

Comportamento dos marcadores bioquímicos de injúria hepática nos cães com leishmaniose visceral

Kelly Cristina da Silva Godoy^{1*}, Tamires Ramborger Antunes¹, Paulo Henrique Braz¹, Andreia Regis de Assis², Gustavo Gomes de Oliveira³, Alexandre Welzel da Silveira⁴, Polyana Mayume Pereira da Silva⁵, Alda Izabel de Souza⁶

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande- MS- Brasil.

¹Médicos veterinários. Doutorandos do Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias. E-mail: k.c.s.godoy@gmail.com

²Médica Veterinária. Doutoranda do Programa de pós-graduação em Ciência Animal. E-mail: andreia-regis-de-assis@gmail.com

³Médico veterinário. Mestrando do Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias. E-mail: gustavogomesde@hotmail.com

⁴Médico veterinário. Mestrando do Programa de pós-graduação em Ciência Animal. E-mail: ale_welzel@hotmail.com

⁵Médica veterinária. Residente em Saúde-Medicina Veterinária. E-mail: polyana_mayume@hotmail.com

⁶Professora da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. E-mail: alda.izabel@ufms.br

RESUMO. O objetivo deste estudo foi identificar as alterações dos marcadores bioquímicos de danos hepáticos em cães naturalmente infectados por *Leishmania* sp. de acordo com as diferentes formas clínicas apresentadas por esses animais. Sangue de 41 cães soro-reagentes nos testes de ELISA e positivos nos testes imunocromatográfico e parasitológico de linfonodo foram colhidos por venopunção e acondicionados em tubo sem anticoagulante para obtenção de soro e mensuração de colesterol total, triglicerídeos, ureia, fosfatase alcalina, gamma glutamiltransferase, alanina aminotransferase, proteínas totais e albumina. Realizou-se a estratificação em grupos de acordo com a sintomatologia clínica, em assintomáticos (7/41), oligossintomáticos (15/41) e sintomáticos (19/41). Hiperglobulinemia, hiperproteinemia e diminuição da razão albumina:globulina foram constatadas em todos os grupos com diferença estatística para albumina ($2,87 \pm 0,45$ g/dL). Colesterol, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e gamma glutamiltransferase permaneceram dentro dos intervalos de normalidade. As alterações encontradas nos marcadores bioquímicos de danos hepáticos sugerem que a leishmaniose visceral deve ser incluída no diagnóstico diferencial das hepatopatias, principalmente, nas áreas endêmicas para a enfermidade.

Palavras chave: Biomarcadores, canino, enzimas, hepatopia, *Leishmania*

Behavior of biochemical markers of hepatic injury in dogs with visceral leishmaniasis

ABSTRACT. The aim of this study was to identify the changes in biochemical markers of liver damage in dogs naturally infected by *Leishmania* sp. according to different forms presented. Blood sample of 41 dogs were seropositive in ELISA test and positive in the immunoassay tests and lymph node parasitological were collected by venipuncture of the jugular vein and placed in tube without anticoagulant to obtain serum and measurement of total cholesterol, triglycerides, urea, alkaline phosphatase, gamma glutamyl transferase, alanine aminotransferase, total protein and albumin. Stratification was held in groups, according to clinical symptoms in asymptomatic (7/41), oligosymptomatic (15/41) and symptomatic (19/41). Hyperglobulinemia, hyperproteinemia and decreased the ratio A:G were observed in all groups, and no statistically significant difference between symptomatic animals in relation to others was observed for albumin (2.87 ± 0.45 g / dL). The average cholesterol values, alkaline phosphatase, alanine aminotransferase and gamma

glutamyl transferase remained within normal ranges, however, elevated serum triglycerides were observed in the symptomatic group (276.89 ± 339.49) and asymptomatic (307.81 ± 56.74). Common alterations in biochemical markers of liver damage suggest that visceral leishmaniasis should be considered in the differential diagnosis of liver disease, since hypergammaglobulinemia and hypoalbuminemia were observed regardless of the clinical signs of disease carriers shown by dogs. Moreover, the finding hypocholesterolemia and hypertriglyceridemia in these animals, sum up to the hepatic disorders associated with leishmaniasis.

