

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO ELETROFISIOLÓGICA E
HISTOPATOLÓGICA DO MÚSCULO ESTRIADO
ESQUELÉTICO EM CÃES NATURALMENTE
ACOMETIDOS PELA LEISHMANIOSE VISCERAL**

Gisela Cristiane Ferraro
Médica Veterinária

JABOTICABAL – SP – BRASIL
2008

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO ELETROFISIOLÓGICA E
HISTOPATOLÓGICA DO MÚSCULO ESTRIADO
ESQUELÉTICO EM CÃES NATURALMENTE
ACOMETIDOS PELA LEISHMANIOSE VISCERAL**

Gisela Cristiane Ferraro

Orientadora: Prof. Adjunto Mary Marcondes

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, *campus* de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Patologia Animal).

Jaboticabal – SP
Agosto – 2008

FICHA CATALOGRÁFICA (verso da 2ª. capa)

F376a Ferraro, Gisela Cristiane
Avaliação eletrofisiológica e histopatológica do músculo estriado esquelético em cães naturalmente acometidos pela leishmaniose visceral / Gisela Cristiane Ferraro -- Jaboticabal, 2008
xv, 90f. : il.; 28 cm

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008

Orientadora: Mary Marcondes

Banca Examinadora: Márcia Dalastra Laurenti, Raimundo Souza Lopes, Rosemeri de Oliveira Vasconcelos, Maria Rita Pacheco.

Bibliografia

1. Leishmaniose visceral 2. Miopatia 3. Eletromiografia
4. Histopatologia 5. Cão I. Título. II. Jaboticabal - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias

CDU 619:616.993.161:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – Unesp, *campus* de Jaboticabal.
E-mail: gcferraro@gmail.com

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: AVALIAÇÃO ELETROFISIOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA DO MÚSCULO ESTRIADO ESQUELÉTICO EM CÃES NATURALMENTE ACOMETIDOS PELA LEISHMANIOSE VISCERAL

AUTORA: GISELA CRISTIANE FERRARO

ORIENTADORA: Dra. MARY MARCONDES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR em MEDICINA VETERINÁRIA área de PATOLOGIA ANIMAL pela Comissão Examinadora:

Dra. MARY MARCONDES

Dra. MARCIA DALASTRA LAURENTI

Dra. MARIA RITA PACHECO

Dra. ROSEMERI DE-OLIVEIRA VASCONCELOS

Dr. RAIMUNDO SOUZA LOPES

Data da realização: 04 de agosto de 2008.

Presidente da Comissão Examinadora

Dra. MARY MARCONDES

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

GISELA CRISTIANE FERRARO – Natural de São Paulo, SP, nascida em 02 de setembro de 1970, ingressou no curso de Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, *campus* de Jaboticabal, em março de 1996, concluindo-o em dezembro de 2000. Em março de 2001, iniciou o curso de mestrado em Medicina Veterinária (Patologia Animal) na mesma unidade universitária, concluindo-o em junho de 2003. Em agosto de 2004, ingressou no curso de Doutorado, pelo Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária (Patologia Animal), desta Universidade, concluindo-o em agosto de 2008.

“Não entendo. Isso é tão vasto que ultrapassa qualquer entender. Entender é sempre limitado. Mas não entender pode não ter fronteiras. Sinto que sou muito mais completa quando não entendo. Não entender, do modo como falo, é um dom. Não entender, mas não como um simples de espírito. O bom é ser inteligente e não entender. É uma benção estranha, como ter loucura sem ser doida. É um desinteresse manso, é uma doçura de burrice. Só que de vez em quando vem a inquietação: quero entender um pouco. Não demais: mas pelo menos entender que não entendo.

Por isso...

Eu escrevo sem esperança de que o que eu escrevo altere qualquer coisa. Não altera em nada... Porque no fundo a gente não está querendo alterar as coisas. A gente está querendo desabrochar de um modo ou de outro..."

CLARICE LISPECTOR

Tantas são as maneiras de recebermos 'vida'...

Vida que foi dada através do ventre e selada eternamente com o mais sublime dos amores...

Vida recebida em cada crédito incondicional, em cada "é possível!", em cada "estar feliz" com nossos
pequenos passos, tal qual um anjo que vela pelo sossego de nossa alma...

Vida que vinha pelas histórias contadas de uma vida de muito trabalho, da postura ereta e um tanto
sisuda, de quem estava sempre pronta para empunhar uma imaginária varinha de marmelo sapecada com óleo
[a mais eficaz das educadoras!!]...

Vida oferecida no nome emprestado e no amor que, atravessando mares, venceu todas as ausências...

Vida compartilhada pelas mãos estendidas, numa generosidade que não se explica, só se entende como um
presente de Deus...

Vida que deu a vida ao amor de uma vida inteira...

Vida que se materializou através dos desafios intelectuais lançados e dos incentivos que fizeram despertar
sonhos, estruturar projetos, estabelecer metas e redimensionar horizontes...

mas daí, achamos que chega o momento que estamos prontos para também oferecer 'vida'... ledo engano... pois
é exatamente então que a recebemos numa plenitude assombrosa, celestial, algo parecidíssimo com Deus,
capaz de fazer com que nossas almas andem para sempre de joelhos: vida da minha vida...

Dedico,

**às mulheres da minha vida, pela
partilha de fatias de vida...**

Eva [in memoriam] – minha mãe,

Rosária – minha tia,

Luzia [in memoriam] – avó materna,

Gisella [in memoriam] – avó paterna,

Eveline – amiga e "irmã",

Yolanda – mãe do Mauro,

Isabel Kimie Próspero – professora de matemática do ginásio e

Letícia – minha filha...

Rumo!
Estrada turva
Sou despedida
Por entre lenços brancos
De partida
Em cada curva
Sem ter você
Vou mais só...

Corro!
Rompendo laços
Abraços, beijos
Em cada passo
É você, quem vejo
No tele-espaço
Pousado em cores
No além...

Brando!
Corpo celeste
Meta metade
Meu santuário
Minha eternidade
Iluminando
O meu caminho e fim...

Dando!
A incerteza
Tão passageira
Nós viveremos
Uma vida inteira
Eternamente
Somente os dois
E a Lelê...

Eu vou de sol a sol
Desfeito em côr
Refeito em som
Perfeito em tanto amor...
[Teletema -- Ivo Pessoa]

Ofereço,

ao colega, amigo, companheiro, pai
da Lelê e homem da minha vida,
Mauro.

“O nascimento do pensamento é igual ao nascimento de uma criança: tudo começa com um ato de amor. Uma semente há de ser depositada no ventre vazio. E a semente do pensamento é o sonho. Por isso os educadores, antes de serem especialistas em ferramentas do saber, deveriam ser especialistas em amor: intérpretes de sonhos.”

[A alegria de ensinar – Rubem Alves]

E *em especial,*

à Profa. Dra. Mary Marcondes,

pela orientação, amizade, compreensão,

confiança, empenho, doação,

bom humor, talento,

competência e generosidade...

Obrigada!

Aos *animais*,

por darem sentido ao
que fazemos...

AGRADECIMENTOS

“Ninguém nasce, neste mundo, sem a obrigação de agradecer...”

[P.C. Vasconcelos Jr.]

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Jaboticabal e ao seu curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, pelo ensejo da realização do doutorado.

À Profa. Dra. Rosângela Zacarias Machado e DD. Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária dessa unidade universitária, pela confiança e por toda a compreensão.

Aos professores dessa casa Dra. Rosemeri de Oliveira Vasconcelos, Dra. Márcia Rita Fernandes Machado, Dra. Maria Rita Pacheco, e, muito especialmente, Dr. Edanir dos Santos pelas participações na banca examinadora do exame geral de qualificação e pelas sugestões para a melhoria desse trabalho.

Aos professores Dra Márcia Dalastra Laurenti [USP, São Paulo], Dr. Raimundo de Souza Lopes [UNESP, Botucatu], Dra. Maria Rita Pacheco [UNESP, Jaboticabal], e, muito especialmente, Dra. Rosemeri de Oliveira Vasconcelos [UNESP, Jaboticabal] pelas participações na banca examinadora da defesa e pelas sugestões para a melhoria desse trabalho.

À Profa. Dra. Julieta Rodini Engrácia de Moraes [UNESP, Jaboticabal], por tudo que me possibilitou desenvolver desde a iniciação científica até o início desse doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa do Programa Social – Cota da Pró-Reitoria, recebida no período 2007-2008.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo suporte financeiro para a realização desse trabalho.

À Direção do Hospital Veterinário “Luiz Quintiliano de Oliveira”, do Curso de Medicina Veterinária, da Faculdade de Odontologia, UNESP – Araçatuba, pela permissão do uso de suas instalações para a realização dos exames eletromiográficos e colheita das amostras.

À Profa. Dra. Gisele Fabrino Machado do Departamento de Clínica Cirurgia e Reprodução Animal do Curso de Medicina Veterinária, da Faculdade de Odontologia, UNESP – Araçatuba, pela orientação na análise histopatológica e leitura das lâminas.

À Profa. Dra. Valéria Marçal Félix Lima do Laboratório de Imunologia do Departamento de Clínica Cirurgia e Reprodução Animal do Curso de Medicina Veterinária, da Faculdade de Odontologia, UNESP – Araçatuba, pela realização do método de ELISA para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina.

Ao Denis Carvalho Costa, aluno de iniciação científica do Curso de Medicina Veterinária, da Faculdade de Odontologia, UNESP – Araçatuba, pela leitura das lâminas para o diagnóstico parasitológico e pela ajuda na colheita de todo o material.

À Camila Mariana Vieira e Celina Bertelli Simões, alunas de iniciação científica do Curso de Medicina Veterinária, da Faculdade de Odontologia, UNESP – Araçatuba, pela ajuda na colheita do material.

Ao Centro de Controle de Zoonoses de Araçatuba – SP, pela disponibilização dos animais.

À Profa. Dra. Márcia Rita Fernandes Machado do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV, UNESP – Jaboticabal, pelo uso do seu laboratório para a leitura das lâminas e realização das fotomicrografias, e pela disposição em colaborar sempre.

Ao Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte e ao auxiliar acadêmico Paulo Antonio Tosta do Departamento de Zootecnia da FCAV, UNESP – Jaboticabal, pelo uso do Laboratório de Citogenética e Genética Molecular para a leitura das lâminas de Picro-sírius em microscópio sob luz polarizada.

Ao Laboratório de Histopatologia do Departamento de Patologia Animal da FCAV, UNESP – Jaboticabal, nas pessoas das auxiliares técnicas Francisca de A. Ardisson e Maria Inês Y. de Campos, pela confecção das lâminas histológicas.

Aos funcionários dessa casa, especialmente dos setores de Pós-graduação e Biblioteca, pela atenção e presteza.

À Dra. Silvia Mazzali-Verst, médica fisiatra da Sociedade Brasileira de Medicina Física e Reabilitação, pelo estágio concedido em eletroneuromiografia na Clínica de Eletrofisiologia Santa Ágata, Jundiá – SP.

Ao Dr. Adauri Bueno de Camargo, médico fisiatra e neurofisiologista do Departamento de Neurofisiologia Intra-operatória do Montefiore Medical Center, Nova Iorque – EUA, pela orientação na análise eletromiográfica.

Aos colegas da UNESP – Araçatuba: Fabiana Ikeda, Cláudio Rossi e residentes por toda a atenção e ajuda... ao Denis, Camila e Celina, pelas risadas e boas horas que passamos juntos na colheita do material.

A todos os colegas da pós-graduação e, em especial, ao Leandro Martins por toda colaboração no uso dos microscópios.

À Donna, Luli, Mila, Tati, Luana e Loura, por divertirem a *Lelê*.

Aos amigos, Ana Paula e Glauco [*e Mariana*], César, Fabrício, Silmara e Xandó [*e Larissa e Lucas*], e Vanessa, por sempre estarem presentes, pela diversão, cor e sabor de nossos encontros.

À Dona Olympia [*in memoriam*], pela torcida.

À grande família Bueno de Camargo, por todo o carinho.

Aos compadres, Dau e Matt, pelo incentivo, torcida e pelas diversas formas de apoio.

À colega de profissão, amiga do coração, irmã por opção e, principalmente, comadre, Eves, por TUDO... e por TANTO... em TODO momento.

Ao Leo e Vini, pelos laços que nos unem.

Aos meus pais Fausto e Eva e, ao tio Fiore [*in memoriam*], pelo amor e saudade.

À Tia Rosária, pela presença.

Ao Mauro, pela *Lelê* e pelo doutorado.

À luz e essência da minha vida, *LETÍCIA*, minha filha! A-L-E-G-R-I-A!!!!

E à Deus por se manifestar através das pessoas que contribuíram com a realização desse trabalho...

Muito Obrigada!!!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	xiv
SUMMARY	xv
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	3
Leishmaniose visceral	3
Avaliação da musculatura estriada esquelética	7
III. MATERIAL E MÉTODOS	21
Local de realização do projeto	21
Animais	21
Colheita de sangue total	22
Pesquisa de anticorpos anti- <i>Leishmania chagasi</i> no soro	22
Eletromiografia	22
Atividade Elétrica Inersional (AEI)	24
Atividade Elétrica de Repouso (AER)	24
Atividade Elétrica Voluntária (AEV)	24
Exame citológico de linfonodo, baço e fígado	25
Análise histopatológica	25
Análise estatística	26
IV. RESULTADOS	28
Eletromiografia	28
Análise histopatológica	32
V. DISCUSSÃO	36
VI. CONCLUSÕES	43
VI. REFERÊNCIAS	43
APÊNDICES	57
Apêndice A: Técnica de ELISA para leishmaniose visceral, como descrita	

por LIMA et al. (2005), para determinar a presença de IgG anti- <i>Leishmania</i> sp. no soro dos animais	58
Apêndice B: Resultados individuais dos exames sorológico e parasitológico dos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral	59
Apêndice C: Resultados individuais do exame físico geral dos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral	60
Apêndice D: Resultados individuais dos animais obtidos nas análises eletromiográfica e histopatológica para cada músculo avaliado	61

AVALIAÇÃO ELETROFISIOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA DO MÚSCULO ESTRIADO ESQUELÉTICO EM CÃES NATURALMENTE ACOMETIDOS PELA LEISHMANIOSE VISCERAL

RESUMO – A leishmaniose visceral canina é uma enfermidade geralmente crônica que pode causar hipertermia, perda progressiva de peso, caquexia e atrofia muscular. Existem na literatura relatos da observação de formas amastigotas do parasita na musculatura estriada esquelética de cães, entretanto a patogenia da miopatia permanece incerta. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar as alterações eletromiográficas e histopatológicas em músculos estriados esqueléticos de cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral. Para tanto, 25 cães adultos, machos ou fêmeas, sem raça definida e com diagnóstico parasitológico e sorológico estabelecido para a doença foram utilizados. Os músculos selecionados foram: cabeça longa do tríceps braquial, extensor carpo radial, bíceps femoral e cabeça lateral do gastrocnêmio. Entre os achados eletromiográficos estão o aumento (24% dos cães) e diminuição (68%) da atividade elétrica insersional; presença de potenciais espontâneos (52%) durante a atividade elétrica de repouso, caracterizados por ondas positivas, fibrilações e descargas complexas repetitivas; e recrutamento alterado (72%) na atividade elétrica voluntária. O exame histopatológico revelou variados graus de degeneração e necrose (80%); presença de infiltrado inflamatório mononuclear (48%); presença de fibrose (56%); variação no diâmetro das miofibras (60%); e presença de células adiposas no endomísio (40%). Estas alterações são consistentes com um quadro de polimiosite em fase crônica para 52% dos animais, em fase aguda para 8% e em fase indefinida em 16%.

Palavras-Chave: eletromiografia, *Leishmania* sp., miopatia, polimiosite

ELECTROPHYSIOLOGICAL AND HISTOPATHOLOGICAL EVALUATION OF SKELETAL MUSCLE OF DOGS WITH VISCERAL LEISHMANIASIS

SUMMARY – Canine visceral leishmaniasis is a chronic disease that can cause fever, progressive weight loss, cachexia and muscle atrophy. There are few reports in literature that describe the observation of amastigote forms of the parasite in muscles, however, the pathogenesis of the myopathy remains unclear. The aim of the present study was to evaluate the electromyographic and histopathologic changes in skeletal muscle of dogs naturally infected by visceral leishmaniasis. For this, twenty-five adult mongrels of both sexes with a parasitologically and serologically established diagnosis of leishmaniasis were used. The muscles selected were: triceps brachialis, extensor carpi radialis, biceps femoris and gastrocnemius. The electromyograph abnormalities included decreased (68% of dogs) and increased (24%) insertion activity; abnormal spontaneous activity (52%) in the form of positive sharp waves, fibrillation potentials and bizarre high frequency discharges and abnormal recruitment of motor unit action potential (72%) during voluntary activity. Histological examination showed various degrees of degeneration and myonecrosis (80%), perimysial and endomysial lymphocyte infiltrations (48%), variation in myofiber sizes (60%), and replacement of muscle fibers by fibrous tissue (56%) and adipose tissue (40%). These changes were considered to be consistent with a chronic phase of polymyositis in 52% of the dogs, in acute phase for 8% and variable phase for 16% of the dogs.

Keywords: electromyographic, *Leishmania* sp., myopathy, polymyositis

I. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral é uma doença endêmica que atinge populações dos cinco continentes, sendo conhecida, na América Latina, como leishmaniose visceral americana ou calazar neotropical.

Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde, a prevalência mundial das diferentes formas clínicas da enfermidade ultrapassa 12 milhões de casos. O Brasil é responsável por 90% dos casos de leishmaniose visceral humana no continente americano, sendo que, dos 27 estados brasileiros, 20 já apresentam casos da doença.

