



## Alterações estruturais hepáticas e esplênicas em cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha e Chagas, 1937)<sup>(1)</sup>

[Structural changes in the liver and spleen of dogs (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha & Chagas, 1937)]

### "Artigo Científico/Scientific Article"

DS Pimentel<sup>A(\*)</sup>, ERC Albuquerque<sup>B</sup>, MAG Faustino<sup>A</sup>, FCL Maia<sup>C</sup>, RAN Ramos<sup>A</sup>, LC Alves<sup>A</sup>

<sup>A</sup>Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos do Departamento de Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Av. Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, CEP-52171 900 Recife-PE/Brasil.

<sup>B</sup>Médico Veterinário Autônomo.

<sup>C</sup>Laboratório de Patologia do DMV da UFRPE.

#### Resumo

O objetivo deste estudo foi descrever as alterações estruturais no fígado e baço de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* provenientes da Região Metropolitana do Recife, Nordeste do Brasil. Amostras de tecido do fígado e baço de 21 cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* foram acondicionadas em solução de formalina tamponada à 10%, cortadas com espessura de 4 µm, sendo as lâminas coradas pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). Na avaliação histopatológica foi evidenciado infiltrado linfoplasmocitário e esteatose em 76% e 80%, respectivamente, das amostras de tecido hepático. Por outro lado, uma reação inflamatória crônica e hipertrofia do Sistema Fagocítico Mononuclear foi encontrada em 57% de ambos os tecidos analisados, assim como distúrbios circulatórios foram observados em 86% dessas amostras. Contudo, formas amastigotas de *Leishmania sp* foram visualizadas em 28% (06/21) dos cortes histológicos do tecido esplênico. Em conclusão, as alterações estruturais do fígado e do baço são diretamente determinadas pela resposta imune e pela presença do parasito.

**Palavras-chave:** calazar canino, patologia, sistema fagocítico mononuclear.

#### Abstract

The goal of this study was to evaluate the structural changes in the liver and spleen of dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* in the Metropolitan Region of Recife, Northeast of Brazil. At necropsy, samples tissues of liver and spleen from 21 dogs were collected in neutral-buffered 10% formalin and sections of 4µm were made and stained with hematoxylin and eosin (HE). Histopathological evaluation showed infiltrated with lympho-plasmocytes and steatosis in 76% and 80% of liver tissue respectively. On the other hand a chronic inflammatory reaction and hypertrophy of the mononuclear phagocytosis system was found in 57% of both liver and spleen tissues samples and circulatory disorders were also observed in 86% of these samples. However amastigote burdens of *Leishmania sp* were detected in 28% (06/21) of histological sections of spleen tissues. In conclusion the structural changes of liver and spleen were directly determined by the immune response and the presence of parasite.

**Key-words:** canine kala-azar, pathology, mononuclear phagocytic system.

<sup>(1)</sup>Trabalho extraído da Dissertação de Mestrado do primeiro autor apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

<sup>(\*)</sup>Autor para correspondência/Corresponding author ([danillopimentel@gmail.com](mailto:danillopimentel@gmail.com)).

<sup>(S)</sup>Recebido em 28/08/07 e aceito em 27/12/07.

## Introdução

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença multissistêmica causada pela *Leishmania (Leishmania) chagasi*, que parasita as células do Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM) do baço, fígado, linfonodos e medula óssea de vários hospedeiros vertebrados incluindo o homem (MARZOCHI et al., 1981; POCAI et al., 1998). No ambiente urbano, o cão assume um importante papel em função de ser considerado o principal reservatório da infecção (MILES et al., 1999; ASHFORD, 2000). Neste contexto, as manifestações clínicas observadas nos cães com LV incluem dermatopatias com presença de formas amastigotas, perda de peso progressiva, linfadenopatia, nefrite, artrites e distúrbios hemorrágicos (KEENAN et al., 1984; FERRER et al., 1998; KOUTINAS et al., 1999), além de oftalmopatias (BRITO et al., 2006).

Em função do parasitismo das formas amastigotas de *Leishmania (Leishmania) chagasi* nas células do SFM e estimulação da resposta imune humoral (AWASTHI et al., 2004), sinais de hepatoesplenomegalia também caracterizam o calazar canino (BOGLIOLO, 1941).

