1997;30:457-63.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pelo fato do cão desenvolver a doença de maneira similar ao homem, e devido às contra indicações de estudo histopatológico *in vivo*, o cão pode ser utilizado como modelo para estudo da leishmaniose visceral. E que as lesões renais existem mesmo em períodos iniciais da doença e nas formas assintomáticas e oligossintomáticas da doença.

Conclui-se que a avaliação da função renal no momento do diagnóstico e no decorrer do tratamento da doença em humanos; é fundamental para o prognóstico da mesma.

No pós-tratamento com antimoníato as lesões encontradas nos cães foram glomeruloesclerose segmentar e focal e nefrite tubulointersticial, lesões estas também descritas em humanos tratados com este medicamento.

Por tanto, é de extrema necessidade a utilização de marcadores da função renal como, creatinina sérica e proteinúria qualitativa, no início e durante o tratamento para avaliação do prognóstico da evolução da doença.

No entanto, maiores estudos através da realização de imunofluorescência e ou imunohistoquímica, auxiliarão na determinação de prognóstico da doença, dependendo dos depósitos de imunocomplexos encontrados à nível renal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS COMPLEMENTARES

1. Rey, L. Parasitologia. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
2. Barros E, Thomé FS, Karohl C. Fisiologia renal aplicada. In: Barros E, Manfro RC, Thomé FS et al. Nefrologia: rotinas, diagnóstico e tratamentos. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 1999.
3. Kirsztajn GM. Glomerulonefrite membranoproliferativa. In: Barros RT, Alves MAR, Dantas M et al. Glomerulopatias: patogenia, clínica e tratamento. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2006.
4. Soares VA, Viero RM, Barros RT. Glomerulonefrite membranosa. In: Barros RT, Alves MAR, Dantas M et al. Glomerulopatias: patogenia, clínica e tratamento. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2006.
5. Dantas M, Costa RS. Glomeruloesclerose segmentar e focal. In: Barros RT, Alves MAR, Dantas M et al. Glomerulopatias: patogenia, clínica e tratamento. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2006.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministérios da Saúde, 2003.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Sistema de informação de agravos de notificação. Brasília, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, 2006. [acesso em 7 Ago 2011] Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinsnweb/novo/>
8. Migone LE. Un cas de Kalazar en Assuncion (Paraguay). Bulletin de la Societé de Pathologie Exotique; 1913; 6:118-120.
9. Alencar JE, Dietze R. Leishmaniose visceral (Calazar). In: Veronesi R. Doenças infecciosas e parasitárias. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 8 ed, 1991. p 706-17.

10. Nicolle C, Comte C. Origine du Kala azar. *Comptes Rendues de l'Académie des Sciences de Paris*. 1908; 146:789.
11. Chagas E, Cunha AM, Ferreira LC, et al. Leishmaniose visceral americana (relatório dos trabalhos realizados pela comissão encarregada do estudo da leishmaniose visceral americana em 1937). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1938; 33:189-229.
12. Deane LM. Leishmaniose visceral no Brasil: estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Tese Doutorado - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo-SP, Brasil, 1956, 162p.
13. Oshiro ET, Dorval MEMC. Cartilha sobre leishmaniose canina. Campo Grande: Conselho Regional de Medicina Veterinária, 2002.
14. Lamonthe J. Treatment of canine leishmaniasis from A (Anfotericin B) to Z (Ziloric®). In: *Canine leishmaniasis: update. Proceedings of the international canine leishmaniasis forum*, Barcelona: Spain. 1999.
15. Hadman E, Bullen DVR. Leishmaniasis of the host macrophage. *Trends Parasitol*. 2002;18(8):332-4.
16. Murray HW. Endogenous interleukin-12 regulates acquired resistance in experimental visceral leishmaniasis. *J Infect Dis*. 1997;175(6):1477-9.
17. Martinelli R, Lorenço L, Rocha H. Absence of clinical abnormalities suggesting renal involvement during long-term course of visceral leishmaniasis. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1986;19(4):209-12.
18. Wesinger JR, Pinto A, Velazquez JA, Bronstein I, Dessene JJ, Duque JF, Montenegro J, Tapanes F, de Rouse AR. Clinical and histological kidney involvement in human kala-zar. *Am J Trop Med Hyg*. 1978;27(2):357-9.
19. Salgado Filho N, Ferreira TM, Costa JM. Envolvimento da função renal em pacientes com leishmaniose visceral (calazar). *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(2):217-21.
20. Venkat KK. Proteinuria and microalbuminuria in adults: significance, evaluation, and treatment. *South Med J*. 2004;97(10):969-79.
21. Cho BS, Kim SD, Choi YM, Kang HH. School urinalysis screening in Korea: prevalence of chronic renal. *Pediatr Nephrol*. 2001;16(12):1126-8.
22. Fisher MA, Talbot GH, Maislin G, Mekeon BP, Tynan KP, Strom BL. Risk factors for amphotericin B associated nephrotoxicity. *Am J Med*. 1989;87(5):547-52.
23. Dutra M, Martinelli R, Carvalho EM, Rodrigues LE, Brito E, Rocha H. Renal involvement in visceral leishmaniasis. *Am J Kidney Dis* 1985;6(1):22-7.