O primeiro caso autóctone de leishmaniose visceral canina no estado de São Paulo foi diagnosticado em maio de 1998, no município de Araçatuba. A partir de então, o número de animais acometidos pela doença na região vem aumentando consideravelmente, sendo que, de acordo com os dados da Direção Regional de Saúde, 41 municípios já apresentam a enfermidade, que está se difundindo para outras regiões do Estado, inclusive com casos autóctones identificados na região metropolitana da cidade de São Paulo desde o ano de 2005.

No município de Araçatuba, cerca de 37.000 cães foram submetidos à eutanásia entre 1998 e 2006, período este em que foram confirmados 911 casos humanos, dos quais 83 vieram a óbito. A Organização Mundial de Saúde vem chamando a atenção sobre o aumento do número de casos de co-infecção entre leishmaniose visceral e o vírus da imunodeficiência humana (HIV), especialmente no sul da Europa.

As manifestações clínicas da leishmaniose visceral variam de acordo com a patogenicidade do parasita, que difere entre as espécies, e com as respostas imunológicas celulares geneticamente determinadas. Apesar de ser freqüente a ocorrência de mioatrofia em cães portadores de leishmaniose visceral, pouco se sabe sobre a patogênese da doença no sistema muscular.

Partindo-se da hipótese de que o quadro muscular em cães acometidos pela leishmaniose não seja simplesmente devido a uma mioatrofia conseqüente a um quadro de emagrecimento progressivo, que pode levar o cão à caquexia, é que se concebeu o

presente ensaio, com o objetivo de avaliar possíveis alterações eletromiográficas e histopatológicas em músculos dos membros torácicos e pélvicos, na tentativa de obter uma melhor compreensão da fisiopatologia da doença no sistema muscular.

II. REVISÃO DE LITERATURA

Leishmaniose visceral

A leishmaniose é uma enfermidade causada por um protozoário pertencente à família *Trypanosomatidae* (DOFLEIN, 1901) e gênero *Leishmania* (ROSS, 1903). A leishmaniose visceral tem como agente etiológico leishmanias do complexo donovani, que compreende a *Leishmania (Leishmania) donovani*, na Ásia e África; *Leishmania (Leishmania) infantum* na Ásia, Europa e África e *Leishmania (Leishmania) chagasi* (CUNHA & CHAGAS, 1937) nas Américas.

As leishmanias são protozoários pleomórficos, com formas flageladas que se desenvolvem no tubo digestório de um inseto vetor, e formas aflageladas ou amastigotas que vivem e se multiplicam no interior de células do sistema mononuclear fagocitário de um hospedeiro vertebrado (SLAPPENDEL & FERRER, 1998).

Os hospedeiros vertebrados incluem o homem, animais silvestres e animais domésticos como cães e gatos (SLAPPENDEL & FERRER, 1998). O cão possui grande importância epidemiológica no ambiente doméstico. Enquanto a prevalência da infecção em cães em áreas endêmicas pode ser superior a 50%, a prevalência da doença varia entre três e 10% (FERRER, 2002).

Os vetores implicados na transmissão das leishmanioses são insetos denominados flebotomíneos. A principal espécie nas Américas é a *Lutzomyia longipalpis*, conhecida popularmente no Brasil como mosquito palha, birigüi ou tatuquira (REY, 2001). A transmissão da doença ocorre quando as fêmeas do mosquito, infectadas com formas promastigotas, alimentam-se em hospedeiros susceptíveis. Durante o repasto sangüíneo estas formas são inoculadas na pele e fagocitadas por células do sistema mononuclear fagocitário, principalmente os macrófagos. No interior dos macrófagos as formas promastigotas perdem o flagelo, diferenciando-se em amastigotas, as quais se multiplicam por sucessivas divisões binárias. As células densamente parasitadas rompem-se, liberando estas formas que serão fagocitadas por novos macrófagos. Ocorre, então, a disseminação hematogênica e linfática para tecidos

ricos em células do sistema mononuclear fagocitário. A infecção do vetor ocorre quando as fêmeas, ao sugarem o sangue de mamíferos infectados, ingerem macrófagos parasitados (FERRER, 2002; MICHALICK & GENARO, 2007).

Em camundongos inoculados com *Leishmania* sp., demonstrou-se que os macrófagos infectados por parasitas atuam como células apresentadoras de antígenos aos linfócitos T do tipo CD4+. Estes linfócitos são estimulados a produzir interleucinas e, dependendo do perfil estimulado, ocorre desenvolvimento de duas sub-populações de linfócitos T auxiliares, Ta1 ou Ta2. A resposta Ta1 está associada à capacidade do hospedeiro em controlar a infecção, e a resposta Ta2 mais correlacionada com a progressão da doença. A indução preferencial de linfócitos Ta1 ou Ta2 depende de alguns fatores, como a dose infectante, o mecanismo de apresentação do antígeno, a via de inoculação e o padrão genético do hospedeiro (FERRER, 2002; CIARAMELLA & CORONA, 2003; BARBIÉRI, 2006; MICHALICK & GENARO, 2007).

O período de incubação da leishmaniose visceral é bastante variável, e o início costuma ser insidioso e difícil de determinar. A evolução é geralmente crônica, no entanto, dependendo de propriedades do parasita e da imunocompetência do hospedeiro, pode ser assintomática ou aguda e grave, levando o animal a óbito em poucas semanas. Os cães, assim como os seres humanos, podem apresentar sintomas inespecíficos tais como febre irregular por longos períodos, perda progressiva de peso e caquexia em seu estágio final (GENARO, 1993).

A anemia, importante característica da leishmaniose visceral canina e humana, é provocada por perda de sangue, lise de hemácias ou, mais freqüentemente, por uma diminuição da eritropoiese devido a uma hipoplasia ou aplasia medular (KOUTINAS et al., 1999; DE LUNA et al., 2000; IKEDA et al., 2003; BANETH, 2006; MICHALICK & GENARO, 2007). O emagrecimento é geralmente um sinal de envolvimento visceral. Alguns cães perdem peso apesar de apresentarem normorexia, sendo que pacientes severamente afetados apresentam caquexia (FERRER, 2002; CIARAMELLA & CORONA, 2003; BANETH, 2006). Em muitos animais observa-se uma mioatrofia, inicialmente nos músculos das fossas temporais, seguida, sucessivamente, pelo resto da musculatura do corpo (KONTOS & KOUTINAS, 1993; FEITOSA et al., 2000). A

atrofia muscular progressiva pode ser mais proeminente nos músculos mastigatórios, e é atribuída à natureza catabólica da doença (VAMVAKIDIS et al., 2000).

Hepato e esplenomegalia são normalmente observadas em casos de leishmaniose visceral, tanto humana quanto canina. Ainda que a ocorrência de linfadenomegalia generalizada seja comum em cães, costuma ser raramente observada em seres humanos na América Latina, apesar de ser freqüente em indivíduos acometidos no Sudão (SLAPPENDEL & FERRER, 1998; KOUTINAS et al., 1999; FEITOSA et al., 2000; JERONIMO et al., 2005).

No tocante às alterações tegumentares, muitas vezes estas são os únicos sinais observados, sendo um achado comum em animais acometidos. Dentre elas destaca-se a onicogribose, que ocorre pela presença do parasita estimulando a matriz ungueal (FEITOSA et al., 2000; SCOTT et al., 2001).

Se houver deposição de imunocomplexos nos rins desenvolve-se um quadro de glomerulonefrite proliferativa associada a uma nefrite intersticial, que pode levar a uma insuficiência renal (NIETO et al., 1992; LOPEZ et al., 1996; KOUTINAS et al., 1999; NOLI, 1999). As leishmanias também se multiplicam em macrófagos do fígado produzindo uma hepatite ativa crônica, acompanhada de anorexia, perda de peso, êmese, poliúria, polidipsia e ascite (VALLADARES et al., 1997; NOLI, 1999; BLAVIER et al., 2001; FERRER, 2002).

No decurso da doença alguns cães apresentam gastroenterite decorrente de um dano parasitário direto, ou conseqüência de uma insuficiência renal (KONTOS & KOUTINAS, 1993; KOUTINAS et al., 1999; NOLI, 1999). Cães com leishmaniose visceral podem apresentar diáteses hemorrágicas. Além de ulcerações na cavidade nasal, provavelmente a principal causa da epistaxe, outras causas para a ocorrência de hemorragias incluem vasculite, seqüestro esplênico de plaquetas e trombocitopenia por aplasia ou hipoplasia medular (MORENO et al., 1998; FEITOSA et al., 2000; BLAVIER et al., 2001).

Quanto aos sintomas neurológicos relatados em cães com leishmaniose visceral, destaca-se a ocorrência de convulsões generalizadas, mioclonias, vocalização, anisocoria, midríase bilateral, nistagmo, paralisia de nervos cranianos, inclinação da

cabeça, andar em círculos, ataxia, tremor de intenção, tetraparesia e tetraplegia (MARCONDES, 2007).

Na literatura compilada, chama a atenção o relato de problemas locomotores com manifestações clínicas decorrentes de quadros de poliartrite, polimiosite, osteomielite, fissuras nos coxins, úlceras interdigitais e edema de membros em cães com leishmaniose visceral. Em alguns casos é possível a identificação de formas amastigotas nos músculos, no líquido sinovial e em tecido ósseo. A poliartrite pode ser causada também por depósito de imunocomplexos circulantes no líquido sinovial (KONTOS & KOUTINAS, 1993; WOLSCHRIJN et al., 1996; BURACCO et al., 1997; FERRER, 1999; FEITOSA et al., 2000).

Apesar da leishmaniose visceral canina causar uma doença sistêmica crônica e de haver relatos de uma ampla variedade de sintomas e lesões envolvendo todos os sistemas orgânicos (SLAPPENDEL & GREENE, 1990; FEITOSA et al., 2000), o comprometimento muscular ainda é pobremente investigado. Embora sejam descritos casos de miosite e de atrofia muscular, pouco se sabe sobre a etiopatogenia das alterações musculares (MACRI & GUARDA, 1987; VAMVAKIDIS et al., 2000; BLAVIER et al., 2001; EUGÊNIO et al., 2002), e a patogenia da mioatrofia, que comumente afeta cães com leishmaniose visceral, é atribuída à natureza catabólica da doença (DEDET & BELLAZZOUNG, 1985; KONTOS & KOUTINAS, 1993).

O diagnóstico clínico da leishmaniose visceral canina torna-se, muitas vezes, um desafio para o veterinário face à variedade de sintomas da doença e à grande percentagem de cães assintomáticos. Aliado a isso, não existe um teste diagnóstico 100% específico e sensível (FERRER, 1999; GRADONI, 2002).

Existem basicamente três categorias de provas utilizadas no diagnóstico da leishmaniose visceral: os métodos parasitológicos, os métodos sorológicos e os métodos moleculares. O método de eleição é o parasitológico, fundamentando-se na demonstração de formas amastigotas do parasita em esfregaços obtidos por meio de punções biópsias aspirativas de linfonodos, medula óssea, baço e fígado corados com corantes de rotina, ou, menos freqüentemente, em cortes histológicos de vários tecidos. Trata-se de um método com especificidade de 100% e sensibilidade dependente do grau

de parasitemia e do tipo de material biológico coletado. As formas amastigotas são reconhecidas pela sua forma esférica a ovóide, medindo de dois a cinco micrômetros e contendo um núcleo arredondado e um cinetoplasto alongado (KONTOS & KOUTINAS, 1993; BRASIL, 2003).

Se os parasitas são numerosos a identificação é fácil; contudo, em muitos casos, especialmente em animais assintomáticos, apenas poucas formas amastigotas estão presentes nos tecidos, tornando o diagnóstico incerto. No que tange às alterações histopatológicas, estas são inespecíficas, caracterizando-se por uma reação inflamatória granulomatosa com presença de células mononucleares (FERRER, 1999).

A detecção de anticorpos anti-*Leishmania* circulantes utilizando métodos sorológicos constitui um instrumento essencial no diagnóstico da leishmaniose visceral canina. Entretanto, os testes sorológicos devem ser interpretados com cautela, uma vez que não são 100% sensíveis e falham em detectar cães infectados no período pré-patente e antes da soroconversão, cães que nunca farão soroconversão e cães soropositivos que se convertem em soronegativos, mas ainda permanecem infectados. As técnicas sorológicas recomendadas atualmente pelo Ministério da Saúde para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e a reação imunoenzimática (ELISA) (BRASIL, 2003; CIARAMELLA & CORONA, 2003). Segundo ZANETTE (2006), a reação de imunofluorescência indireta apresenta 98% de sensibilidade e 91,1% de especificidade, enquanto a técnica de ELISA apresenta 94% de sensibilidade e 84,4% de especificidade.

Avaliação da musculatura estriada esquelética

O diagnóstico de doenças neuromusculares requer, muitas vezes, além de uma avaliação clínica, a realização de estudos eletromiográficos, determinação das concentrações de enzimas séricas e biopsia muscular (TORRES & NORONHA, 2006).

A maior parte das doenças musculares e do sistema nervoso periférico apresenta sintomas relacionados à musculatura estriada esquelética. No entanto, nem sempre é possível ao clínico determinar se as alterações musculares são primárias ou de origem

neurogênica. Para tanto, os testes eletrodiagnósticos podem melhorar a capacidade de avaliação do examinador, complementando o exame físico e auxiliando na localização da lesão. Em muitos casos os resultados destes procedimentos fornecem informações que não poderiam ser obtidas por outros métodos (CHRISMAN, 1991; CHRISMAN & CLEMMONS, 1993).

O objetivo da eletromiografia é demonstrar alterações qualitativas e quantitativas na atividade elétrica do músculo em repouso, após a estimulação elétrica direta ou indireta ou, ainda, durante ativação voluntária ou reflexa (DUMITRU et al., 2002).

Na exploração muscular avalia-se, durante o repouso, a atividade elétrica insercional e a atividade elétrica após a inserção (potenciais espontâneos), que indicam a situação elétrica das membranas celulares, informando se existe normo, hipo ou hiperexcitabilidade das mesmas. Por outro lado, durante a contração muscular estudam-se os potenciais de unidade motora. Essa análise fornece informações a respeito do número de fibras que estão sendo despolarizadas e sobre a condução dos impulsos nos ramos terminais do axônio (PINTO, 2006).

A inserção do eletrodo de agulha em um músculo normal não é capaz de provocar a despolarização das membranas de suas fibras. A atividade elétrica insercional (AEI) corresponde à atividade detectada pelo eletrodo de agulha enquanto atravessa a fibra muscular, através das diferenças de potencial intra e extracelulares da fibra muscular, e somente pode ser estudada com a movimentação da agulha dentro das fibras musculares. O som resultante é semelhante a um breve estouro, que cessa logo que o eletrodo pára de se mover. Registra-se, então, um “silêncio elétrico”, traduzido pela presença, na tela, de uma linha de base relativamente reta, isoeletrica, sem nenhum potencial, denominada de atividade elétrica de repouso (AER) (SIMS, 1983; CHRISMAN, 1991; PINTO, 2006; ALMEIDA, 2008).

Nas enfermidades em que ocorrem distúrbios eletrolíticos, metabólicos, denervação, inflamações ou degenerações, ou em algumas doenças da transmissão neuromuscular, as membranas das miofibras entram em um estado de hiperexcitabilidade, o potencial de repouso passa a ficar mais próximo do limiar de despolarização e a atividade insercional é prolongada, continuando após a parada do

eletrodo. Quando as fibras musculares são substituídas por tecido conjuntivo ou gordura a atividade insersional torna-se diminuída (SIMS, 1983; CHRISMAN, 1991; PINTO, 2006).

Na hiperexcitabilidade das membranas celulares pode ser registrada, além da atividade insersional aumentada, a presença de potenciais espontâneos na forma de ondas positivas, fibrilações ou fasciculações. É possível observar, também, descargas complexas repetitivas, causadas por grupos de fibras musculares que produzem disparos repetidos e quase que sincrônicos (SIMS, 1983; CHRISMAN, 1991; PINTO, 2006).

A atividade elétrica voluntária (AEV) do músculo, referida como potencial de ação da unidade motora (PAUM), ocorre com o animal acordado e, apesar de não ser possível solicitar a um cão que produza uma contração muscular mínima ou máxima, uma simples manipulação do membro pode ser usada para visualizar vários graus de contração. O PAUM corresponde à atividade somada de cinco a 12 fibras musculares ao redor da ponta da agulha. Classicamente possui uma pequena deflexão inicial positiva seguida por uma grande deflexão negativa e, finalmente, uma outra deflexão positiva. Em sua análise avalia-se a morfologia (amplitude, duração, número de fases e de deflexões), estabilidade e características de disparo. O PAUM de um músculo flexor pode ser avaliado quando o animal é posicionado em decúbito lateral e estimula-se o reflexo flexor no membro. O PAUM de um músculo extensor pode ser avaliado quando o animal é mantido em estação e exerce-se pressão sobre a região cérvico-torácica ou lombo-sacra (SCOTT-MONCRIEFF et al., 1990; CHRISMAN, 1991; CHRISMAN & CLEMMONS, 1993; ALMEIDA, 2008).

Os PAUMs de pequena amplitude e curta duração são classicamente vistos em miopatias, enquanto os de alta amplitude e longa duração são observados em denervação crônica, caracterizando o processo de reinervação. Durante a contração voluntária mínima, apenas um potencial de unidade motora é ativado de cada vez, e a frequência de disparo é de 3 a 5 Hz, de forma ligeiramente irregular. A frequência de disparo aumenta à medida que o esforço voluntário aumenta. Cada 5 Hz de aumento de frequência de um PAUM provoca o surgimento de um novo PAUM. Com contração

voluntária máxima, as freqüências de disparo atingem freqüências de até 50 Hz e não se pode mais distinguir um PAUM do outro, devido à sobreposição, conhecido como padrão de interferência completo. Em pacientes com miopatias o padrão de interferência é normal, porém com amplitude diminuída. Taxas de recrutamento maiores que 10 PAUMs significam recrutamento diminuído (altas freqüências de disparo e pequeno número de PAUM's), que é típico de processos neurogênicos. Taxas menores que cinco significam recrutamento aumentado ou precoce (freqüências normais de disparo e grande número de PAUM's), e são observados nas miopatias, devido à diminuição do tamanho da unidade motora pela perda de fibras musculares. Com isso, muitos PAUM's devem ser gerados para tentar compensar a diminuição das unidades motoras (KORNEGAY, 1997; PINTO, 2006; ALMEIDA, 2008).