Com este trabalho teve-se o objetivo de descrever as alterações estruturais no fígado e baço de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi*, provenientes da Região Metropolitana do Recife.

## Material e Métodos

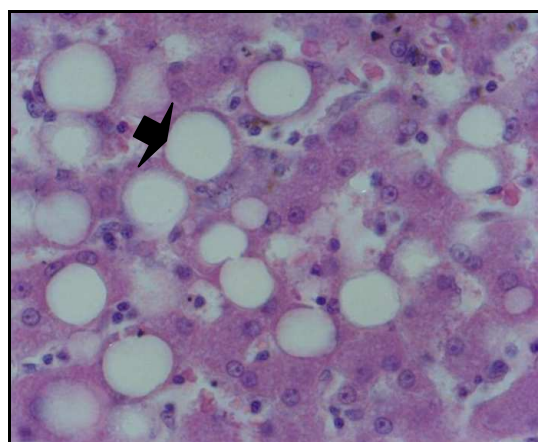
Foram utilizados fragmentos de fígado e baço de 21 cães com exame parasitológico e/ou sorológico ao teste ELISA positivo para *Leishmania (Leishmania) chagasi*, provenientes da Região Metropolitana do Recife, obtidos por ocasião das necropsias realizadas na Área de Patologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

O grupo controle foi constituído por seis cães procedentes do Centro de Vigilância Ambiental com exame parasitológico negativo

e/ou sorologia negativa ao teste ELISA para *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Os fragmentos devidamente acondicionados em formalina tamponada a 10% foram processados de acordo com as técnicas de rotina para inclusão em blocos de parafina, cortados com espessura de 4 micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) e corados pela técnica da Hematoxilina-Eosina (H.E.), sendo a análise das lâminas realizada posteriormente em microscopia óptica.

## Resultados e Discussão

Macroscopicamente observou-se, no fígado, congestão, hemorragias do tipo petequiral, hepatomegalia e degeneração gordurosa, caracterizada pela consistência friável e cor amarelada do órgão em 80% (17/21) das amostras analisadas e microscopicamente, a presença de gotículas de lipídeos no citoplasma dos hepatócitos (Figura 1).



**Figura 1** - Degeneração gordurosa (esteatose) hepática, em cães com infecção natural por *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Observar gotículas de lipídeos no citoplasma dos hepatócitos (Seta).

É provável que a degeneração gordurosa observada seja causada por uma diminuição da produção de fosfolipídeos (VAZ et al., 2006) devido a quedas metabólicas das células em função da cronicidade da doença, da hiperplasia e

hipertrofia das células do SFM, além das alterações homeostáticas que ocorrem no órgão (BOGLIOLO, 1956).

Por outro lado, a análise microscópica das 21 amostras de fragmentos hepáticos dos cães naturalmente infectados por *L. (L.) chagasi*, evidenciaram um infiltrado inflamatório linfohistioplasmocitário nos espaços perivascularares, notadamente no espaço porta, com predominância de macrófagos, linfócitos, plasmócitos e escassos polimorfonucleares, aliado a uma hiperplasia e hipertrofia de células do SFM em 76% (16/21) das amostras analisadas.

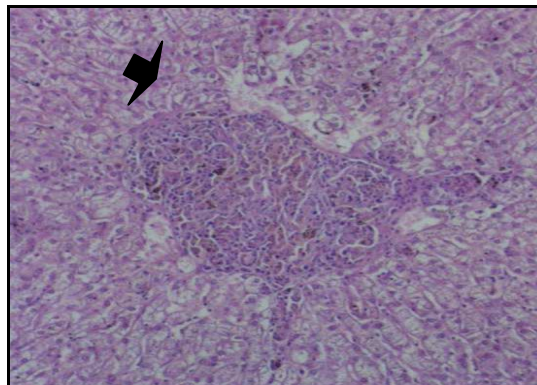
Esses achados concordam com aqueles descritos por Tafuri et al. (1996) que consideraram essas lesões compatíveis com quadros de hepatite crônica em cães com LVI. Por outro lado, Tafuri et al. (2001) e Rallis et al. (2005) interpretaram que a hiperplasia e hipertrofia das células do SFM ocorre devido a uma resposta imune induzida pela *L. (L.) chagasi*.

Foram observadas áreas de necrose dos hepatócitos e congestão dos sinusóides em 38% (08/21) e 86% (18/21) das amostras analisadas, respectivamente.