24. Rai US, Kumar H, Kumar U. Renal dysfunction in patients of kala-azar treated with sodium antimony gluconate. *J Assoc Physicians India*. 1994;42(5):383.
25. Caravaca F, Muñoz A, Pizaro JL, Saez de Santamaría J, Fernandez-Alonso J. Acute renal failure in visceral leishmaniasis. *Am J Nephrol*. 1991;11(4):350-2.
26. Daher EF, Evangelista LF, Silva Junior GB, Lima RSA, Aragão EB, Arruda GAJC, et al. Clinical presentation and renal evaluation of human visceral leishmaniasis (Kala-azar): a retrospective study of 57 patients in Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2008;12:329-32.
27. Duarte MI, Silva MR, Goto H, Nicodemo EL, Amato Neto V. Interstitial nephritis in human kala-azar. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1983;77(4):531-7.
28. Badaró R, Duarte MIS. Leishmaniose visceral (Calazar). In: Veronesi R, Focaccia R. *Tratado de infectologia*. São Paulo:Ateneu, 1999. p. 1234-59.
29. Barral-Neto M, Badaró R, Barral A, Almeida RP, Santos SB, Badaró F, Pedral-Sampaio D, Carvalho EM, Falcoff E, Falcoff R. Tumor necrosis factor in human visceral leishmaniasis. *J Infect Dis*. 1991;163(4):853-7.
30. Galvão-Castro B, Sá Ferreira JA, Marzochi KF, Marzochi MC, Coutinho SG, Lambert PH. Polyclonal B cell activation, circulating immune complexes and autoimmunity in human american visceral leishmaniasis. *Clinn Exp Immunol*. 1984;56(1):58-66.
31. Campos-Neto A, Bunn-Moreno MN. Polyclonal B cell activation in hamsters infected with parasites of the genus *Leishmania*. *Infect Immun*. 1982;38(3):871-6.
32. Splappendel RJ. Canine leishmaniasis: a review based on 95 cases in the Netherlands. *Vet Q*. 1988;10(1):1-16.
33. Abranches P, Santos CL, Gomes GM. Canine leishmaniasis: new concepts in epidemiology and immunology and their reflections in the control of human visceral leishmaniasis. *Acta Med Port*. 1998;11(10):871-5.
34. Dutra M, Martinelli R, Carvalho EM, Rodrigues LE, Brito E, Rocha H. Renal involvement in visceral leishmaniasis. *Am J Kidney Dis* 1985;6(1):22-7.
35. Prasad LSN, Sem S, Ganguly SK. Renal involvement in Kala-zar. *Indian J Med Res*. 1991;95:43-6.
36. Silva RA, Viana GMC, Varonil C, Pires B, Nascimento MDSD, Costa JML. Leishmaniose visceral (calazar) na ilha de São Luis, Maranhão, Brasil: evolução e perspectivas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1997;30(5):359-68.