Keywords: Biomarkers, canine, enzymes, hepatopathy, *Leishmania*

Comportamiento de los marcadores bioquímicos de injuria hepática en los perros con leishmaniasis visceral

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue identificar las alteraciones de los marcadores bioquímicos de daños hepáticos en perros naturalmente infectados por *Leishmania* sp. De acuerdo con las diferentes formas clínicas presentadas por estos animales. La sangre de 41 perros positivos en las pruebas de ELISA y positivos en las pruebas inmunocromatográficas y parasitológicas de ganglio, fueron recogidas por venopunción y acondicionadas en tubo sin anticoagulante para obtener el suero y la medición de colesterol total, triglicéridos, urea, fosfatasa alcalina, gamma glutamiltransferasa, alanina Aminotransferasa, proteínas totales y albúmina. Se realizó la estratificación en grupos de acuerdo con la sintomatología clínica, en asintomáticos (7/41), oligosintomáticos (15/41) y sintomáticos (19/41). Hiperglobulinemia, hiperproteinemia y disminución de la razón Albúmina: Globulina fueron constatadas en todos los grupos con diferencia estadística significativa para albúmina ($2,87 \pm 0,45$ g / dL). Colesterol, fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa y gamma glutamiltransferasa permanecieron dentro de los intervalos de normalidad. Las alteraciones encontradas en los marcadores bioquímicos de daño hepático sugieren que la leishmaniasis visceral debe ser incluida en el diagnóstico diferencial de las hepatopatías, principalmente, en las áreas endémicas para la enfermedad.

Palabras clave: Biomarcadores, canino, enzimas, hepatopatía, *Leishmania*

Introdução

A leishmaniose visceral é uma zoonose infecto-parasitária, transmitida vetorialmente, por meio do repasto sanguíneo do inseto *Lutzomyia longipalpis* (Killick-Kendrick, 1990). No Brasil, o patógeno envolvido é a *Leishmania (leishmania) infantum chagasi* e o cão é o principal reservatório urbano para a afecção que apresenta característica multissistêmica, desenvolvimento crônico e ampla sintomatologia clínica (Solano-Gallego et al., 2009, Andrade et al., 2014).

Os tecidos cutâneo, renal e cardíaco são os mais frequentemente acometidos (Silva et al., 2013, Godoy et al., 2016). Contudo, o envolvimento do fígado, manifestado por hepatomegalia é considerado comum nos casos de leishmaniose visceral com manifestações como icterícia, hypoalbuminemia, fibrose, colestase (Valladares et al., 1997, Melo et al., 2009, Medeiros et al., 2010). Apesar disso, análises das repercussões da doença no sistema hepático que

empreguem metodologias acessíveis e de baixo custo são escassas.

O conhecimento do comportamento dos marcadores bioquímicos nos casos de leishmaniose visceral canina, usados habitualmente na investigação de alterações hepáticas, poderá facilitar o diagnóstico e o acompanhamento das alterações causadas pela doença, e auxiliar no prognóstico e controle da enfermidade (Keenan et al., 1984). Por isso, objetivou-se com este estudo identificar as alterações dos marcadores bioquímicos de danos hepáticos em cães infectados por *Leishmania* sp. nas diferentes formas clínicas.

Material e Métodos

Um total de 41 cães sororreagentes para *Leishmania* sp. no teste de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), positivos nos exames imunocromatográfico (DPP®) e parasitológico de linfonodo e negativos para *Ehrlichia canis*

(imunocromatográfico - Senspert®) foram incluídos no estudo. Estes animais tinham idade variando entre um e cinco anos e eram provenientes do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Campo Grande – MS. Estratificação foi realizada, após a avaliação clínica, em grupos de cães assintomáticos (sem sinais clínicos), oligossintomáticos (um a três sinais clínicos) e sintomáticos (mais de três sinais clínicos), seguindo o critério de classificação do manual de vigilância e controle de leishmaniose visceral do ministério da saúde. Após implementação de jejum alimentar (12h) e hídrico (2h), realizou-se venopunção da jugular e acondicionamento do sangue em tubo sem anticoagulante. Posteriormente a retração do coágulo e centrifugação dos tubos, obteve-se as amostras de soro que foram armazenados a -80°C até a realização dos ensaios em analisador automático. Utilizando-se o protocolo de *kits* comerciais (Bioclin®), mensuraram-se as concentrações séricas de colesterol total, triglicerídeos, ureia, fosfatase alcalina (FA), gamma glutamiltransferase (GGT), alanina aminotransferase (ALT), proteínas totais e albumina. Os valores de globulina e razão albumina:globulina (razão A:G) foram obtidos por meio da diferença entre as concentrações de proteínas totais e albumina e divisão da albumina por globulina, respectivamente.