Em pacientes com suspeita de doença muscular devem ser examinados, preferencialmente, músculos proximais e distais dos membros (CARNEIRO-FILHO et al., 2001; CRUZ et al., 2001). Sempre que possível o exame eletromiográfico deve ficar restrito a um dos lados do corpo. Desta forma, os músculos do lado oposto são preservados no caso de ser necessária a obtenção de biopsias. Quando há suspeita de uma miopatia, sempre que possível deve-se incluir, entre os exames complementares, a avaliação histológica do músculo afetado para a confirmação do diagnóstico (AVERILL, 1980; KORNEGAY, 1997).

Os aspectos fisiológicos e estruturais dos músculos esqueléticos determinam parte de sua resposta à agressão, sendo importantes na avaliação das alterações histológicas. Desta forma, as alterações nas miofibras podem ser divididas em duas classes principais: neuropáticas e miopáticas. Alterações neuropáticas são aquelas determinadas pelo efeito ou ausência da inervação, enquanto as miopáticas são decorrentes de doenças musculares, em que a alteração primária ocorre na miofibrila e independe dos efeitos da inervação. Estas incluem alguns tipos de degeneração e necrose de miofibras e condições inflamatórias iniciadas na própria célula muscular (MCGAVIN, 1998).

Embora um amplo espectro de doenças possa afetar o músculo, há um número relativamente limitado de reações patológicas (GIROLAMI et al., 2000). Entre os

critérios anatomopatológicos necessários para a caracterização adequada das miopatias destacam-se as alterações do tamanho das miofibras e a presença de necrose e de regeneração muscular (TORRES & NORONHA, 2006).

No tocante ao tamanho das fibras musculares, pode-se observar tanto uma hipertrofia quanto uma atrofia. A hipertrofia caracteriza-se pelo aumento de tamanho da fibra muscular quando submetida à atividade repetitiva. Por outro lado, a atrofia ocorre quando há inatividade muscular ou denervação, com conseqüente diminuição do tamanho da fibra. As doenças neuromusculares podem induzir a situações de grande hipertrofia muscular compensatória, que atinge o limite funcional máximo da fibra, levando essa a se dividir longitudinalmente em duas ou mais fibras envoltas pela mesma membrana basal (TORRES & NORONHA, 2006).

A inflamação muscular pode ser do tipo hemorrágica, necrosante, supurativa, eosinofílica ou granulomatosa, e sua duração varia de aguda a crônica. A miosite pode estar associada a infecções por bactérias, vírus, protozoários ou helmintos, ou ser decorrente de processos imunomediados ou idiopáticos. O foco central da reação tecidual na miosite envolve os componentes do tecido intersticial, enquanto nas miopatias degenerativas o foco centraliza-se em alterações no interior das miofibras (VAN VLEET, 2000).

Quando ocorre degeneração axonal as fibras musculares dentro da unidade motora afetada perdem seus impulsos neurais e sofrem atrofia por denervação. A denervação do músculo acarreta um decremento da síntese de miosina e actina, com uma diminuição do tamanho celular e reabsorção de miofibrilas; entretanto, as células permanecem viáveis (TISCHLER et al., 1990). Em cortes transversais as fibras atróficas são menores que o normal e exibem uma forma aproximadamente triangular (GIROLAMI et al., 2000).

A fibra muscular passa por uma série de degenerações antes de se tornar necrótica. Em algumas miofibras menos afetadas as degenerações podem ser revertidas e a fibra retornar ao normal. A alteração mais precoce caracteriza-se pela presença de vacúolos diminutos que aumentam de tamanho em um período de 24h. Se a degeneração não é revertida, a fibra, ou um segmento dela, progride para os estágios

subseqüentes de necrose, quais sejam, degeneração flocular, granular, hialina e de Zenker (MCGAVIN, 1998; VALENTINE & MCGAVIN, 2007). Além disso, a tumefação de organelas ou o acúmulo de glicogênio ou gordura na miofibra podem causar degenerações vacuolares (MCGAVIN, 1998).

A necrose das fibras musculares inicia-se geralmente pela ruptura do sarcolema resultando em aumento da permeabilidade da miofibra. A ruptura da miofibra reflete-se pelo aumento dos níveis séricos de proteína muscular (CHARGE & RUDNICKI, 2004).

Nos casos de necrose das miofibras, a alteração histológica mais precoce é a observação de uma fibra hialina, hipercontraída, arredondada nos cortes transversais, e que possui aumento do diâmetro e da afinidade pela eosina. As porções necróticas tornam-se floculares e granulares à medida que se fragmentam. Há perda de estriações transversais e picnose nuclear. Ocorre também, no local, um afluxo de células inflamatórias mononucleares, incluindo linfócitos e histiócitos (TORRES & NORONHA, 2006).

Na lesão muscular, além da necrose, da degeneração e do infiltrado de células inflamatórias, também é evidente o extravasamento sangüíneo (CHARGE & RUDNICKI, 2004). Esse processo é seguido por uma fase de reparo, onde ocorre a fagocitose do tecido lesionado, regeneração das miofibras, formação do tecido cicatricial e revascularização. Durante a fase seguinte, a fase de remodelagem, ocorre contração e reorganização do tecido cicatricial e a recuperação da capacidade funcional do músculo (PENG & HUARD, 2004).

Na fase inicial da lesão muscular geralmente ocorre ativação de células mononucleares, principalmente células inflamatórias e células miogênicas. No período pós-lesão as principais alterações histológicas no sítio de lesão são: necrose da miofibra e aumento do número de células mononucleares de origem não muscular (CHARGE & RUDNICKI, 2004). Estudos recentes sugerem que fatores liberados por músculos lesionados ativam as células inflamatórias residentes que, em troca, produzem sinais quimiotáticos para as células inflamatórias circulantes (WARREN et al., 2004).

Após uma lesão muscular induzida por exercícios ou por miotoxinas, os neutrófilos são as primeiras células inflamatórias a invadir o músculo lesionado, com aumento numérico nas primeiras seis horas. Os macrófagos tornam-se o tipo celular predominante após 48h. Estes fagocitam restos celulares, e podem afetar outros aspectos da regeneração muscular ativando células miogênicas (TIDBALL, 2005).

A regeneração muscular que ocorre após uma necrose, acontece graças à preservação da membrana basal e de células satélites, geralmente resistentes ao agente agressor. A fibra muscular em regeneração possui grandes núcleos internalizados e nucléolos proeminentes; e o citoplasma, repleto de RNA, torna-se basofílico (GIROLAMI et al., 2000).

As células satélites musculares fazem parte de uma população de células com grande atividade mitogênica, que contribuem para o crescimento muscular pós-natal, para o reparo de fibras musculares danificadas e para a manutenção do músculo esquelético adulto. Em resposta a estímulos como crescimento, remodelação ou trauma, as células satélites são ativadas, proliferam-se e expressam marcadores da linhagem miogênica (mioblastos). Há evidências de que elas constituem uma população bastante heterogênea, haja vista que algumas podem sofrer diferenciação imediata, sem divisão prévia, enquanto outras primeiramente proliferam, gerando uma célula filha para diferenciação e outra para futura proliferação (FOSCHINI et al., 2004).

Experimentos de marcação nuclear demonstraram a contribuição das células satélites como uma fonte importante de novos mionúcleos na regeneração de miofibras. Após a fase de proliferação miogênica, as novas fibras musculares formadas, como na miogênese embrionária, sofrem diferenciação e se fundem a fibras lesionadas já existentes ou formam novas miofibras (ZAMMIT et al., 2006).

Nas situações onde a regeneração é deficitária ocorre a substituição do tecido muscular por tecido conjuntivo e/ou adiposo, constituindo uma infiltração fibrosa ou fibroadiposa (TORRES & NORONHA, 2006).

As miopatias que afetam os cães podem ser de natureza inflamatória ou degenerativa. As miopatias de origem inflamatória incluem as miosites infecciosas, não-infecciosas (imunomediadas) e as doenças inflamatórias sistêmicas que envolvem o

músculo e outros órgãos. Em contrapartida, as miopatias de etiologia degenerativa correspondem às demais afecções musculares adquiridas ou hereditárias (SHELTON, 1991; VAN VLEET, 2000; LORENZ & KORNEGAY, 2004).

A literatura médica descreve vários relatos de doenças infecciosas atuando como “gatilho” no desencadeamento de doença muscular inflamatória no homem. Dentre eles há o estudo de COSSERMELLI et al. (1978) que descreveram quadros de polimiosite na doença de Chagas, MAGID & KAGEN (1983) que relataram a associação de doença muscular inflamatória e toxoplasmose aguda e REIMERS et al. (1989) e HOROWITZ et al. (1994) que descreveram casos de miosite causada por *Borrelia burgdorferi*

De forma semelhante, entre as principais doenças infecciosas que acometem a musculatura estriada esquelética de cães estão a toxoplasmose, a neosporose, a hepatozoonose, a dirofiariose, a leishmaniose, a clostridiose, a estafilococose e a leptospirose. Algumas vezes a mialgia é um sintoma evidente nestas infecções. Nesses casos, a avaliação histopatológica de uma biopsia muscular pode ser útil no diagnóstico, muitas vezes pela visualização do agente etiológico (CRAIG, 1989; BLOT, 2005).

As lesões musculares na toxoplasmose consistem de miosite necrosante multifocal, que evolui para necrose segmentar de miofibras adjacentes, as quais podem regenerar-se. Há infiltrado inflamatório por linfócitos, plasmócitos e, dependendo do estágio da lesão, neutrófilos (HASS et al., 1989; MCGAVIN, 1998).

A miosite de musculatura esquelética na neosporose caracteriza-se por necrose, infiltração de células mononucleares e vasculite, sendo mais freqüente em membros pélvicos (DUBEY & LINDSAY, 1996). DUBEY et al. (1988) observaram cistos de *N. caninum* associados à miosite não supurativa e presença de taquizóitos em musculatura cardíaca e esquelética de cães.

MACINTIRE et al. (1997), em um estudo retrospectivo, avaliaram os sintomas clínicos, os métodos de diagnóstico, o curso da doença e a resposta ao tratamento de 22 casos de hepatozoonose em cães, e concluíram que a infecção por *H. canis* pode estar associada a uma síndrome clínica bem definida, que compreende uma miosite crônica, debilitação e morte. Em alguns casos ocorre miosite piogranulomatosa, cujos

piogranulomas contém macrófagos e neutrófilos, com ocasionais eosinófilos, poucos plasmócitos e linfócitos, além de fileiras de neutrófilos localizadas intersticialmente entre as miofibras (MCGAVINN, 1998).

PALUDO et al. (2005), numa avaliação histopatológica e molecular da musculatura esquelética de três cães com parasitemia persistente por *Hepatozoon* sp., relataram atrofia, degeneração e regeneração de miofibras semelhantes às lesões musculares causadas por *Hepatozoon americanum*, embora estruturas císticas, típicas do agente, não tenham sido observadas nas biopsias musculares.

COOLEY et al. (1987) descreveram um quadro de miosite e encefalomielite em um Boston Terrier de dois anos com dirofilariose. O exame histopatológico demonstrou inflamação e necrose muscular como conseqüência de uma trombose da artéria femoral e de suas ramificações, pela presença da *Dirofilaria immitis*.

MACRI & GUARDA (1987) relataram um caso de dermatomiosite em um cão com leishmaniose que na avaliação histopatológica da musculatura esquelética apresentou infiltrado inflamatório granulomatoso intenso com a presença do parasita cercado por macrófagos, células plasmáticas, linfócitos e neutrófilos em áreas de degeneração, atrofia e necrose de miofibras, bem como proliferação de tecido conectivo fibroso.

VAMVAKIDIS et al. (2000), realizando eletromiografia nos músculos mastigatórios e no músculo tibial cranial de 24 cães com leishmaniose visceral, verificaram a ocorrência de miopatia tanto em cães com, quanto sem, atrofia muscular. Por meio de análise histopatológica, observaram quadros de atrofia com variáveis graus de necrose das fibras musculares, infiltrado inflamatório mononuclear e vasculite neutrofílica em todos os animais, exceto em dois que não apresentavam mioatrofia.

EUGÊNIO et al. (2002), avaliando um cão com miosite de músculos da face, proveniente de área endêmica para leishmaniose visceral, identificaram formas amastigotas de *Leishmania chagasi* nas fibras musculares dos músculos zigomático, bucinador e masseter.

As infecções bacterianas musculares são raras em cães e, geralmente, são causadas por traumas, mordeduras ou contaminação de ferida cirúrgica. POOACHA et

al. (1989) diagnosticaram uma miosite por *Clostridium septicum* em um Doberman de três anos, que apresentava histologicamente hemorragia, degeneração e necrose de miofibras, com presença de infiltrado neutrofilico difuso. A necropsia do cão revelou músculos enfisematosos. THOMSON & EGER (1997) também descreveram um caso de miosite por *Clostridium* sp., em um cão com severa necrose muscular, instalada após uma fratura cominutiva de fêmur.

Na leptospirose a avaliação histopatológica da musculatura esquelética pode evidenciar vacúolos citoplasmáticos em meio às miofibrilas, associados a infiltrados polimorfonucleares. Em seres humanos é possível verificar a ocorrência de necrose hialina focal de fibras musculares isoladas, com presença de áreas hemorrágicas e infiltrado de histiócitos, neutrófilos e plasmócitos, particularmente na musculatura das pernas. Embora essa evidência de miosite esteja correlacionada com a intensa mialgia, observada em seres humanos com leptospirose, os achados das biopsias musculares são inespecíficos para o diagnóstico da doença (FARR, 1995; LEVETT, 2001; SETÚBAL & SILVA, 2004).

No tocante às miopatias associadas a anormalidades da regulação imunitária, observa-se a polimiosite, uma miopatia inflamatória provavelmente de origem auto-imune, que tem como componente patogênico uma reação de hipersensibilidade tardia, caracterizada por um processo inflamatório não-supurativo na musculatura esquelética (KORNEGAY et al., 1980; TORRES & NORONHA, 2006; VALENTINE & MCGAVIN, 2007). Há, também, a dermatomiosite, uma síndrome hereditária em que ocorrem conjuntamente dermatite e miosite, bem caracterizada em Collies e Shetland Sheepdogs (HARGIS et al., 1984; 1985; HAUPT et al., 1985a; 1985b; HARGIS et al., 1986a; 1986b); a miosite dos músculos mastigatórios, na qual ocorre o envolvimento seletivo da musculatura da mastigação, devido às propriedades antigênicas singulares das fibras 2M presentes nesses músculos (SHELTON et al., 1987; ANDERSON & HARVEY, 1993; CLOOTEN et al. 2003); a polimiosite de origem medicamentosa (GIGER et al., 1985), e a associação de polimiosite com doenças como o lúpus eritematoso sistêmico (KRUM et al., 1977; SMITH, 1989) e síndromes paraneoplásicas (ARONSOHN, 1985).

O diagnóstico de quadros de polimiosite baseia-se inicialmente nos sintomas, que podem incluir uma fraqueza muscular exacerbada por exercícios, acompanhada, algumas vezes, de mialgia e pirexia. O quadro clínico deve ser associado aos resultados da eletromiografia e de exames histopatológicos para confirmar o diagnóstico (HUDGESON & PETER, 1984; ROBINSON, 1991; VAMVAKIDIS et al. 2000; MORITA et al., 2002; PODELL, 2002; TORRES & NORONHA, 2006; VALENTINE & MCGAVIN, 2007)

Embora KORNEGAY et al. (1980) tenham relatado que os sintomas, a concentração sérica de enzimas musculares, as alterações eletromiográficas e histopatológicas são os quatro critérios necessários para o diagnóstico de uma polimiosite, esses mesmos autores verificaram altas concentrações de enzimas musculares somente em três de nove cães com polimiosite, sem correlação entre os níveis séricos e a severidade da doença.

Uma importante característica da polimiosite é, sem dúvida, a natureza irregular dos achados eletromiográficos. Se anormalidades não são encontradas numa região particular do músculo, uma segunda região de inserção deve ser escolhida. A pesquisa de vários músculos pode ser necessária para documentar suficientes anormalidades e diagnosticar a doença adequadamente (DUMITRU et al., 2002).

As alterações eletromiográficas da dermatomiosite e da polimiosite são as mesmas e dependem da fase evolutiva das doenças. Na fase aguda, durante o repouso, há um aumento da atividade elétrica insersional, presença de ondas positivas e de potenciais de fibrilação. Durante o esforço mínimo há um aumento na velocidade de recrutamento e no número de unidades motoras recrutadas, além de potenciais polifásicos pequenos, curtos e fragmentados. No esforço máximo observa-se um padrão de recrutamento completo, mas com potenciais de baixa amplitude e duração diminuída. Na fase de inatividade podem ser encontradas alterações miopáticas de esforço, mas em geral não se detectam sinais de hiperexcitabilidade das membranas. Durante a fase crônica e severa, em que há atrofia, registram-se diminuição da atividade elétrica de inserção e, às vezes, potenciais de fibrilação espontâneos e descargas complexas repetitivas nos músculos com intensa degeneração tecidual, além

de muitos potenciais polifásicos de curta duração (KORNEGAY et al., 1980; HARGIS et al., 1984; HAUPT et al., 1985b; DUMITRU et al., 2002; MORITA et al., 2002; LEVY & SILVA, 2003; BLOT, 2005; PINTO, 2006; TORRES & NORONHA, 2006).