37. Brito T, Hoshino-Shimuzi S, Amato-Neto V, Duarte IS, Penna DO. Glomerular involvement in human kala-azar: a light microscopical immunohistochemical and electron-microscopic study based on kidney biopsies. *Am J Trop Med Hyg.* 1975;24(1):9-18.
38. Killick-Kendrick R, Kellick-Kendrick M, Pinelli E, Del Real G, Molina R, Vitutia MM, Canãvate MC, Nieto J. A laboratory model of canine leishmaniasis: the inoculation of dogs with *Leishmania infantum* promastigotes from midguts of experimentally infected phlebotomine sandflies. *Parasite.* 1994;1(4):311-81.
39. Rhalem A, Sahibi H, Guessous-Idrissi N, Lasri S, Natami A, Riyad M, Berrag B. Immune response against leishmania antigens in dogs naturally and experimentally infected with *Leishmania infantum*. *Vet Parasitol.* 1999;81(3):173-84.
40. Cabral M, O'Grady JE, Gomes S, Sousa JC, Thompson H, Alexander J. The immunology of canine leishmaniasis: strong evidence for a developing disease spectrum for asymptomatic dogs. *Vet Parasitol.* 1998;76(3):173-80.
41. Cabral M, McNerney R, Gomes S, O'Grady JE, Frame I, Sousa JC, Miles MA, Alexander J. Demonstration of natural leishmania infection in asymptomatic dogs in the absence of specific humoral immunity. *Arch Inst Pasteur Tunis.* 1993;70(3-4):473-9.
42. Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferrer L. Canine leishmaniasis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol.* 2008;24(7):324-30.
43. Pinelli E, Killick-Kendrick R, Wagenaar J, Bernadina W, del Real G, Ruitenberg J. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. *Infect Immun.* 1994;62(1):229-35.
44. Reis AB, Teixeira-Carvalho A, Vale AM, Marques MJ, Guinchetti RC, Mayrink W, Guerra LL, Andrade RA, Correa-Oliveira R, Martins-Filho AO. Isotype patterns of immunoglobulins: hallmarks for clinical status and tissue parasite density in Brazilian dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Vet Immunol Immunopathol.* 2006;112(3-4):102-16.
45. Carrillo E, Ahmed S, Goldsmith-Pestana K, Nieto J, Osorio Y, Travi B, Moreno J, McMahon-Pratt D. Immunogenicity of the P-8 amastigote antigen in the experimental model canine visceral leishmaniasis. *Vaccine.* 2007;25(8):1534-43.
46. Guinchetti RC, Mayrink W, Carneiro CM, Correa-Oliveira R, Martins-Filho AO, Marques MJ, Tafuri WL, Reis AB. Histopathological and immunohistochemical investigations of the hepatic compartment associated with parasitism and serum biochemical changes in canine visceral leishmaniasis. *Res Vet Sci.* 2008;84(2):269-77.