A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste Shapiro-Wilk, identificando-se dados não paramétricos ($P > 0,05$). Em seguida, para detecção de diferenças entre os grupos (assintomáticos, oligossintomáticos e sintomáticos) em relação aos parâmetros bioquímicos mensurados, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Esse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (CEUA/UFMS) sob o protocolo de número 499/2013.

Resultados e Discussão

Dos 41 animais avaliados, 17,1% (7/41) eram assintomáticos, 36,6% (15/41) oligossintomáticos e 46,3% (19/41) sintomáticos. Entre os sinais clínicos houve o predomínio de dermatopatias, linfadenomegalia e caquexia como, também, descritos por [Castro et al. \(2012\)](#). Destaca-se a alta frequência de cães assintomáticos, que caracteriza um preocupante dado epidemiológico para áreas

endêmicas, pois, estes animais são importantes na transmissão da doença, uma vez que são tão infectantes para os flebotomíneos quanto os cães sintomáticos e pertencem a um grupo clínico de difícil diagnóstico ([Laurenti et al., 2013](#)).

Hipoalbuminemia foi observada em 68,3% (28/41) das amostras e os cães sintomáticos apresentaram os menores valores desta proteína (Tabela 1). Ao comparar os dados deste analito entre os diferentes grupos constatou-se diferença estatística significativa entre os animais classificados como sintomáticos e assintomáticos (Tabela 1). A hipoalbuminemia pode estar relacionada ao hipercatabolismo proteico, a lesão renal, a desnutrição e/ou ao defeito na síntese hepática decorrente da inflamação do fígado mediada pela resposta imune em pacientes com leishmaniose e já foi correlacionada a maior frequência de óbitos em pacientes humanos ([Solano-Gallego et al., 2009](#), [Silva et al., 2013](#)).

Hiperproteinemia e hiperglobulinemia foram observadas em 85,4% (35/41) dos cães (Tabela 1) e podem estar associadas à ativação da resposta imunológica que aumenta a produção de globulinas e em consequência elevação da proteína total a despeito da redução da albumina. A mudança no comportamento dessas proteínas levou a inversão da razão A:G nos três grupos clínicos investigados nesta pesquisa, com maior intensidade no grupo de cães sintomáticos (Tabela.1), ressalta-se que, quanto maior o número de sinais clínicos, maior é a concentração de imunoglobulina, justificando a menor razão A:G encontrada nos animais do grupo sintomático do presente estudo ([Alexandre-Pires et al., 2010](#)). Vale ressaltar que as alterações hepáticas podem ajudar a distinguir a LV de outras enfermidades imunomediadas como lúpus eritematosos sistêmico em humanos.

O aumento da ALT não foi constatado na maioria dos animais do presente estudo. Dessa forma, os valores normais da atividade enzimática observados corroboram com [Kaneko et al. \(2008\)](#) que sugerem que na leishmaniose visceral não ocorre inflamação extensa e aguda com necrose de hepatócitos, por isso, a atividade da ALT dentro do intervalo de normalidade não descarta o envolvimento do fígado na enfermidade. O aumento da enzima observado em 6,7% (1/15) dos animais oligossintomáticos e 10,5% (2/19) dos sintomáticos podem estar associados à evolução da doença ou com o tipo de resposta imunológica ([Tafari et al., 1996](#), [Vidal et al., 2009](#)).