Nos casos de polimiosite suspeita-se de causa imunológica devido à natureza da resposta inflamatória, que consiste de focos inflamatórios de linfócitos, plasmócitos, ocasionalmente eosinófilos, e poucos ou nenhum neutrófilos. Esses focos inflamatórios afetam apenas uma porção do fascículo, no qual, dependendo do tempo de evolução das lesões, as miofibras aparecem necróticas ou em regeneração. Uma única biopsia muscular simples, embora útil no diagnóstico, pode ser insuficiente para detectar as lesões, que podem ser focais ou difusas (MCGAVIN, 1998; DUMITRU et al., 2002).

Quanto à descrição das alterações histopatológicas observadas em casos de polimiosite, HAYS & ARMBRUSTMACHER (2002) afirmaram que as características morfológicas mais proeminentes compartilhadas pelas miopatias inflamatórias são a presença de células inflamatórias; necrose e fagocitose de fibras; mistura de fibras em regeneração e atroficas; e fibrose. Segundo os autores, na polimiosite as células inflamatórias infiltram principalmente o tecido conjuntivo endomisial e invadem fibras musculares aparentemente saudáveis.

Por outro lado, TORRES & NORONHA (2006) descreveram que em quadros de polimiosite a análise histopatológica demonstra um grande número de fibras em necrose, com fragmentação citoplasmática ou aspecto vítreo, podendo-se observar, ainda, focos de infiltrado linfocitário perivascular e intersticial, com presença de plasmócitos esparsos. De acordo com os autores, a regeneração muscular pode ser evidente, com fibras de aspecto basofílico e núcleos vesiculosos.

Embora os achados observados por HAYS & ARMBRUSTMACHER (2002) e TORRES & NORONHA (2006) tenham sido semelhantes, os autores divergem no que tange à presença ou não de atrofia perifascicular em casos de polimiosite. Enquanto os primeiros relataram que fibras isoladas em degeneração ou em regeneração encontram-se dispersas pelos fascículos, não havendo atrofia perifascicular, TORRES & NORONHA (2006) afirmam que a hipertrofia de fibras musculares é um achado raro,

notando-se, freqüentemente atrofia de fibras com distribuição perifascicular, representando alterações isquêmicas por provável vasculopatia associada.

VALENTINE & MCGAVIN (2007) relataram que na musculatura esquelética as alterações histopatológicas, observadas em casos de polimiosite, são bem variáveis, sendo recomendável a avaliação de várias amostras musculares de mais de um músculo. Em casos agudos encontra-se um infiltrado inflamatório, predominantemente de células plasmáticas e de linfócitos que podem invadir as miofibras durante o processo de degeneração. O grau de necrose das miofibras é variável e pode tanto caminhar para a regeneração quanto para a substituição do tecido muscular por tecido fibroso, já que a lesão na lâmina basal é comum. Em casos mais crônicos, a principal lesão consiste em um infiltrado de linfócitos, adjacente as miofibras, com graus variáveis de fibrose, característico de uma miosite crônica.

PUMAROLA et al. (2004) analisando a distribuição e o tipo celular dos infiltrados inflamatórios de 21 cães com miopatia inflamatória generalizada e de três cães com miosite mastigatória observaram distribuição endomisial e perimisial de células mononucleares, com invasão de miofibras não necróticas nos primeiros, similar ao observado em casos de miopatia inflamatória no homem. Com esses resultados, somados aos achados de imunoistoquímica, os autores sugeriram que a mesma é uma afecção com patogenia distinta da miosite mastigatória, sendo o cão, portanto, um modelo animal importante para o homem.

De acordo com BLOT (1996) e BLOT & FUHRER (1996), a leishmaniose pode levar a um quadro de miosite em cães. Segundo HAYS & ARMBRUSTMACHER (2002), as manifestações clínicas da doença incluem uma fraqueza muscular proximal, simétrica, que se acentua gradativamente por um período de semanas a meses, podendo induzir a uma debilidade muscular grave, inclusive com comprometimento da musculatura respiratória.

Apesar desses relatos, e do achado de formas amastigotas do parasita em fibras musculares por EUGÊNIO et al. (2002), são escassas, na literatura veterinária, as descrições sobre as alterações histopatológicas na musculatura esquelética de cães com leishmaniose visceral, como as realizadas por MACRI & GUARDA (1987) e

VAMVAKIDIS et al. (2000). Desse modo, o presente ensaio teve como objetivos avaliar possíveis alterações eletromiográficas e histopatológicas de músculos estriados esqueléticos dos membros torácicos e pélvicos na tentativa de se obter um melhor entendimento da patogenia da doença no sistema muscular.

III. MATERIAL E MÉTODOS

Local de realização do projeto

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Eletroneuromiografia do Hospital Veterinário “Luiz Quintiliano de Oliveira”, do Curso de Medicina Veterinária, da Faculdade de Odontologia, UNESP, *Campus* de Araçatuba.

Animais

Foram utilizados dois grupos de cães, o primeiro, constituído de 25 cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral, e o segundo, por cinco cães sem a doença. Os cães eram adultos, machos ou fêmeas, sem raça definida, encaminhados ao Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) do município de Araçatuba - SP.

O diagnóstico da doença baseou-se nos resultados da pesquisa de formas amastigotas do parasita por meio de exame citológico de punção biopsia aspirativa de linfonodo, baço e fígado, e da reação sorológica imunoenzimática (ELISA) para detecção de anticorpos anti-*Leishmania* sp. Os cães considerados negativos para a doença apresentavam a punção biopsia aspirativa negativa para a presença de formas amastigotas e sorologia negativa para a presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp.

Todos os cães foram submetidos a um exame físico antes da realização da avaliação muscular por meio de eletromiografia. Após o exame os animais recebiam pentobarbital sódico¹ (15 mg/kg/iv) até atingir plano anestésico e, em seguida, com os cães ainda em plano anestésico, aplicava-se uma ampola de cloreto de potássio a 19,1%², por via intravenosa, em cumprimento ao Decreto nº. 51.838 do Ministério da Saúde do Brasil, de 14 de março de 1963, o qual estabelece que animais domésticos portadores de leishmaniose devem ser submetidos à eutanásia.

O método empregado para a eutanásia seguiu as recomendações da Resolução

¹ Hypnol 3% – Fontoveter – Itapira, SP

² Cloreto de potássio a 19,1% – Darrow – Rio de Janeiro, RJ

nº. 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária, que dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais.

Após a eutanásia eram realizadas as punções biopsia aspirativas e colhidos os fragmentos musculares para posterior processamento histopatológico.

Colheita de sangue total

A colheita de sangue total foi realizada por punção da veia jugular externa, utilizando-se, para tanto, agulhas 25x8mm acopladas a tubos vacutainer siliconizados. O sangue, em um volume total de 20mL, era mantido à temperatura ambiente até a coagulação e retração visível do coágulo. Em seguida, sofria centrifugação a 3.000 r.p.m., durante cinco minutos, para melhor separação do soro. Este, por sua vez, era transferido para frascos plásticos apropriados, com o auxílio de pipeta automática, e congelado imediatamente a -20° C até o momento do seu processamento.

Pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* sp. no soro

As reações sorológicas imunoenzimáticas (ELISA) para pesquisa de IgG anti-*Leishmania* sp. no soro foram realizadas no Laboratório de Imunologia do Curso de Medicina Veterinária da UNESP, *Campus* de Araçatuba, segundo o método descrito por LIMA et al. (2005)³. Os resultados individuais do exame sorológico encontram-se apresentados no apêndice B⁴.

Eletromiografia

Para a realização dos testes eletromiográficos utilizou-se um equipamento de eletroneuromiografia da marca VIASYS⁵ - modelo Viking Quest, de dois canais, portátil

³ Apêndice A – Técnica de ELISA para Leishmaniose Visceral descrita por LIMA et al. (2005)

⁴ Apêndice B – Resultados individuais do exame sorológico dos cães com leishmaniose visceral

⁵ Nicolet Compass Meridian – Nicolet Biomedical Inc. – EUA

(Figura 1A). As avaliações foram realizadas em músculos estriados esqueléticos proximais e distais dos membros torácico e pélvico, conforme recomendação de CARNEIRO-FILHO et al. (2001) e CRUZ et al. (2001), selecionando-se os seguintes músculos: cabeça longa do tríceps braquial, extensor carpo radial, bíceps femoral e cabeça lateral do gastrocnêmio.

A avaliação muscular foi realizada utilizando-se uma agulha monopolar⁶ 25x0,36mm, como eletrodo exploratório (Figura 1B). Eletrodos superficiais, fixados na pele, do tipo jacaré e do tipo adesivo (Figuras 1C e 1D), funcionaram como “eletrodo de referência” e “eletrodo terra”, respectivamente. Para a captação do impulso elétrico utilizou-se álcool sobre os eletrodos jacaré.

Os sítios para aplicação dos eletrodos exploratórios foram aqueles mapeados por THOMSON & BOWEN (1971), sendo: caudal ao acrômio, na metade cranial do músculo, para a cabeça longa do músculo tríceps braquial; ao nível do epicôndilo lateral do úmero, para o músculo extensor carpo radial (Figura 2A); cranioventral à tuberosidade do ísquio, para o músculo bíceps femoral e; na margem dorsocaudal do ventre da cabeça lateral, para o músculo gastrocnêmio (Figura 2B). O eletrodo referência foi fixado sobre a porção central (ventre) do músculo avaliado, e o eletrodo terra próximo às regiões tendíneas e ósseas. A aplicação do eletrodo exploratório foi realizada segundo as recomendações de DUMITRU et al. (2002).

Foram avaliadas, em cada músculo, a atividade elétrica insersional (AEI), a atividade elétrica de repouso, (AER) e as atividades elétricas voluntárias (AEV) mínima e máxima. A base de tempo foi de 100ms/div, a sensibilidade de 10 μ v/div e filtros com banda passante de 10 a 20KHz.

Para a avaliação das atividades insersional e de repouso o animal era mantido em decúbito e imobilizado mecanicamente. As atividades elétricas voluntárias foram avaliadas por meio de contrações musculares leves e máximas. Inicialmente realizava-se a movimentação do membro com o animal ainda em decúbito, a fim de se avaliar a contração leve. Em seguida, o animal era mantido em estação para a avaliação da contração muscular máxima, na dependência de sua colaboração e desconforto frente

⁶ Neuroline® – Malásia e Alfamedic® – Brasil

ao exame. Para tanto, os músculos extensores eram avaliados aplicando-se uma força sobre o dorso do animal, obrigando-o a sustentar o membro. A contração máxima dos músculos flexores era avaliada estimulando-se o animal a andar.

Para caracterização das alterações observadas foram atribuídos, em cada fase do exame, os parâmetros descritos abaixo. Em seguida, somaram-se os escores dos quatro músculos para cada animal, resultando em valores variando de zero (ausência de alteração em todos os músculos) a quatro (presença de alteração em todos os músculos). Os resultados dessa soma foram utilizados para a realização da análise estatística.

Atividade Elétrica Insercional (AEI)

AEI normal (0): duração menor que 300ms.

AEI diminuída (1): quando os movimentos da agulha não evocam nenhuma atividade espontânea ou essa atividade está marcadamente diminuída.

AEI aumentada (2): quando a duração for maior que 300ms ou quando da presença de potenciais espontâneos durante a atividade elétrica de repouso.

Atividade Elétrica de Repouso (AER)

Silêncio elétrico (0): músculo normal em repouso absoluto, desde que o eletrodo de agulha não seja movimentado.

Potenciais espontâneos anormais (1): qualquer atividade que persiste por mais de dois a três segundos depois de cessado o movimento da agulha com o músculo em repouso.

Atividade Elétrica Voluntária (AEV)

Recrutamento normal (0): baseado na morfologia dos potenciais de ação de unidade motora, cuja amplitude varia de meio a cinco milivolts para todos os músculos dos membros; cuja duração média é de seis a 16ms, com até 10% dos PAUM's polifásicos e presença de até cinco deflexões. Durante a contração voluntária mínima a frequência de disparo deve variar de três a cinco hertz, de forma ligeiramente irregular.

Na contração voluntária moderada, cada cinco hertz de aumento de frequência de um PAUM provoca o surgimento de um novo PAUM. Finalmente, com contração voluntária máxima a frequência de disparo pode chegar até 50 Hz, não sendo possível a distinção de um PAUM do outro devido à sobreposição dos mesmos.

Recrutamento alterado (1): valores maiores dos que os descritos anteriormente.

Exame citológico de linfonodo, baço e fígado

Os exames citológicos dos linfonodos poplíteos ou pré-escapulares, do baço e do fígado foram realizados após colheita do material por meio de punção biopsia aspirativa, com uma agulha hipodérmica 25x7mm acoplada a uma seringa de 10mL. Os esfregaços do material obtido foram realizados imediatamente após a colheita, secos ao ar e corados com corante hematológico⁷, para posterior observação ao microscópio de luz, com objetiva de 100x, em imersão, para a pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* sp. Os resultados individuais dos exames citológicos encontram-se apresentados no apêndice B⁸.

Análise histopatológica

As colheitas dos fragmentos dos músculos avaliados foram alternadas de maneira a obterem-se amostras do membro direito e esquerdo, sendo sempre realizadas no membro contralateral ao da realização da eletromiografia. Os fragmentos foram fixados em solução de formalina tamponada a 10% e processados pelas técnicas habituais para inclusão em parafina. De cada fragmento muscular foram feitos cortes transversais e/ou longitudinais de três a cinco micrômetros de espessura, corados com hematoxilina-eosina (HE), Tricrômico de Gomori Modificado (TGM) e Picro-sírius (PS). Cada amostra foi analisada morfológicamente para a descrição das alterações encontradas. Nos cortes histológicos corados por HE foram avaliados os aspectos

⁷ Panótico Rápido – Laborclin – Curitiba, PR

⁸ Apêndice B – Resultados individuais dos exames parasitológico dos cães com leishmaniose visceral

morfológicos genéricos do tecido muscular, dando-se atenção às alterações como diferenças no tamanho e na forma das fibras, presença de fibras degeneradas e em regeneração, presença de infiltrado inflamatório, alterações estruturais das fibras e fibrose endomisial. Nos cortes histológicos corados com TGM foram evidenciadas as fibras reticulares, elásticas e colágenas do tecido conectivo muscular. Os cortes corados com PS foram analisados sob luz polarizada, para avaliação do colágeno.

Para a caracterização histopatológica qualitativa das lesões musculares foram estabelecidos cinco parâmetros morfológicos, quais sejam, variação no diâmetro das fibras musculares, presença de resposta inflamatória, presença de tecido adiposo no endomísio, degeneração e necrose de miofibras, e presença de fibrose muscular. As alterações foram classificadas, de acordo com sua intensidade, em leve, moderada e intensa, atribuindo-se escores que variaram de uma a três cruces, as quais foram substituídas por números de um a três quando da realização da análise estatística.

Em seguida, para cada alteração encontrada, somaram-se os escores dos quatro músculos de cada animal, resultando em valores variando de zero (ausência da referida lesão em todos os músculos) a 12 (presença de três cruces em todos os músculos). O resultado dessa soma foi utilizado para a apresentação dos resultados e para a realização da análise estatística.

Análise estatística

A comparação entre os grupos para a avaliação das alterações eletromiográficas, em cada fase do exame, e das alterações histopatológicas foi realizada através da prova não paramétrica de Mann-Whitney, em nível de significância de 5%. O programa utilizado foi o Graphpad Prism (3.00, 1999)⁹.