47. Costa FA, Goto H, Saldanha LC, Silva SM, Sinhorini IL, Silva TC, Guerra JL. Histopathological patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. *Vet Pathol.* 2003;40(6):677-84.
48. Jain A, Berthwal M, Tiwari V, Maitra SC. Immune complex mediated lesions in experimental Kala-zar: an ultrastructural study. *Indian J Pathol Microbiol.* 2000;43(1):13-6.
49. Course WG. Pathogenesis of glomerular damage in glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant.* 1998;13(suppl1):10-5.
50. Quinnell RJ, Kennedy LJ, Barnes A, Courtenay O, Dye C, Garcez LM, Shaw MA, Carter SD, Thomson W, Ollier WE. Susceptibility to visceral leishmaniasis in the domestic dogs is associated with MHC class II polymorphism. *Immunogenetics.* 2003;55(1):23-8.
51. Altet L, Francino O, Solano-Gallego L, Renier C, Sánchez A. Mapping and sequencing of the canine NRAMP1 gene and identification of mutations in leishmaniasis – susceptible dogs. *Infect Immun.* 2002;70(6):2763-71.
52. Poli A, Abrano F, Mancianti F, Nigro M, Pieri S, Bionda A. Renal involvement in canine leishmaniasis: a light microscopic immunohistochemical and electron-microscopic study. *Nephron.* 1991;57(4):444-52.
53. Tafuri WL, Michalick MS, Dias M, Genaro O, Leite VH, Barbosa AJ, Bambirra EA, da Costa CA, Melo MN, Mayrink W. Estudo ao microscópio óptico e eletrônico do rim de cães natural e experimentalmente infectados com *Leishmania chagasi*. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1989;31(3):139-45.
54. Marcussen N, Vetner M, Kristensen HM. Interstitial nephritis and glomerulonephritis in visceral leishmaniasis in dog: a case report. *APMIS.* 1989;97(12):1137-40.
55. Murray HW, Nathan CF. Macrophage microbicidal mechanisms in vivo: reactive nitrogen versus oxygen intermediates in the killing of intracellular visceral *Leishmania donovani*. *J Exp Med.* 1999;189(4):741-6.
56. Cabral M, O'Grady J, Alexander J. Demonstration of *Leishmania* specific cell mediated and humoral immunity in asymptomatic dogs. *Parasite Immunol.* 1992;14(5):531-9.
57. Pinelli E, Gonzalo RM, Boog CJ, Rutten VP, Gebhard D, del Real G, Ruitenberg EJ. *Leishmania infantum*-specific T cell lines derived from asymptomatic dogs that lyse

- infected macrophages in a major histocompatibility complex-restricted manner. *Eur J Immunol.* 1995;25(6):1594-600.
58. Pinelli E, Rutten VP, Bruysters M, Moore PF, Ruitenber EJ. Compensation for decreased expression of B7 molecules on *Leishmania infantum*-infected canine macrophages results in restoration of parasite-specific T-cell proliferation and gamma interferon production. *Infect Immun.* 1999;67(1):237-43.
59. Liew FY, O'Donnell CA. Immunology of leishmaniasis. *Adv Parasitol.* 1993;2:161-259.
60. Solano-Gallego L, Rodriguez A, Iniesta L, Arboix M, Portus M, Alberola J. Detection of anti-*Leishmania* immunoglobulin G antibodies in urine specimens of dogs with leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003;10(5):849-55.
61. Guarga JL, Moreno J, Lucientes J, Gracia MJ, Peribanez MA, Alvar J, Castillo JA. Canine leishmaniasis transmission: higher infectivity amongst naturally infected dogs to sand flies is associated with lower proportions of T helper cells. *Res Vet Sci.* 2000;69(3):249-53.
62. Mountz JD, Zhou T, Su X, Wu J, Cheng J. The role of programmed cell death as an emerging new concept for the pathogenesis of autoimmune diseases. *Clin Immunol Immunopathol.* 1996;80(3 Pt 2):S2-14.
63. Sanchez MA, Diaz NL, Zerpa O, Negron E, Convit J, Tapia FJ. Organ-specific immunity in canine visceral leishmaniasis: analysis of symptomatic and asymptomatic dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;70(6):618-24.
64. Benderitter T, Casanova P, Nashkidachvili L, Quilici M. Glomerulonephritis in dogs with canine leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol.* 1988;82(4):335-41.
65. Palacio J, Liste F, Gascon M. Enzymuria as an index of renal damage in canine leishmaniasis. *Vet Rec.* 1997;140(18):477-80.
66. Van Alderwegen IE, Bruijn JA, de Heer E. T cell subsets in immunologically-mediated glomerulonephritis. *Histol Histopathol.* 1997;12(1):241-50.
67. Huang XR, Tipping PG, Apostolopoulos J, Oettinger C, D'Souza M, Milton G, Holdsworth SR. Mechanisms of T cell-induced glomerular injury in anti-glomerular basement membrane (GBM) glomerulonephritis in rats. *Clin Exp Immunol.* 1997;109(1):134-42.