Além do caráter crônico da doença (BOGLIOLO, 1956), a ativação do sistema imune (CHAPMAN et al., 1984), caracterizada pela presença de células T e CD4 (ENGWERDA et al., 2004), e deposição de imunoglobulinas nos sinusóides hepáticos, (GOTO et al., 2001) que ocorre na LV, podem ter contribuído para o surgimento da degeneração e da necrose (FERRER et al., 1998; RALLIS et al., 2005).

Por outro lado, Keenan et al. (1984), Chapman et al. (1984) e Rallis et al. (2005) descreveram que o aumento da circulação e conseqüentemente a congestão hepática ocorrem devido aos processos inflamatórios instalados no órgão em virtude da infecção.

Granuloma inflamatório intralobular (Figura 2) com predominância de macrófagos com hemossiderina e plasmócitos foi observado em 57% (12/21) das amostras estudadas.



**Figura 2** - Granuloma hepático (Seta), em cães com infecção natural por *Leishmania (Leishmania) chagasi* tendo origem do infiltrado inflamatório linfohistioplasmocitário no parênquima do órgão.

A presença do granuloma hepático também foi relatada por Tafuri et al. (1996), Tafuri et al. (2001), Tafuri et al. (2004) e Rallis et al. (2005), em cães naturalmente infectados por *L. (L.) chagasi*. Contudo, em função da ausência de parasitas nos macrófagos, os dados aqui apresentados são discordantes de Tafuri et al. (2001) e Tafuri et al. (2004), que observaram parasitismo intenso por *L. (L.) chagasi* nos macrófagos circunvizinhos ao granuloma hepático.

Macroscopicamente foram observadas alterações na consistência do baço, o qual se mostrou mais firme ao corte e com áreas de espessamento da cápsula. Esplenomegalia e congestão foram verificadas em 95% (20/21) dos órgãos analisados.

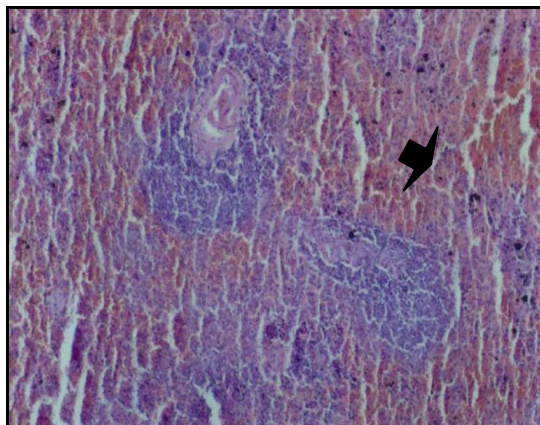
Microscopicamente foi evidenciada uma reação inflamatória difusa crônica nesse órgão, com predominância de macrófagos, plasmócitos e poucos polimorfonucleares, especificamente na região subcapsular e na polpa vermelha do baço em 43% (09/21) das amostras analisadas. Espessamento da cápsula, assim como do sistema trabecular também foram observados em 57% (12/21) dos animais estudados.

Esses achados estão de acordo com aqueles observados por Keenan et al. (1984);

Genaro (1993), Oliveira et al. (1993), Tafuri et al. (1996) e Engwerda et al. (2004), que relataram que as alterações verificadas nos folículos linfóides e células reticulares se devem a uma intensa resposta imune do organismo, por deposição de imunoglobulinas e pelo parasitismo das células do SFM pelo protozoário.

Na polpa vermelha evidenciou-se o parasitismo pelas formas amastigotas de *L. (L.) chagasi* nos macrófagos junto aos focos inflamatórios em 28% (06/21) das amostras estudadas. Tafuri et al. (2001) asseguram que é na polpa vermelha que ocorre uma intensa proliferação de macrófagos, fato que favorece o encontro de formas amastigotas de *L. (L.) chagasi* no órgão.

Congestão nos seios esplênicos (Figura 3) foi verificada em 95% (20/21) das amostras estudadas, assim como a hiperplasia e hipertrofia das células do SFM os quais foram encontradas em 86% (18/21) das amostras.



**Figura 3** - Congestão dos seios esplênicos. Macrófagos com pigmentos escuros hemossiderose (Seta). Modificação da arquitetura do órgão em cães com infecção natural por *Leishmania (Leishmania) chagasi*.