⁹ GraphPad Software Incorporated – EUA

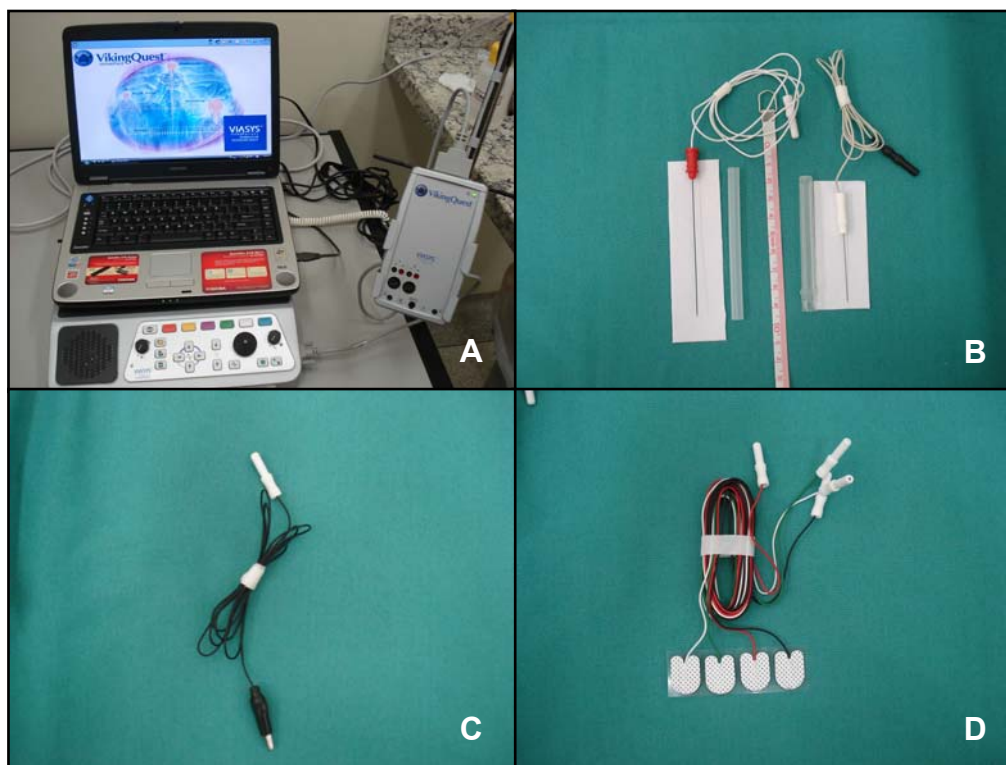


Figura 1. Equipamentos do laboratório de Eletro-neuromiografia do Hospital Veterinário “Luiz Quintiliano de Oliveira”, do Curso de Medicina Veterinária, da Faculdade de Odontologia, UNESP, *campus* de Araçatuba, utilizados nos exames de eletromiografia: aparelho de eletro-neuromiografia (A); eletrodos exploratórios do tipo agulha monopolar (B); eletrodo de superfície tipo jacaré (C) e eletrodo de superfície tipo adesivo (D). (Jaboticabal – SP, 2008)

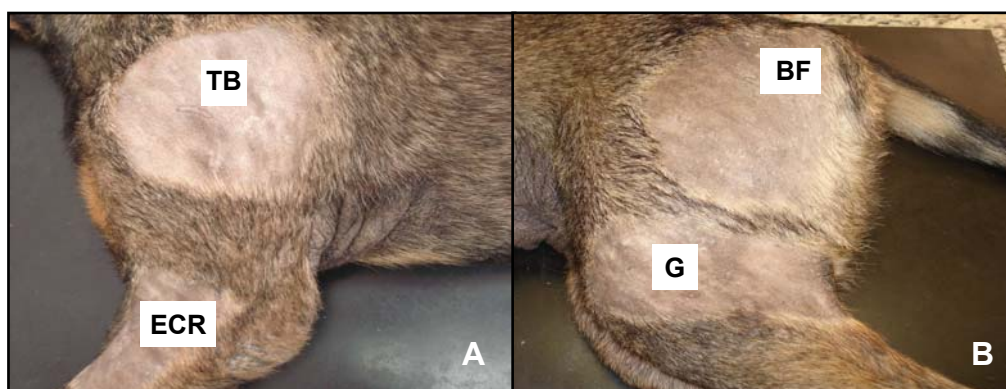


Figura 2. Pontos de aplicação do eletrodo de agulha para a realização de eletromiografia dos músculos estriados esqueléticos: tríceps braquial (TB) e extensor carpo radial (ECR) do membro torácico (A); bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G) do membro pélvico de cães. (Jaboticabal – SP, 2008)

IV. RESULTADOS

Dos 25 animais com diagnóstico de leishmaniose visceral, 10 (40%) eram assintomáticos e 15 (60%) sintomáticos. Esses apresentavam diferentes graus de emagrecimento, moderada a intensa atrofia muscular, principalmente em membros pélvicos (L1, L7, L10, L11 e L23), chegando à caquexia (L3, L15, L18, L24). Nos animais L5, L8 e L9 verificou-se secreção ocular bilateral purulenta. Dois cães apresentavam dispnéia quando da manipulação (L1, L10) e um possuía tosse produtiva (L22). O animal (L23) apresentou exame neurológico alterado, caracterizado por paresia dos membros pélvicos, associada à intensa atrofia muscular. Nos outros 14 cães não foram observados distúrbios locomotores ou neurológicos. Quanto a sintomas digestórios, a única alteração observada foi hematoquesia no animal L13. Dos 15 cães com quadro clínico, nove apresentavam comprometimento dermatológico, como lesões ulcerativas difusas pelo corpo (L1, L3, L7, L8, L11, L14, L15, L18, L22), dos quais quatro possuíam também disqueratinização cutânea e hiperqueratose em regiões de saliências ósseas (L7, L8, L11, L14). O cão L13 apresentava apenas quadro de disqueratinização sem presença de úlceras cutâneas. Nos animais L1, L15 e L18 evidenciou-se secreção bacteriana interdigital caracterizando um quadro de pododermatite. Apenas no cão L8 observou-se onicogribose. Os resultados individuais do exame físico dos cães estão apresentados no apêndice C¹⁰.

Eletromiografia

Dos 25 animais acometidos pela doença, 22 (88%) apresentaram alterações ao exame eletromiográfico, o que também ocorreu em 20% dos cinco cães do grupo controle. Os resultados individuais da eletromiografia encontram-se apresentados no apêndice D¹¹.

¹⁰ Apêndice C – Resultados individuais do exame físico dos cães

¹¹ Apêndice D – Resultados individuais dos animais obtidos na análise eletromiográfica para cada músculo avaliado

Nos cães com leishmaniose visceral a fase do exame mais comprometida foi a atividade insersional, seguida pelas fases de atividade voluntária e de repouso. Na atividade insersional, 44 (44%) músculos apresentaram resposta diminuída (Figura 3B), indicando a existência de uma miopatia primária, ou secundária à denervação, e nove (9%) possuíam resposta aumentada, sugestiva de distúrbio eletrolítico, metabólico, processo inflamatório ou degeneração. Na atividade de repouso, em 21 (21%) dos músculos foram observados potenciais espontâneos, caracterizados pela presença de ondas positivas (Figura 3D), fibrilações e descargas complexas repetitivas. Tais achados podem indicar alteração na estabilidade elétrica da membrana celular, decorrente de uma miopatia. Finalmente, na atividade voluntária, 50 (50%) músculos apresentaram recrutamento de fibras alterado, caracterizando a ocorrência de uma miopatia crônica, onde o tecido muscular passa a ser substituído por tecido fibroso. De modo geral, a presença de alterações eletromiográficas foi maior nos membros torácicos do que nos pélvicos, com distribuição similar entre os músculos proximais e distais em cada membro.

No grupo controle, um cão (C5) apresentou alterações eletromiográficas compatíveis com miopatia, caracterizadas por atividade insersional diminuída no músculo extensor carpo radial, atividade de repouso com presença de potenciais espontâneos no músculo bíceps femoral e alteração na atividade voluntária do músculo extensor carpo radial.

Houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos para a atividade insersional e voluntária, pelo teste de Mann-Whitney (Tabela 1; Figura 4).

A Figura 3 apresenta exemplos de traçados eletromiográficos correspondentes à atividade elétrica insersional normal e diminuída; ao silêncio elétrico e ondas positivas na atividade elétrica de repouso; e à atividade elétrica voluntária mínima e máxima.

O número e o percentual de músculos com alterações eletromiográficas observadas durante a atividade elétrica insersional, de repouso e voluntária dos 25 cães com leishmaniose visceral e dos cinco cães do grupo controle, encontram-se apresentados na Tabela 1 e na Figura 4.

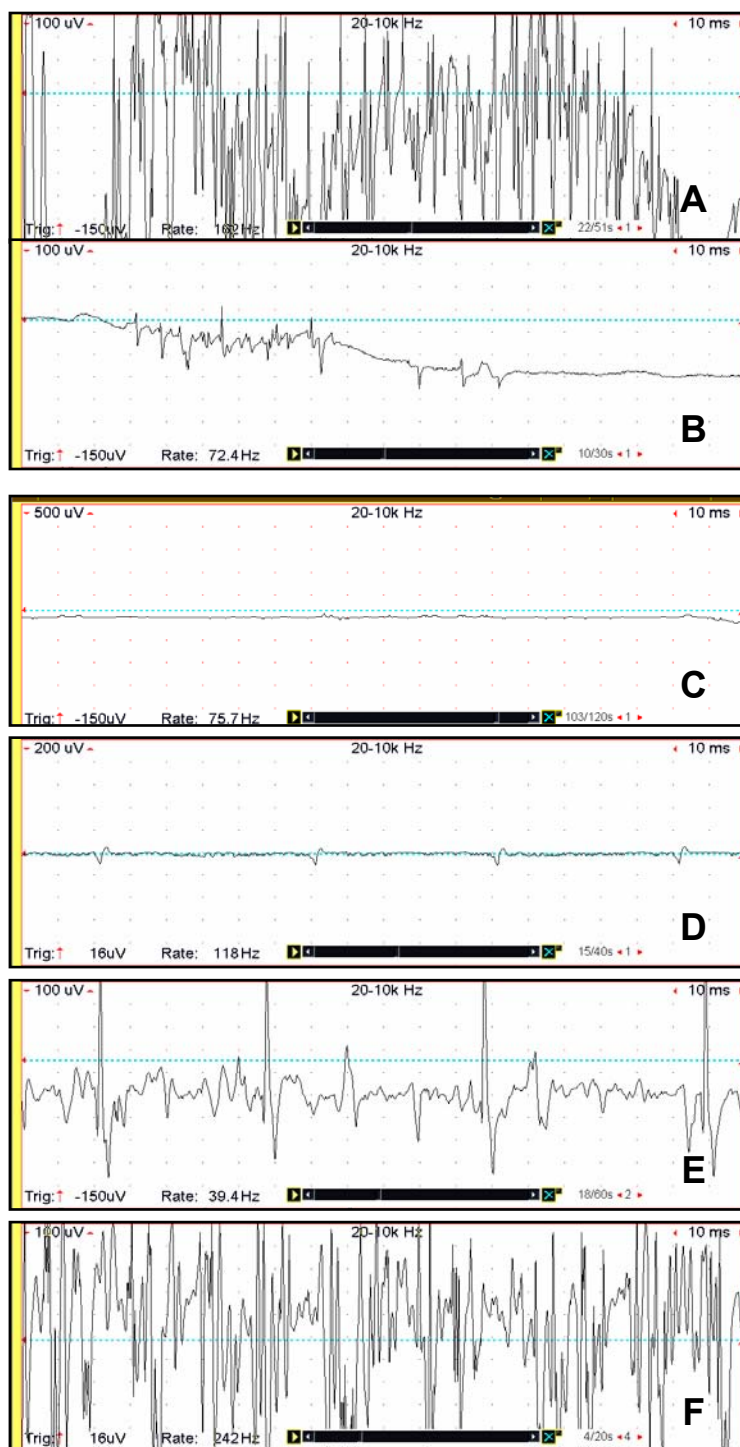


Figura 3. Exemplos de traçados eletromiográficos de musculatura estriada esquelética de cães. Atividade elétrica insercional normal (A); Atividade elétrica insercional diminuída (B); Atividade elétrica de repouso - silêncio elétrico (C); Atividade elétrica de repouso – ondas positivas (D); Atividade elétrica voluntária mínima – animal em estação (E); Atividade elétrica voluntária máxima – animal em estação com pressão sobre o dorso (F). (Jaboticabal – SP, 2008)

Tabela 1. Número e percentual de músculos estriados esqueléticos com alterações eletromiográficas observadas durante a atividade elétrica insersional, atividade elétrica de repouso e atividade elétrica voluntária do músculo tríceps braquial, extensor carpo radial, bíceps femoral e gastrocnêmio, de 25 cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral (Grupo LVC) e de cinco cães sem leishmaniose visceral (Grupo Controle). (Jaboticabal – SP, 2008)

<i>Fases do Exame</i>	<i>Grupo LVC (N=100)</i>		<i>Grupo Controle (N=20)</i>		<i>P</i>
	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	
atividade elétrica insersional	53	53	1	20	0,0076 *
atividade elétrica de repouso	21	21	1	20	0,0990 ^{ns}
atividade elétrica voluntária	50	50	1	20	0,0137 *

[P] nível descritivo do teste Mann-Whitney a 5% de significância; [*] – significativo; [ns] – não significativo

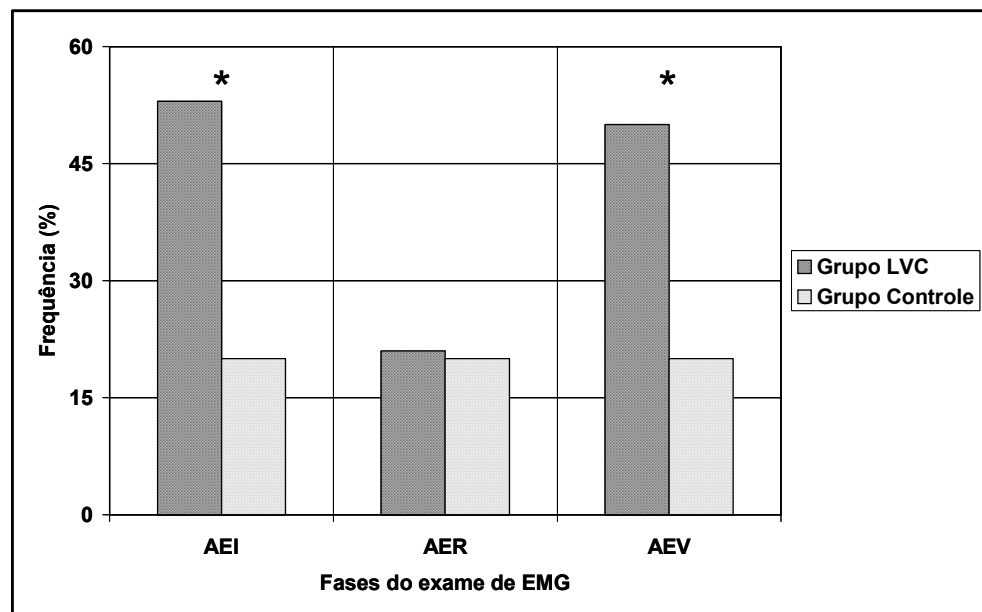


Figura 4. Frequência (%) do número de alterações eletromiográficas observadas durante a atividade elétrica insersional (AEI), atividade elétrica de repouso (AER) e atividade elétrica voluntária (AEV) dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial, extensor carpo radial, bíceps femoral e gastrocnêmio, de 25 cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral (Grupo LVC) e de cinco cães sem leishmaniose visceral (Grupo Controle). (*) diferença estatisticamente significativa pelo teste Mann-Whitney a 5% de probabilidade. (Jaboticabal – SP, 2008)

Análise histopatológica

As alterações histopatológicas encontradas nos músculos avaliados relacionavam-se à variações no tamanho e na forma das miofibras; à presença de fibras degeneradas e em regeneração; à presença de infiltrado inflamatório predominantemente de células mononucleares; à presença de tecido adiposo no endomísio e à fibrose peri e endomisial. De modo geral, em 54,79% das amostras musculares analisadas as lesões tinham distribuição focal (leve), em 20,55% multifocal (moderada) e, em 24,66% difusa (acentuada). Os resultados individuais da análise histopatológica encontram-se apresentados no apêndice D¹².

Nos músculos dos cães com leishmaniose visceral, quando da avaliação histopatológica corada com HE, foram identificadas fibras com aspecto alongado e presença de eosinofilia e basofilia, indicando processos degenerativos (Figuras 5A e 5B) e regenerativos, respectivamente. No que diz respeito ainda a evidências de regeneração de miofibras, apenas em poucos casos foram visualizadas células musculares com núcleos centralizados. Não foram verificadas formas amastigotas de *L. chagasi* na musculatura dos cães do presente estudo.

Na grande maioria dos músculos notou-se um infiltrado inflamatório mononuclear, predominantemente por linfócitos, no endomísio e no perimísio, sendo mais evidente no primeiro (Figura 5A) e, em algumas amostras musculares, constatou-se a presença de uma miosite crônica (Figura 5B). Em nenhum músculo do presente estudo identificou-se a presença de infiltrado inflamatório perivascular. Uma variação no diâmetro das miofibras foi visualizada predominantemente de maneira focal (Figura 5C). Em apenas duas amostras musculares verificou-se atrofia moderada de miofibras. O perimísio apresentava-se ora escasso, ora exuberante, muitas vezes, com presença de aglomerados de células adiposas que invadiam também o endomísio (Figura 5D).

Nos cortes histológicos corados com TGM as fibras reticulares, elásticas e colágenas do tecido conjuntivo peri e endomisial mostravam-se com coloração azul-esverdeada, aumentando sua intensidade conforme a presença de fibrose e o grau da lesão, confirmando as observações obtidas na coloração por HE (Figura 5E).

¹² Apêndice D - Resultados individuais dos animais obtidos na análise histopatológica para cada músculo avaliado

Nos cortes histológicos corados com PS, observados sob luz polarizada, a distribuição das fibras colágenas pelo tecido conjuntivo muscular concentrava-se no perimísio, sendo exuberante nas áreas com presença de degeneração celular e fibrose peri ou endomisial. A coloração apresentava-se vermelha nas áreas com distribuição mais uniforme; vermelha-alaranjada, nas regiões com concentração exuberante (Figura 5F) e, em algumas amostras foram identificadas áreas com a coloração verde escura, sugestiva de colágeno ainda imaturo. De modo geral, a presença de alterações eletromiográficas foi maior nos membros pélvicos e nos músculos proximais de cada membro.