68. Hotta O, Yusa N, Furuta T, Onodera S, Kitamura H, Taguma Y. Membranoproliferative glomerulonephritis in the aged and its possible causal relationship with CD8+CD57+ lymphocytes. *Clin Nephrol.* 1998;49(3):138-44.
69. Tipping PG, Huang XR, Qi M, Van GY, Tang WW. Crescentic glomerulonephritis in CD4- and CD8-deficient mice. Requirement for CD4 but not CD8 cells. *Am J Pathol.* 1998;152(6):1541-8.
70. Costa FA, Guerra JL, Silva SM, Klein RP, Mendonça IL, Goto H. CD4(+) T cells participate in the nephropathy of canine visceral leishmaniasis. *Braz J Med Biol Res.* 2000;33(12):1455-8.

ANEXOS

CLASSIFICAÇÃO DE BANFF

Categoria	Categoria
1. Normal	
2. Alteracoes mediadas por anticorpos: DSA positivo + C4d ou histologia compativel C4d positivo sem alteracoes histologicas	
Rejeicao aguda mediada por anticorpos: I. Alteracoes similares a necrose tubular aguda com inflamacao minima II. Inflamacao capilar e/ou glomerular e/ou trombozes III. Arterial (v3) Rejeicao cronica ativa mediada por anticorpos	
3. <i>Borderline</i>	t1, 2 ou 3 + i0 ou i1/t1 + i1, 2 ou 3
4. Rejeicao mediada por celulas T Rejeicao aguda mediada por celulas T:	
Tipo IA	t2 + i2 ou 3
Tipo IB	t3 + i2 ou 3
Tipo IIA	Qualquer t/i; v1
Tipo IIB	Qualquer t/i; v2
Tipo III	Qualquer t/i; v3
Rejeicao cronica ativa mediada por celulas T	
5. FI/AT sem evidencias de etiologia	

especifica	
6. Outras alteracoes, nao atribuiveis a rejeicao	
A) Critérios quantitativos de tubulite (t)	
t0	Sem mononucleares tubulares
t1	Focos com 1-4 mononucleares por secao tubular
t2	Focos com 5-10 mononucleares por secao tubular
t3	Focos com >10 mononucleares por secao tubular
C) Critérios quantitativos de glomerulites (g)	
g0	Sem glomerulites
g1	Glomerulites em ate 25% dos glomerulos
g2	Glomerulites em ate 25%-75% dos glomerulos
g3	Glomerulites em > 75% dos glomerulos
B) Critérios quantitativos de inflamação intersticial (i)	
i0	Sem inflamacao significativa
i1	10%-25% de inflamacao intersticial cortical
i2	26%-50% de inflamacao intersticial cortical
i3	50% de inflamacao intersticial cortical
DSA: anticorpo especifico contra o doador	

Fonte: Sementilli , A. , *et al.* Patologia do transplante renal: achados morfologicos principais e como laudar as biopsias • J Bras Patol Med Lab • v. 44 • n. 4 • p. 293-304 • agosto 2008

CLASSIFICAÇÃO DE CHURG

Classificação OMS/ISKDC, 198214.

Ia Normal sob todas as técnicas

Ib Normal à MO; depósitos à IF e/ou ME

IIa GN mesangial, com hiper celularidade / expansão mesangiais
d i s c r e t a s

IIb GN mesangial, com hiper celularidade / expansão mesangiais
m o d e r a d a s

IIIa GN segmentar e focal com lesões necrotizantes ativas

IIIb GN segmentar e focal com lesões ativas e esclerosantes

IIIc GN segmentar e focal com lesões esclerosantes

IVa GN difusa, sem lesões segmentares

IVb GN difusa, com lesões necrotizantes ativas

IVb GN difusa, com lesões ativas e esclerosantes
Va GN membranosa difusa pura
Vb GN membranosa associada à classe II
Vc GN membranosa associada à classe III
Vd GN membranosa difusa associada à classe IV
VI GN esclerosante avançada

Fonte: Churg J, Sobin LH. Renal disease: Classification and atlas of glomerular diseases. New York/Tokyo: **Igaku-Shoin**; 1982.