Bogliolo (1956) descreve que os fatores responsáveis pelo aumento de tamanho e volume do baço são devido à hiperplasia e hipertrofia do SFM, congestão dos seios venosos, hipertrofia do aparelho trabecular e

acúmulo de hemossiderina nos macrófagos entre as células reticulares do baço. Contudo, Pires et al. (2006) relatam que o aumento de tamanho e volume do órgão ocorrem por distúrbios na microvascularização esplênica.

### Conclusão

De acordo com os achados deste estudo, verificou-se que existem injúrias ao parênquima dos órgãos estudados, notadamente pela própria resposta do hospedeiro em função da presença das formas amastigotas de *L. (L.) chagasi* em células do SFM.

### Referências

- ASHFORD, R.W. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.1269-1281, 2000.
- AWASTHI, A. et al. Immune response to *Leishmania* infection. **Indian Journal Medical Research**, v.119, p.238-258, 2004.
- BOGLIOLO, L. Sobre a anatomia patológica da leishmaniose visceral (a *Leishmania donovani*). **O Hospital**, v.20, n.4, p.117-142, 1941.
- BOGLIOLO, L. Nova contribuição ao conhecimento da anatomia patológica da leishmaniose visceral. A propósito de um caso brasileiro e com especial referência a fibrose hepática leishmaniótica. **O Hospital**, v.3, p.101-164, 1956.
- BRITO, F.L.C. et al. Ocular alterations in dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.768-775, 2006.
- CHAPMAN, W.L. et al. Antileishmanial activity of liposome-encapsulated meglumine antimonate in the dog. **American Journal of Veterinary Research**, v.45, n.5, p.1028-1030, 1984.
- ENGWERDA, C.R. et al. Macrophages, pathology and parasite persistence in experimental visceral leishmaniasis. **Trends in Parasitology**, v.20, p.524-530, n.11, 2004.
- FERRER, L.M. et al. Identification of *Leishmania donovani* amastigotes in canine tissue by immunoperoxidase staining. **Research Veterinary Science**, v.44, p.194, 1998.
- GENARO, O. **Leishmaniose visceral canina**

**experimental.** 1993. 202 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Federal de Minas Gerais.

GOTO, H. et al. Detection of immunoglobulin G in the lung and liver of hamsters with visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.34, p.539-543, 2001.

KEENAN, C.M. et al. Visceral Leishmaniasis in the German Shepherd Dog. I. Infection. Clinical Diseases, and Clinical Pathology. **Veterinary Pathology**, v.21, p.74-79, 1984.

KOUTINAS, A.F. et al. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis (CVL) in Greece: a retrospective study of 158 spontaneous cases (1989-1996). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.35, p.376-383, 1999.

MARZOCHI, M.C.A. et al. Leishmaniose visceral (Calazar). **Journal of Brazilian Medicin**, v.41, n.5, p.61-84, 1981.

MILES, M.A. et al. Canine leishmaniasis in Latin America: control strategies. From Canine Leishmaniasis: an update. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 1999. Barcelona. **Proceedings...** Barcelona: Hoechst Roussel Vet, 1999. p.46-53.

OLIVEIRA, G.G.S. et al. The subclinical form of experimental visceral leishmaniasis in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.88, n.2, p.243-248, 1993.

PIRES, A.G. et al. Leishmaniosis: a report about

the microvascular and cellular architecture of the infected spleen in *Canis familiaris*. **Microscopical Research Techniqui**, v.69, n.4, p.227-35, 2006.

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

RALLIS, M.J.D.T. et al. Chronic hepatitis associated with canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*): a clinicopathological Study of 26 cases. **Journal of Companion Pathology**, v.132, p.145-152, 2005.

TAFURI, W.L. et al. Histopathology and immunocytochemical study of type 3 and type 4 complement receptors in the liver and spleen of dogs naturally and experimentally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v.38, n.2, p.81-89, 1996.

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

TAFURI, W.L. et al. An alternative immunohistochemical method for detecting *Leishmania* amastigotes in paraffin-embedded canine tissues. **Journal of Immunological Methods**, v.292, p.17-23, 2004.

VAZ, J.S. et al. Fatty acids as biological markers of fat intake. **Revista de Nutrição**, v.19, n.4, p.489-500, 2006.