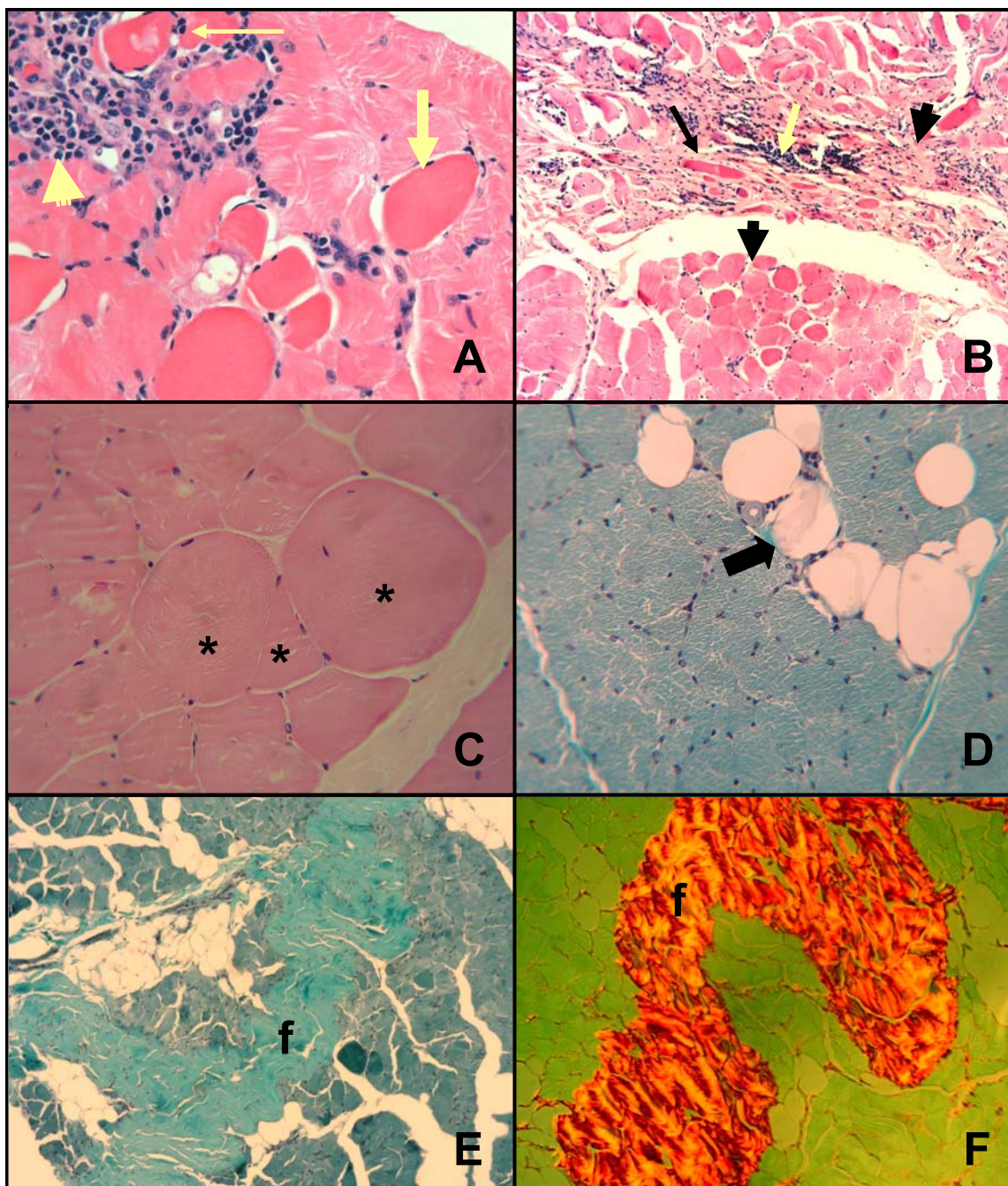


Figura 5. Fotomicrografias de músculos estriados esqueléticos de cães com leishmaniose visceral. Verificar presença de infiltrado inflamatório mononuclear endomysial (cabeça da seta), células musculares em degeneração - eosinofílicas (seta larga) e em necrose (seta estreita) - HE 40x (A); miosite crônica: área com presença de infiltrado inflamatório mononuclear (seta clara), de fibrose endomysial (seta escura), e de células musculares em diferentes níveis de degeneração e necrose - variação do diâmetro e eosinofilia (cabeças de setas) - HE 10x (B); miofibras com variação no diâmetro (*) - HE 40x (C); presença de tecido adiposo no endomísio (seta) - TGM 40x (D); miosite crônica - região de fibrose (f) - TGM 10x (E); e distribuição do colágeno [coloração vermelho-alaranjado] em região de fibrose (f) - PS 20x (F). (Jaboticabal - SP, 2008)

Dos 25 cães com leishmaniose visceral, somente um (4%) (animal L4) apresentava todas as amostras musculares dentro dos padrões de normalidade. No grupo controle, não foram observadas alterações histopatológicas exceto no animal (C5), que possuía presença de resposta inflamatória e fibrose intensas no músculo extensor carpo radial. As alterações observadas nos músculos dos cães do grupo LVC foram, em ordem decrescente da somatória dos graus de lesões, degeneração e necrose de miofibras, presença de resposta inflamatória, variação no diâmetro das miofibras, presença de fibrose e presença de tecido adiposo no endomísio. Quanto às alterações histopatológicas, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Mann-Whitney ($p > 0,05$) entre os grupos (Tabela 2).

A somatória dos graus de lesão das alterações histopatológicas observadas nos músculos avaliados nos animais dos dois grupos experimentais encontram-se apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Somatória (Σ) dos graus de lesão (leve=1, moderado=2, intenso=3) das alterações observadas por meio de exame histopatológico dos músculos tríceps braquial, extensor carpo radial, bíceps femoral e gastrocnêmio, de 25 cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral (Grupo LVC) e de cinco cães sem a doença (Grupo Controle). (Jaboticabal – SP, 2008)

<i>Parâmetros morfológicos</i>	<i>Grupo LVC</i>	<i>Grupo Controle</i>	<i>P</i>
	Σ	Σ	
variação no diâmetro das miofibras	40	5	0,2605 ^{ns}
presença de resposta inflamatória	51	4	0,1928 ^{ns}
presença de tecido adiposo no endomísio	26	2	0,4007 ^{ns}
degeneração e necrose de miofibras	105	9	0,1103 ^{ns}
presença de fibrose	36	3	0,1504 ^{ns}

[P] nível descritivo do teste Mann-Whitney a 5% de significância; [**] – significativo; [ns] – não significativo

V. DISCUSSÃO

No presente estudo 40% (10) dos cães com leishmaniose eram assintomáticos, confirmando os relatos de GENARO (1993) e FEITOSA et al. (2000), que afirmaram ser freqüente a observação de cães acometidos pela doença com ausência de sintomas. Todos os animais com quadro clínico encontravam-se magros, sendo que quatro deles (26,67%) chegavam à caquexia, sugerindo estados avançados da doença, como citado por GENARO (1993); FERRER (2002); CIARAMELLA & CORONA (2003) e BANETH (2006). Em cinco cães (33,33%) evidenciou-se moderada a intensa atrofia muscular, principalmente dos membros pélvicos, independente da emaciação, e em um cão (6,67%) o exame neurológico revelou paresia dos membros pélvicos associada à intensa atrofia muscular, corroborando com os relatos de FEITOSA et al. (2000), que descreveram quadros neurológicos em cães portadores de leishmaniose visceral.

Embora VAMVAKIDIS et al. (2000), ao estudarem 24 cães com leishmaniose visceral, tenham observado atrofia muscular em 16 (66,67%) animais, no presente estudo esta foi evidenciada somente em 20% dos animais com a enfermidade.

A baixa ocorrência de problemas locomotores nos cães desse estudo opõe-se aos achados de KORNEGAY et al. (1980); HAUPT et al. (1985b); MORITA et al. (2002) e CLOOTEN et al. (2003) que também relataram casos de miopatias inflamatórias por outras etiologias, onde sinais de atrofia muscular intensa e de alteração locomotora são comumente encontrados.

A atividade elétrica insersional foi a fase da eletromiografia que apresentou maior número de alterações nos cães com leishmaniose visceral, verificando-se uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 1). Dezesete animais (68%) apresentaram resposta diminuída em pelo menos um dos músculos, sugerindo atrofia muscular, necrose tecidual ou substituição do tecido muscular por tecido conjuntivo fibroso ou fibroadiposo, caracterizando um quadro de miopatia primária ou secundária à denervação, conforme descrito por DUMITRU et al. (2002) e PINTO

(2006). Em seis cães (24%) a atividade elétrica insersional encontrava-se aumentada, como ocorre em processos inflamatórios ou degenerativos.

Em quadros de miopatias freqüentemente notam-se potenciais espontâneos durante a atividade elétrica de repouso. No presente ensaio, estes foram identificados sob a forma de fibrilação, ondas positivas e descargas complexas repetitivas em apenas 52% dos cães (13 animais), e não se constatou diferença estatisticamente significativa entre aqueles com leishmaniose visceral e os do grupo controle, no que diz respeito ao número de músculos comprometidos. Tais alterações ocorrem em quadros de hiperexcitabilidade de membranas das células musculares, como relataram DUMITRU et al. (2002) e PINTO (2006).

A alta freqüência de atividade elétrica insersional diminuída, em oposição à aumentada; e a moderada freqüência de potenciais espontâneos, encontradas no presente estudo, diferem da maioria dos resultados eletromiográficos encontrados nas miopatias inflamatórias caninas, descritas por KRUM et al. (1977); KORNEGAY et al. (1980); HAUPT et al. (1985b); HARGIS et al., (1986b) e MORITA et al. (2002), nas quais a atividade elétrica insersional apresentava-se aumentada, e a ocorrência de potenciais espontâneos foi comumente observada. Apesar de VAMVAKIDIS et al. (2000) terem identificado atividade elétrica insersional aumentada com presença de potenciais espontâneos em 17 de 24 cães (70,83%) com leishmaniose visceral, somente seis dos 25 animais (24%) avaliados no presente estudo mostraram as mesmas alterações eletromiográficas em pelo menos um dos músculos avaliados. Uma provável explicação para essas divergências é o fato de que as alterações eletrofisiológicas encontradas nas miopatias sofrem variações de acordo com o tipo e a fase evolutiva da enfermidade, sendo que na polimiosite essa natureza irregular dos achados eletromiográficos é, sem dúvida, uma característica importante, como afirmaram DUMITRU et al. (2002) e PINTO (2006).

Na avaliação da atividade elétrica voluntária verificou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos, com 72% (18) dos cães com diagnóstico de leishmaniose visceral possuindo recrutamento alterado em pelo menos um dos músculos estudados, evidenciado por aumento da velocidade de recrutamento

presença de potenciais polifásicos, pequenos e de curta duração, sugestivos de uma miopatia. Desses, em 83,33% (15) dos animais havia amostras musculares com atividade insersional diminuída, que aparece em uma fase crônica da polimiosite, onde o tecido muscular sofre necrose e passa a ser substituído por tecido conjuntivo fibroso ou fibroadiposo. Em quatro cães (22,22%) havia amostras musculares cuja única alteração eletromiográfica encontrada foi o recrutamento alterado, sugerindo uma fase inativa da polimiosite, na qual, segundo DUMITRU et al. (2002) e PINTO (2006), não se detectam sinais de hiperexcitabilidade das membranas. Torna-se difícil confrontar tais resultados com relatos de avaliação da atividade elétrica voluntária em medicina veterinária, uma vez que a maioria dos estudos eletromiográficos de polimiosites são realizados com os animais sob anestesia, e não submetidos à atividade voluntária.

Os resultados eletromiográficos encontrados no presente estudo sugerem que 52% dos animais (13 cães) possuíam polimiosite crônica e desses, 23,08% (três cães) apresentavam músculos numa fase inativa da doença. Quatro cães (16%) tinham tanto músculos com inflamação aguda quanto crônica, dois animais (8%) mostravam fase aguda, e outros três cães (12%) revelavam eletromiografia normal, sugerindo ausência de processo inflamatório. Em três cães (12%) as alterações eletromiográficas ocorreram de forma isolada nos músculos testados, não permitindo que se estabelecesse um diagnóstico de polimiosite. Essa variedade de resultados é comumente observada em indivíduos com polimiosite e, conforme afirmaram DUMITRU et al. (2002) e PINTO (2006), auxilia na identificação das várias fases da doença.

Apesar da diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais do presente estudo para as atividades elétricas insersional e voluntária, um animal do grupo controle exibiu alteração eletromiográfica sugestiva de miopatia em um dos músculos avaliados. Nesse, a avaliação histopatológica demonstrou a presença difusa de resposta inflamatória e de fibrose, e ocorrência focal de degeneração e necrose. Para a atividade elétrica de repouso, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, mas, no mesmo animal citado, outra amostra muscular apresentou potenciais espontâneos durante a eletromiografia de repouso. No exame histopatológico, tal amostra evidenciou presença focal de degeneração e necrose, que

poderiam explicar os potenciais espontâneos; além de infiltração de tecido adiposo endomisial. Esse animal apresentava uma miopatia de etiologia desconhecida em ambos os músculos, sendo mais evidente em um deles. Quando da avaliação histopatológica, as lesões no grupo controle, com exceção do animal C5, eram focais e de grau leve, não caracterizando a presença de uma miopatia, diferente dos achados no grupo de cães com leishmaniose visceral. Estes resultados corroboram os trabalhos de GIROLAMI et al. (2000) e PINTO (2006) ao relatarem que, embora as alterações eletromiográficas possam indicar um quadro de miopatia, estas são inespecíficas quanto ao agente etiológico da mesma e, por outro lado, embora um amplo espectro de doenças possa afetar o músculo, há um número relativamente limitado de reações patológicas.

Não foram evidenciadas formas amastigotas de *L. chagasi* na musculatura dos cães do presente estudo, discordado dos achados de EUGÊNIO et al. (2002) que identificaram o parasita na musculatura mastigatória de cães de área endêmica. Em nenhuma amostra muscular foi visualizado infiltrado inflamatório perivascular, confrontando os achados de TORRES & NORONHA (2006), que descreveram em quadros de polimiosite a presença de focos de infiltrado linfocitário perivascular e intersticial.

Em 80% dos cães (20 animais) foram identificados vários graus de degeneração e necrose das miofibras, corroborando os relatos de VAMVAKIDIS et al. (2000); HAYS & ARMBRUSTMACHER (2002); TORRES & NORONHA (2006) e VALENTINE & MCGAVIN (2007). Em alguns focos de necrose e regeneração foi possível verificar algumas miofibras com fragmentação citoplasmática ou aspecto vítreo e outras com aspecto basofílico e núcleos vesiculosos, corroborando os relatos de TORRES & NORONHA (2006).

No tocante à presença de infiltrado inflamatório na musculatura, em 12 cães (48%) com leishmaniose visceral visualizou-se presença de uma resposta inflamatória mononuclear peri e endomisial, da mesma forma que o observado por PUMAROLA et al. (2004) em casos de miopatias inflamatórias generalizadas em cães. Esses números são inferiores aos evidenciados por VAMVAKIDIS et al. (2000), os quais, estudando

quadros de miosite em cães portadores de leishmaniose visceral, identificaram infiltrado inflamatório na musculatura de 91,65% dos animais. A característica do infiltrado inflamatório, de origem mononuclear, com ausência de neutrófilos, pode ser indicativa de uma etiologia imunológica para o quadro, como relatado por MCGAVIN (1998). Essas observações refletem as suspeitas de BLOT (1996) e BLOT & FUHRER (1996), de que a leishmania pode causar miosite em cães devido a uma alteração na imunogenicidade muscular.

Neste estudo, quanto à variação existente no diâmetro das fibras musculares, identificou-se principalmente uma diminuição no tamanho do mesmo, encontrada em 60% dos cães (15 animais) com leishmaniose visceral. Esses resultados corroboram os achados de TORRES & NORONHA (2006), ao descreverem que em quadros de polimiosite a hipertrofia de fibras musculares é um achado raro, notando-se, freqüentemente, uma atrofia de fibras com distribuição perifascicular. Por outro lado, confrontam-se com as afirmações de HAYS & ARMBRUSTMACHER (2002), de que não ocorre atrofia perifascicular em quadros de polimiosite.

A presença de fibrose peri ou endomisial, sugerindo que a miopatia encontra-se numa fase crônica, foi verificada em 14 cães (56%). Da mesma forma, 10 animais (40%) tinham também aumento de tecido adiposo endomisial, confirmando a cronicidade da polimiosite, como relatado por VALENTINE & MCGAVIN (2007). Como o estudo foi realizado em cães provenientes do Centro de Controle de Zoonoses do município de Araçatuba, não se tinha a informação do tempo de evolução do quadro clínico, entretanto, o aspecto dos cães sugeria uma certa cronicidade da doença em muitos deles.

Os resultados histopatológicos sugerem que 52% dos animais (13 cães) possuíam polimiosite crônica, quatro cães (16%) tinham tanto músculos com inflamação aguda quanto crônica, não sendo possível definir a fase da polimiosite, e outros dois animais (8%) tinham polimiosite aguda. Em um cão (4%) não havia alterações histopatológicas em nenhum dos músculos avaliados e, em cinco (20%), as alterações encontradas não permitiram que se estabelecesse um diagnóstico de polimiosite. Segundo MCGAVIN (1998) e VALENTINE & MCGAVIN (2007), uma única biopsia

muscular pode ser insuficiente para detectar lesões, que podem ser focais ou difusas nos casos de polimiosite.

Confrontando-se os resultados da eletromiografia e da avaliação histopatológica, verificou-se que todos os cães que possuíam alterações sugestivas com quadro de polimiosite crônica, aguda e tanto de fase aguda quanto crônica, pela eletromiografia, tiveram essa fase da enfermidade confirmada por meio do exame histopatológico. Um único animal não apresentou alterações nos dois exames. Porém, não houve concordância entre os mesmos em todos os animais, os cães L11 e L12 apresentaram um exame eletromiográfico normal, entretanto a avaliação histopatológica revelou variação no diâmetro das miofibras e presença de degeneração e necrose moderadas no primeiro, e presença de tecido adiposo no endomísio, e leve degeneração e necrose de miofibras no segundo. Desta forma, como relatado por DUMITRU et al., (2002), embora a eletromiografia seja uma extensão do exame físico ao nível celular, seus achados não apontam para um diagnóstico específico, somente podem gerar sinais implícitos dentro do processo fisiopatológico que afeta uma ou mais partes da unidade motora; ficando evidente que a biopsia muscular pode identificar fases iniciais de uma miopatia, não evidenciada por meio de eletromiografia, confirmando os relatos de KORNEGAY (1997) e TORRES & NORONHA (2006).

Nos cães L6, L13 e L20 foram visualizadas alterações eletromiográficas e histopatológicas, entretanto de caráter leve, sem grande comprometimento muscular que pudesse confirmar um quadro de miosite. Nos fragmentos avaliados não se observou presença de fibrose ou atrofia importante das miofibras. Entretanto, cabe lembrar que em casos de lesões focais uma única amostra de tecido pode não ser representativa do quadro histopatológico global, já que a maioria das lesões em fibras musculares é segmentar. Esses resultados corroboram os trabalhos de AVERILL (1980); HUDGESON & PETER (1984); KORNEGAY (1997); VAMVAKIDIS et al. (2000); PODELL (2002); TORRES & NORONHA (2006) e VALENTINE & MCGAVIN (2007), que relataram que o diagnóstico de quadros de polimiosite baseia-se inicialmente nos sintomas, mas deve estar associado aos resultados da eletromiografia e de exames histopatológicos, para a confirmação do diagnóstico.

As alterações eletromiográficas e histopatológicas identificadas nos cães com leishmaniose visceral do presente estudo confirmam a ocorrência de polimiosite nesta doença, descartando a possibilidade de um quadro de mioatrofia exclusivamente pela natureza catabólica da enfermidade, como sugerido por VAMVAKIDIS et al. (2000). No entanto, essas alterações são inespecíficas e similares às observadas em miopatias de várias etiologias, como as descritas por KRUM et al. (1977); KORNEGAY et al. (1980); HAUPT et al. (1985a) e MORITA et al. (2002). A presença de necrose de miofibras exclui a possibilidade de atrofia muscular por emagrecimento e estado catabólico, entretanto novos estudos devem ser conduzidos na tentativa de elucidar se a miosite na leishmaniose canina é decorrente de uma ação parasitária direta ou de mecanismos imunomediados.

VI. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nas condições do presente estudo permitiram concluir que:

- Cães com leishmaniose visceral apresentam comprometimento do sistema muscular, comprovado por meio de eletromiografia e exame histopatológico;

- Cães com leishmaniose visceral apresentam alterações eletromiográficas compatíveis com quadros de miosites agudas e crônicas;

- As principais alterações eletromiográficas observadas em cães com leishmaniose visceral foram: atividade elétrica insercional predominantemente diminuída; presença de potenciais espontâneos como fibrilação, ondas positivas e descargas complexas repetitivas; e aumento da velocidade de recrutamento com presença de potenciais pequenos e de curta duração;

- As alterações histopatológicas observadas no tecido muscular estriado esquelético de cães com leishmaniose visceral indicam a ocorrência de vários estágios de polimiosite, e descartam o estado catabólico da doença como uma de suas possíveis causas;

- As principais alterações histopatológicas do tecido muscular esquelético observadas em cães com leishmaniose visceral foram: variados graus de degeneração, necrose e regeneração de miofibras; presença de resposta inflamatória por células mononucleares predominantemente no endomísio; presença de fibrose peri e endomisial; variação no diâmetro das miofibras e presença de células adiposas no endomísio.

VII. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D.F. **EMG de agulha**, 2008. Disponível em: <http://www.emglab.com.br/html/emg_de_agulha.html>. Acesso em: 18 janeiro 2008.

ANDERSON, J.G.; HARVEY, C.E. Masticatory muscle myositis. **Journal of Veterinary Dentistry**, v.10, n.1, p.6-8, 1993.

ARONSOHN, M. Canine thymoma. **The Veterinary Clinics of North America (Small Animal Practice)**, v.15, n.4, p.755-767, 1985.

AVERILL, D.R. Jr. Diseases of the muscle. Review. **The Veterinary Clinics of North America (Small Animal Practice)**, v.10, n.1, p.223-234, 1980.

BANETH, G. Leishmaniasis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3.ed. Philadelphia: Elsevier, 2006. p.685-698.

BARBIÉRI, C.L. Immunology of canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v.28, n.7, p.329-337, 2006.

BLAVIER, A.; KEROACK, S.; DENEROLLE, P.H.; GOY-THOLLOT, I.; CHABANNE, L.; CADORÉ, J.L. Atypical forms of canine leishmaniasis. **The Veterinary Journal**, v.162, n.2, p.108-120, 2001.

BLOT, S. Myopathies in domestic carnivores (Part 1). **The European Journal of Companion Animal**, v.6, n.1, p.42-55, 1996.

BLOT, S. Disorders of the skeletal muscles canine. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Textbook of veterinary internal medicine – diseases of the dog and cat**. v.1. 6.ed. St Louis: Elsevier Saunders, 2005. p.901-912.

BLOT, S.; FUHRER, L. Myopathies in domestic carnivores (Part 2). **The European Journal of Companion Animal**, v.6, n.1, p.56-69, 1996.

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.

BURACCO, P.; ABATE, O.; GUGLIELMINO, R.; MORELLO, E. Osteomyelitis and arthrosynovitis associated with *leishmania donovani* infection in a dog. **Journal of Small Animal Practice**, v.38, n.1, p.29-30, 1997.

CARNEIRO-FILHO, A.; CARNEIRO, A.P.; VAZ, C.J.N.; CRUZ, M.W.; COELHO, R.; SCOLA R.H. **Projeto diretrizes AMB-CFM - Eletroneuromiografia e Potenciais Evocados**, 2001. Disponível em: <http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/045.pdf>. Acesso em: 03 abril 2005.

CHARGÉ, S.B.; RUDNICKI, M.A. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. **Physiological Reviews**, v.84, n.1, p.209-238, 2004.

CHRISMAN, C.L. **Problems in small animal neurology**. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. 526p.

CHRISMAN, C.L.; CLEMMONS, R.M. Electrodiagnostic testing. In: BOJRAB, M.J. **Disease mechanisms in small animal surgery**. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.1183-1201.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M. Canine Leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.25, n.5, p.358-368, 2003.

CLOOTEN, J.K.; WOODS, J.P.; SMITH-MAXIE, L.L. Myasthenia gravis and masticatory muscle myositis in a dog. **The Canadian Veterinary Journal**, v.44, n.6, p.480-483, 2003.

COOLEY, A.J.; CLEMMONS, R.M.; GROSS, T.L. Heartworm disease manifested by encephalomyelitis and myositis in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.190, n.4, p.431-432, 1987.

COSSERMELLI, W.; FRIEDMAN, H.; PASTOR, E.H.; NOBRE M.R.; MANZIONE, A., CAMARGO, M.E.; SHIROMA, M. Polymyositis in Chagas's disease. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v.37, n.3, p.277-280, 1978.

CRAIG, T.M. Parasitic myositis of dogs and cats. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, v.4, n.2, p.161-167, 1989.

CRUZ, M.W.; SCOLA R.H.; COELHO, R.L.A; CARNEIRO-FILHO, A.; VAZ, C. **Projeto diretrizes AMB-CFM - Eletroneuromiografia na abordagem diagnóstica das Neuropatias Periféricas**, 2001. Disponível em: <http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/046.pdf>. Acesso em: 03 abril 2005.

DE LUNA, R.; FERRANTE, M.; SEVERINO, L.; AMBROSIO, R.; PIANTEDOSI, D.; GRADONI, L.; LUCISANO, A.; PERSECHINO, A. Decreased lipid fluidity of the erythrocyte membrane in dogs with leishmaniasis-associated anaemia. **Journal of Comparative Pathology**, v.122, n.2, p.213-216, 2000.

DEDET, J.P.; BLAZZOUNG, S. Leishmaniasis in North Africa. In: CHANG, K.; BRAY, R. **Leishmaniasis**. Amsterdam: Elsevier Science, 1985. p.353-375.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v.67, n.1-2, p.1-59, 1996.

DUBEY, J.P.; HATTEL, A.L.; LINDSAY, D.S.; TOPPER, M.J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.193, n.10, p.1259-1263, 1988.

DUMITRU, D.; ZWARTS, M.J.; AMATO, A.A. **Electrodiagnostic medicine**. 2.ed. Philadelphia: Hanley & Belfus, 2002. 1524p.

EUGÊNIO, F.R.; SILVA, A.M.; ANDRADE, A.L.; MAIA, C.A.A.; BEVILACQUA, L.; ZANETTE, M.F.; CARVALHO, F.P.; LUVIZOTTO, M.C. **Miosite por *Leishmania sp* de músculos mastigatórios** - Relato de caso. In: CONGRESSO PAULISTA DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS - CONPAVEPA, 2., 2002, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Escritório Editorial, 2002. p.109-110.

FARR, R.W. Leptospirosis. **Clinical Infectious Diseases**, v.21, n.1, p.1-8, 1995.

FEITOSA, M.M.; IKEDA, F.A.; LUVIZOTTO, M.C.R.; PERRI, S.H.V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, v.5, n.28, p.36-44, 2000.

FERRER, L. Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 1., 1999, Barcelona, Spain. **Proceedings...** Barcelona: Wiesbaden - Hoechst Roussel Vet, 1999. p.6-10.

FERRER, L. The pathology of canine leishmaniasis. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 2., 2002, Sevilla, Spain. **Proceedings...** Salamanca: Intervet International bv, 2002. p.21-24.

FOSCHINI, R.M.S.A.; RAMALHO, F.S.; BICAS, H.E.A. Células satélites musculares. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v.67, n.4, p.681-687, 2004.

GENARO, O. **Leishmaniose visceral canina experimental**. 1993, 202f. Tese (Doutorado). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993.

GIGER, U.; WERNER, L.L.; MILLICHAMP, N.J.; GORMAN, N.T. Sulfadiazine-induced allergy in six Doberman pinschers. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.186, n.5, p.479-484, 1985.

GIROLAMI, U.; ANTHONY, D.C.; FROSCH, M.P. Nervo periférico e músculo esquelético. In: COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins – patologia estrutural e funcional**. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000. p.1135-1154.

GRADONI, L. The diagnosis of canine leishmaniasis. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM. 2; 2002, Sevilla, Spain. **Proceedings...** Salamanca: Intervet International bv, 2002. p.7-14.

HARGIS, A.M.; HAUPT, K.H.; HEGREBERG, G.A.; PRIEUR, D.J.; MOORE, M.P. Familial canine dermatomyositis. Initial characterization of the cutaneous and muscular lesions. **The American Journal of Pathology**, v.116, n.2, p.234-244, 1984.

HARGIS, A.M.; HAUPT, K.H.; PRIEUR, D.J.; MOORE, M.P. Animal model of human disease. Dermatomyositis. Familial canine dermatomyositis. **The American Journal of Pathology**, v.120, n.2, p.323-325, 1985.

HARGIS, A.M.; PRIEUR, D.J.; HAUPT, K.H.; COLLIER, L.L. Post-mortem findings in a Shetland sheepdog with dermatomyositis. **Veterinary Pathology**, v.23, n.4, p.509-511, 1986a.

HARGIS, A.M.; PRIEUR, D.J.; HAUPT, K.H.; COLLIER, L.L.; EVERMANN, J.F.; LADIGES, W.C. Postmortem findings in four litters of dogs with familial canine dermatomyositis. **The American Journal of Pathology**, v.123, n.3, p.480-496, 1986b.

HASS, J. A.; SHELL, L.; SAUNDERS, G. Neurological manifestations of toxoplasmosis: a literature review and case summary. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 25, p.253-260, 1989.

HAUPT, K.H.; PRIEUR, D.J.; HARGIS, A.M.; COWELL, R.L.; MCDONALD, T.L.; WERNER, L.L.; EVERMANN, J.F. Familial canine dermatomyositis: clinicopathologic, immunologic, and serologic studies. **American Journal Veterinary Research**, v.46, n.9, p.1870-1875, 1985a.

HAUPT, K.H.; PRIEUR, D.J.; MOORE, M.P.; HARGIS, A.M.; HEGREBERG, G.A.; GAVIN, P.R.; JOHNSON, R.S. Familial canine dermatomyositis: clinical, electrodiagnostic, and genetic studies. **American Journal Veterinary Research**, v.46, n.9, p.1861-1869, 1985b.

HAYS, A.P.; ARMBRUSTMACHER, V.W. Músculo esquelético. In: RUBIN, E.; FARBER, J.L. **Patologia**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.1365-1389.

HOROWITZ, H.W.; SANGHERA, K.; GOLDBERG, N.; PECHMAN, D.; KAMER, R.; DURAY, P.; WEINSTEIN, A. Dermatomyositis associated with Lyme disease - case report and review of Lyme myositis. **Clinical Infectious Diseases**, v.18, n.2, p.166-171, 1994.

HUDGESON, P.; PETER, J.B. Inflammatory disorders of muscle. Classification. **Clinics in Rheumatic Diseases**, v.10, n.1, p.3-8, 1984.

IKEDA, F.A.; CIARLINI, P.C.; FEITOSA, M.M.; GONÇALVES, M.E.; LUVIZOTTO, M.C.R.; LIMA, V.M.F. Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* no município de Araçatuba – SP: um estudo retrospectivo de 191 casos. **Revista Clínica Veterinária**, v.8, n.47, p.42-48, 2003.

JERONIMO, S.M.B.; SOUSA, A.Q; PEARSON, R.D. Leishmaniose. In: GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. **Tratado de medicina interna**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. p.2434-2441.

KONTOS, V.J.; KOUTINAS, A.F. Old World Canine Leishmaniasis. **Compendium on Continuing Education Small Animal**, v.15, n.7, p.949-959, 1993.

KORNEGAY, J.N. Distúrbios dos músculos esqueléticos. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária – moléstias do cão e do gato**. v.1. 4ed. São Paulo: Manole. 1997. p.1026-1038.

KORNEGAY, J.N.; GORGACZ, E.J.; DAWE, D.L.; BOWEN, J.M.; WHITE, N.A.; DEBUYSSCHER, E.V. Polymyositis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.176, n.5, p.431-438, 1980.

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

KRUM, S.H.; CARDINET, G.H. 3rd; ANDERSON, B.C.; HOLLIDAY, T.A. Polymyositis and polyarthritis associated with systemic lupus erythematosus in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.170, n.1, p.61-64, 1977.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.2, p.296-326, 2001.

LEVY, J.A.; SILVA, H.C.A. Miopatias. In: NITRINI, R.; BACHESCHI, L.A. **A neurologia que todo medico deve saber**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

LIMA, V.M.F.; BIAZZONO, L.; SILVA, A.C.; CORREA, A.P.F.L.; LUVIZOTTO, M.C.R. Serological diagnosis of visceral leishmaniasis by an enzyme immunoassay using protein A in naturally infected dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.25, n.4, p.215-218, 2005.

LOPEZ, R.; LUCENA, R.; NOVALES, M.; GINEL, P.J.; MARTIN, E.; MOLLEDA, M. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 43, n.8, p.469-474, 1996.

LORENZ, M.D.; KORNEGAY, J.N. **Handbook of veterinary neurology**. 4.ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2004. p.175-217.

MACINTIRE, D.K.; VINCENT-JOHNSON, N.; DILLON, A.R.; BLAGBURN, B.; LINDSAY, D.; WHITLEY, E.M.; BANFIELD, C. Hepatozoonosis in dogs: 22 cases (1989-1994). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.210, n.7, p.916-922, 1997.

MACRI, B.; GUARDA, F. A case of dermatomyositis due to leishmaniasis in a dog. **Schweizer Archiv fur Tierheilkunde**, v.129, n.5, p.265-270, 1987.

MAGID, S.K.; KAGEN, L.J. Serologic evidence for acute toxoplasmosis in polymyositis-dermatomyositis. Increased frequency of specific anti- toxoplasmosis IgM antibodies. **The American Journal of Medicine**, v.75, n.2, p.313-320, 1983.

MARCONDES, M. Leishmaniose uma zoonose. In: CONGRESSO PAULISTA DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 7.; 2007, São Paulo, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Anclivepa, 2007. p.211.

MCGAVIN, M.D. Músculos. In: CARLTON, W.W.; MCGAVIN, M.D. **Patologia veterinária especial de Thomson**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 1998. p.417-447.

MICHALICK, M.S.M. Gênero *Leishmania*. In: NEVES, D.P. **Parasitologia humana**. 11.ed. São Paulo: Atheneu, 2007. p.41-46.

MICHALICK, M.S.M.; GENARO, O. Leishmaniose Visceral Americana. In: NEVES, D.P. **Parasitologia humana**. 11.ed. São Paulo: Atheneu, 2007. p.67-83.

MORENO, P.; LUCENA, R.; GINEL, P.J. Evaluation of primary haemostasis in canine leishmaniasis. **Veterinary Record**, v.142, n.4, p.81-83, 1998.

MORITA, T.; SHIMADA, A.; YASHIRO, S.; TAKEUCHI, T.; HIKASA, Y.; OKAMOTO, Y.; MABUCHI, Y. Myofiber expression of class I major histocompatibility complex accompanied by CD8+ T-cell-associated myofiber injury in a case of canine polymyositis. **Veterinary Pathology**, v. 39, n.4, p.512-515, 2002.

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

NOLI, C. Leishmaniosis canina. **Waltham Focus**, v.9, n.2, p.16-24, 1999.

PALUDO, G.R.; FRIEDMANN, H.; DELL'PORTO, A.; MACINTIRE, D.K.; WHITLEY, E.M.; BOUDREAUX, M.K.; BANETH, G.; BLAGBURN, B.L.; DYKSTRA, C.C. Hepatozoon spp.: pathological and partial 18S rRNA sequence analysis from three Brazilian dogs. **Parasitology Research**, v.97, n.2, p.167-170, 2005.

PENG, H.; HUARD, J. Muscle – derived stem cells for musculoskeletal tissue regeneration and repair. **Transplant Immunology**, v.12, n.3-4, p.311-319, 2004.

PINTO, L.C. **Neurofisiologia clínica** – princípios básicos e aplicações. São Paulo: Atheneu, 2006. p.109-119, 219-233.

PODELL, M. Inflammatory myopathies. **The Veterinary Clinics of North America (Small Animal Practice)**, v.32, n.1, p.147-167, 2002.

POONACHA, K.B.; DONAHUE, J.M.; NIGHTENGALE, J.R. Clostridial myositis in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.194, n.1, p.69-70, 1989.

PUMAROLA, M.; MOORE, P.F.; SHELTON, G.D. Canine inflammatory myopathy: analysis of cellular infiltrates. **Muscle & Nerve**, v.29, n.6, p.782-789, 2004.

REIMERS, C.D.; PONGRATZ, D.E.; NEUBERT, U.; PILZ, A.; HÜBNER, G.; NAEGELE, M.; WILSKÉ, B.; DURAY, P.H.; DE KONING, J. Myositis caused by *Borrelia burgdorferi* - report of four cases. **Journal of Neurological Sciences**, v.91, n.1-2, p.215-226, 1989.

REY, L. **Parasitologia**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.214-240.

ROBINSON, L.R. AAEM case report #22: polymyositis. **Muscle & Nerve**, v.14, n.4, p.310-315, 1991.

SCOTT, D.W.; MILLER, W.H.; GRIFFIN, C.E. Viral, rickettsial, and protozoal skin diseases. In: _____ **Small animal dermatology**. 6.ed. Philadelphia: Saunders, 2001. p.517-542.

SCOTT-MONCRIEFF, J.C.; HAWKINS, E.C.; COOK, J.R. Canine muscle disorders. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.12, n.1, p.31-39, 1990.

SETÚBAL, S.; SILVA, J.J.P. **Leptospirose** - fundamentação teórica, 2004. Disponível em: < <http://labutes.vilabol.uol.com.br/lepto.htm> >. Acesso em: 04 julho 2008.

SHELTON, G.D. Differential diagnosis of muscle diseases in companion animals. Progress in veterinary neurology. **Journal of Small Animal Practice**, v.2, n.1, p.27-33, 1991.

SHELTON, G.D.; CARDINET, G.H. 3rd; BANDMAN, E. Canine masticatory muscle disorders: a study of 29 cases. **Muscle & Nerve**, v.10, n.8, p.753-766, 1987.

SIMS, M.H. Electrodiagnostic techniques in the evaluation of diseases affecting skeletal muscle. Review. **Veterinary Clinics of North America (Small Animal Practice)**, v.13, n.1, p.145-162, 1983.

SLAPPENDEL, R.J.; FERRER, L. Leishmaniasis. In: GREENE, C.E. **Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat**. 2.ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1998. p.450-458.

SMITH, M.O. Idiopathic myositides in dogs. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, v.4, n.2, p.156-160, 1989.

THOMSON, F.K.; BOWEN, J.M. Electrodiagnostic testing: mapping and clinical use of motor points in the dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.159, n.12, p.1763-1770, 1971.

THOMSON, M.J.; EGER, C.E. Management of a femoral fracture complicated by clostridial myositis. **Journal of Small Animal Practice**, v.38, n.2, p.70-73, 1997.

TIDBALL, J.G. Mechanical signal transduction in skeletal muscle growth and adaptation. **Journal of Applied Physiology**, v.98, n.5, p.1900-1908, 2005.

TISCHLER, M.E.; ROSENBERG, S.; SATARUG, S.; HENRIKSEN, E.J.; KIRBY, C.R.; TOME, M.; CHASE, P. Different mechanisms of increased proteolysis in atrophy induced by denervation or unweighting of rat soleus muscle. **Metabolism: clinical and experimental**, v.39, n.7, p.756-763, 1990.

TORRES, L.F.B.; NORONHA, L. Músculos esqueléticos. In: BRASILEIRO-FILHO, G. **Bogliolo patologia**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.1036-1061.

VALENTINE, B.A.; MCGAVIN, M.D. Skeletal muscle. In: MCGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Pathologic basis of veterinary disease**. 4.ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. p.973-1039.

VALLADARES, J.E.; RIERA, C.; PASTOR, J.; GÁLLEGO, M.; PORTÚS, M.; ARBOIX, M. Hepatobiliar and renal failure in a dog experimentally infected with *Leishmania infantum*. **Veterinary Record**, v.141, n.22, p.574-575, 1997.

VAMVAKIDIS, C.D.; KOUTINAS, A.F.; KANAKOUDIS, G.; GEORGIADIS, G.; SARIDOMICHELAKIS, M. Masticatory and skeletal muscle myositis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). **Veterinary Record**, v.146, n.24, p.698-703, 2000.

VAN VLEET, J.F. Músculo esquelético. In: JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia veterinária**. 6.ed. São Paulo: Manole, 2000. p.887-911.

WARREN, G.L.; O'FARRELL, L.; SUMMAN, M.; HULDERMAN, T.; MISHRA, D.; LUSTER, M.I.; KUZIEL, W.A.; SIMEONOVA, P.P. Role of CC chemokines in skeletal muscle functional restoration after injury. **American Journal of Physiology. Cell Physiology**, v.286, n.5, p.1031-1036, 2004.

WOLSCHRIJN, C.F.; MEYER, H.P.; HAZEWINDEL, H.A.W.; WOLVEKAMP, W.Th.C. Destructive polyarthritis in a dog with leishmaniasis. **Journal of Small Animal Practice**, v.37, n.12, p.601-603, 1996.

ZAMMIT, P.S.; PARTRIDGE, T.A.; YABLOKA-REUVENI, Z. The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came in from the cold. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v.54, n.11, p.1177-1191, 2006.

ZANETTE, M. F. **Comparação entre os métodos de ELISA, imunofluorescência indireta e imunocromatografia para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina**. 2006. 70f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2006.

APÊNDICES

Apêndice A: Técnica de ELISA para leishmaniose visceral, como descrita por LIMA et al. (2005), para determinar a presença de IgG anti-*Leishmania* sp. no soro dos animais

As microplacas foram cobertas com antígeno total de *Leishmania chagasi*, numa concentração de 20µg/ml em tampão carbonato 0,05M, pH 9,6, e incubadas “overnight” a 4°C. Após a lavagem com PBS-tween por três vezes, as placas foram bloqueadas com 20µl de BSF 10% em PBS e incubadas à temperatura ambiente durante duas horas. Após nova lavagem com PBS-tween por três vezes, 100µl do soro controle positivo, do soro controle negativo e das amostras de soros dos animais, diluídas 1:400 em PBS contendo 0,05% de tween 20 e 10% de BSF, foram adicionadas a cada poço e incubadas por três horas à temperatura ambiente. Após quatro lavagens com PBS-tween 20, adicionou-se à placa 100µl de anticorpo anti-IgG de cão, marcado com peroxidase, previamente titulado. Após a incubação por uma hora em temperatura ambiente, a placa foi novamente lavada quatro vezes com PBS-tween 20 e foram adicionados 100µl de uma solução contendo substrato OPD (0,4mg/ml) em diluente apropriado. A reação foi interrompida adicionando-se a cada poço 50µl de H₂SO₄ 1M e, a densidade óptica (D.O.) foi avaliada a 492nm, utilizando-se um leitor de ELISA. Os resultados foram expressos pela média da densidade óptica obtida dos soros em triplicata. Para a determinação do ponto de corte foi realizado o teste de ELISA no soro de 20 cães saudáveis de área não endêmica para leishmaniose visceral. O ponto foi estipulado a partir da média acrescida de três desvios-padrões da leitura da densidade óptica, o qual foi considerado 0,270.

Apêndice B: Resultados individuais dos exames sorológico e parasitológico dos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral

Tabela B1. Resultados individuais da presença de IgG anti-*Leishmania* sp. no soro dos animais por meio da técnica de ELISA e, da pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* sp. pelo método parasitológico direto nos esfregaços de citologias aspirativas de linfonodo, baço e fígado dos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

Cão	EXAME SOROLÓGICO		EXAME PARASITOLÓGICO		
	ELISA	Linfonodo	Baço	Fígado	
L1	positivo	positivo	n.e.	n.e.	
L2	negativo	positivo	n.e.	n.e.	
L3	negativo	negativo	positivo	n.e.	
L4	negativo	negativo	positivo	n.e.	
L5	positivo	positivo	n.e.	n.e.	
L6	positivo	positivo	n.e.	n.e.	
L7	negativo	positivo	n.e.	n.e.	
L8	positivo	positivo	n.e.	n.e.	
L9	positivo	positivo	n.e.	n.e.	
L10	negativo	positivo	n.e.	n.e.	
L11	negativo	positivo	n.e.	n.e.	
L12	negativo	negativo	negativo	positivo	
L13	negativo	positivo	n.e.	n.e.	
L14	positivo	positivo	n.e.	n.e.	
L15	negativo	positivo	n.e.	n.e.	
L16	negativo	positivo	n.e.	n.e.	
L17	positivo	negativo	positivo	n.e.	
L18	positivo	positivo	n.e.	n.e.	
L19	negativo	positivo	n.e.	n.e.	
L20	positivo	negativo	negativo	positivo	
L21	positivo	positivo	n.e.	n.e.	
L22	negativo	positivo	n.e.	n.e.	
L23	positivo	positivo	n.e.	n.e.	
L24	negativo	positivo	n.e.	n.e.	
L25	positivo	positivo	n.e.	n.e.	

n.e. – não examinado

Apêndice C: Resultados individuais do exame físico geral dos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral

Tabela C1. Resultados individuais do exame físico geral dos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

CÃO	SINTOMAS
L1	magro / atrofia muscular moderada / lesão periocular / pododermatite / dispnéico
L2	NDN
L3	caquexia / lesões de pele difusas
L4	NDN
L5	magro / secreção ocular purulenta bilateral
L6	NDN
L7	magro / atrofia muscular moderada / disqueratinização cutânea / hiperqueratose em regiões de saliências ósseas
L8	magro / secreção ocular purulenta bilateral / disqueratinização cutânea / hiperqueratose em regiões de saliências ósseas / onicogribose
L9	magro / secreção ocular purulenta bilateral
L10	magro / atrofia muscular moderada / dispnéico
L11	magro / atrofia muscular moderada / lesões de pele difusas pelo corpo / disqueratinização cutânea / hiperqueratose em regiões de saliências ósseas
L12	NDN
L13	magro / disqueratinização cutânea / hematoquesia
L14	magro / lesões de pele / disqueratinização cutânea / hiperqueratose em regiões de saliências ósseas
L15	caquexia / pododermatite / lesões difusas pelo corpo
L16	NDN
L17	NDN
L18	caquexia / pododermatite / lesões peribucal e periocular
L19	NDN
L20	NDN
L21	NDN
L22	magro / secreção nasal sero-sanguinolenta / tosse produtiva / lesões difusas pelo corpo
L23	magro / atrofia muscular intensa / paresia dos membros pélvicos
L24	caquexia
L25	NDN

NDN – nada digno de nota

Apêndice D: Resultados individuais dos animais obtidos nas análises eletromiográfica e histopatológica para cada músculo avaliado

Tabela D1. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L1, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC) (Jaboticabal – SP, 2008).

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	0	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	+	+
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	-	-	+
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D2. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L2, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	1	1
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	1	1	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	+	+	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	+	+	-
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D3. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L3, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	1	0	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	+++	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	+++	+	+	+
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D4. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L4, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	1	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	-	-	-
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D5. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L5, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	1	1	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	1	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	++	-
presença de resposta inflamatória	+	-	-	++
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	+	+	++	+++
presença de fibrose	-	+	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D6. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L6, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	1	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	++	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	-	-	-
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D7. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L7, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	2	0	0
atividade elétrica de repouso	0	1	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	+
presença de resposta inflamatória	-	+	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	-	-	-
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D8. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L8, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	1	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	+
presença de resposta inflamatória	-	+	++	+
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	-	++	+
presença de fibrose	-	-	-	+

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D9. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L9, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	1	1	1
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	1	1	1	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	+	+++
presença de resposta inflamatória	+++	+++	+++	+++
presença de tecido adiposo no endomísio	+	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	+++	+++	+++	+++
presença de fibrose	++	++	++	+++

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D10. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L10, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	1	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	+++	-	+	+
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	+++	-
degeneração e necrose de miofibras	+++	+++	+	+
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D11. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L11, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	+++	-	++	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	-	++	++
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D12. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L12, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	+	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	+	-	-
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D13. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L13, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	1	0	0	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	+	-
degeneração e necrose de miofibras	-	-	-	-
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D14. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L14, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	0	1	1
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	1	1	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	-
presença de resposta inflamatória	++	+++	+	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	+	-	+	+++
presença de fibrose	-	-	-	++

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D15. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L15, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	1	1	1
atividade elétrica de repouso	1	0	0	0
atividade elétrica voluntária	1	1	1	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	+	-	-	+
presença de resposta inflamatória	-	-	+	-
presença de tecido adiposo no endomísio	+	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	+	+	+	+
presença de fibrose	+	+	+	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D16. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L16, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	2	2	1
atividade elétrica de repouso	0	1	1	0
atividade elétrica voluntária	1	0	0	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	++	-	-	-
presença de resposta inflamatória	++	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	++	-	-	+
presença de fibrose	+	-	-	+

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D17. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L17, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	1	1	1
atividade elétrica de repouso	0	1	1	0
atividade elétrica voluntária	1	0	0	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	-
presença de resposta inflamatória	+	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	+	-	-	-
presença de fibrose	+	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D18. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L18, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	1	1	1
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	1	1	1	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	+	-
presença de resposta inflamatória	+++	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	++	+++	+++	+++
presença de fibrose	+	-	+	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D19. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L19, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	1	1	1
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	1	1	1	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	+	-	-	+
presença de fibrose	-	+	-	+

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D20. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L20, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	0	1
atividade elétrica de repouso	0	1	0	0
atividade elétrica voluntária	0	1	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	-	-	-
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D21. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L21, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	1	1	0
atividade elétrica de repouso	0	1	0	0
atividade elétrica voluntária	1	1	1	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	+	+	-
presença de tecido adiposo no endomísio	+++	+	+++	+++
degeneração e necrose de miofibras	+	+	+++	+
presença de fibrose	+	+	+	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D22. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L22, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	1	1	0	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	++	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	+	-	++	-
degeneração e necrose de miofibras	+	+++	++	++
presença de fibrose	+	-	+	-

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D23. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L23, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	0	1	1
atividade elétrica de repouso	0	1	0	1
atividade elétrica voluntária	1	0	0	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	+	-
presença de resposta inflamatória	++	-	+++	+++
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	+
degeneração e necrose de miofibras	+	++	++	++
presença de fibrose	+	-	-	++

Avaliação eletromiográfica

atividade elétrica insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D24. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L24, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	1	1	0
atividade elétrica de repouso	1	0	0	1
atividade elétrica voluntária	0	1	1	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	++	+++	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	+	++	+++	+++
presença de fibrose	-	-	+	-

Avaliação eletromiográfica

atividade insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D25. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão L25, naturalmente acometido por leishmaniose visceral (Grupo LVC). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	1	2	0	1
atividade elétrica de repouso	1	1	1	0
atividade elétrica voluntária	1	1	0	1
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	+++	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	++	+
degeneração e necrose de miofibras	+++	-	+	+
presença de fibrose	-	-	-	+

Avaliação eletromiográfica

atividade insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D26. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão C1, sem leishmaniose visceral (Grupo Controle). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	-	-	-
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D27. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão C2, sem leishmaniose visceral (Grupo Controle). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	-	+	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	+
degeneração e necrose de miofibras	+	-	+	-
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D28. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão C3, sem leishmaniose visceral (Grupo Controle). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	-	+	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	+	+	-
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D29. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão C4, sem leishmaniose visceral (Grupo Controle). (Jaboticabal – SP, 2008)

	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
<i>Avaliação Eletromiográfica</i>				
atividade elétrica insersional	0	0	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	0	0
atividade elétrica voluntária	0	0	0	0
<i>Avaliação Histopatológica</i>				
variação no diâmetro das miofibras	+	-	-	-
presença de resposta inflamatória	-	-	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	-	-
degeneração e necrose de miofibras	-	-	-	+
presença de fibrose	-	-	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

Tabela D30. Resultados obtidos na avaliação eletromiográfica e histopatológica dos músculos estriados esqueléticos tríceps braquial (TB), extensor carpo radial (ECR), bíceps femoral (BF) e gastrocnêmio (G), do cão C5, sem leishmaniose visceral (Grupo Controle). (Jaboticabal – SP, 2008)

Avaliação Eletromiográfica	Músculos Avaliados			
	TB	ECR	BF	G
atividade elétrica insersional	0	1	0	0
atividade elétrica de repouso	0	0	1	0
atividade elétrica voluntária	0	1	0	0
Avaliação Histopatológica				
variação no diâmetro das miofibras	+	-	-	-
presença de resposta inflamatória	+	+++	-	-
presença de tecido adiposo no endomísio	-	-	+	-
degeneração e necrose de miofibras	+	+	+	+
presença de fibrose	-	+++	-	-

Avaliação eletromiográfica

atividade insersional – (0) normal; (1) diminuída; (2) aumentada

atividade elétrica de repouso – (0) silêncio elétrico; (1) potenciais espontâneos

atividade elétrica voluntária – (0) recrutamento completo; (1) recrutamento alterado

Avaliação histopatológica

(-) ausência de lesão; (+) presença leve; (++) presença moderada; (+++) presença intensa

“Agora o que desejo é que você aprenda a dançar. Lição de Zaratustra, que dizia que para se aprender a pensar é preciso primeiro aprender a dançar. Quem dança com as idéias descobre que pensar é alegria. Se pensar lhe dá tristeza é porque você só sabe marchar, como soldados em ordem unida. Saltar sobre o vazio, pular de pico em pico. Não ter medo da queda. Foi assim que se construiu a ciência: não pela prudência dos que marcham, mas pela ousadia dos que sonham. Todo conhecimento começa com o sonho. O conhecimento nada mais é que a aventura pelo mar desconhecido, em busca da terra sonhada. Mas sonhar é coisa que não se ensina. Brota das profundezas do corpo, como a água brota das profundezas da terra.”

[A alegria de ensinar – Rubem Alves]