Tabela 1. Média e desvio padrão dos marcadores bioquímicos para avaliação de dano hepático em cães naturalmente infectados por *Leishmania* sp. distribuídos nos diferentes grupos clínicos

Biomarcadores	Referências	Grupos clínicos		Sintomático n= 19/41
		Assintomático n= (7/41)	Oligossintomático n= (15/41)	
Colesterol	135-270 mg/dL*	156,30 ($\pm$ 53,18)	140,87 ($\pm$ 43,57)	206,78 ($\pm$ 93,37)
Ureia	21,4-59,9 mg/dL**	28,82 ($\pm$ 11,58)	50,93 ($\pm$ 26,70)	60,30 ($\pm$ 38,33)
Fosfatase alcalina	20-156 UI/L**	52,11 ($\pm$ 18,87)	122,55 ($\pm$ 81,43)	142,79 ($\pm$ 94,88)
Gama Glutamil Transferase	1-10 UI/L**	5,04 ($\pm$ 2,39)	6,44 ($\pm$ 3,47)	7,74 ($\pm$ 4,32)
Alanina aminotransferase	21-86 UI/L**	36,09 ($\pm$ 15,41)	47,84 ($\pm$ 22,04)	40,40 ($\pm$ 21,84)
Albumina	2,6-3,3 g/dL**	3,30 ($\pm$ 0,69) ^A	2,38 ($\pm$ 0,65) ^B	2,03 ($\pm$ 0,63) ^C
Proteína Total	5,4-7,1 g/dL**	9,53 ($\pm$ 1,43)	9,82 ($\pm$ 2,24)	10,67 ($\pm$ 2,60)
Globulina	2,7-4,4 g/dL**	7,37 ($\pm$ 2,34)	7,79 ($\pm$ 2,10)	7,56 ($\pm$ 2,76)
Razão A:G	0,59 -1,11**	0,51 ($\pm$ 0,17)	0,34 ($\pm$ 0,13)	0,28 ($\pm$ 0,11)

Médias seguidas por letras diferentes nas colunas diferem entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Dunn. *[Tilley et al. \(2008\)](#). **[Kaneko et al. \(2008\)](#).

Com relação a ureia, níveis séricos elevados foram observados em 20% (3/15) e 20,1% (4/19) dos cães dos grupos oligossintomático e sintomático, respectivamente (Tabela 1). Essa alteração pode acontecer devido ao dano hepática associada à lesão renal presentes em doenças infecciosas, por meio do aumento do catabolismo de proteínas ([Migliano, 1953](#)). A proteólise gera mais Amônio (NH_4^+) que por sua vez aumenta a síntese de nitrogênio ureico pelos hepatócitos. Quando a velocidade de produção excede a de excreção, a concentração sérica de ureia aumenta ([Stockham and Scott, 2011](#)). A desidratação, decorrente do jejum hídrico, também poderia justificar a elevação na concentração desse analito. A hipovolemia induz a redução da taxa de filtração glomerular (TFG), promovendo a diminuição da excreção renal da ureia. A lesão renal observada em pacientes leishmaniose visceral, associada à deposição de imunocomplexos, também reduz a TFG, contribuindo no desenvolvimento de azotemia ([Klosterman and Pressler, 2011](#), [Stockham and Scott, 2011](#)).

Aumento da atividade sérica de FA e GGT, tanto nos cães oligossintomáticos (26,7% e 20,0%) quanto sintomáticos (31,6% e 20,1%) sugere que, embora a alteração desses marcadores não seja exclusiva dos quadros de leishmaniose visceral, sua elevação indica a presença de um importante comprometimento hepato-biliar ([Vidal et al., 2009](#)). A ausência de alterações destas enzimas em cães assintomáticos (Tabela 1) em comparação aos grupos oligossintomáticos e sintomáticos pode estar associada ao aumento do dano a esse órgão em cães que desenvolvem maior sintomatologia clínica decorrente da enfermidade.

O fígado é a principal fonte de biossíntese do colesterol em mamíferos e a disfunção hepática pode levar a alterações nas suas concentrações séricas ([Ghosh et al., 2011](#)). Hipercolesterolemia foi detectada em 9,7% (4/41) dos cães estudados e pode estar relacionada secundariamente a desregulação hepática causada pela hipoalbuminemia ([Klosterman and Pressler, 2011](#)). Entretanto, hipocolesterolemia foi descrita em 57,1% (4/7) dos cães assintomáticos, 46,7% (07/15) dos oligossintomáticos e 31,6% (06/19) dos sintomáticos e também foi relatada em pacientes humanos com leishmaniose visceral ([Liberopoulos et al., 2002](#), [Medeiros et al., 2010](#)). Essa alteração pode estar associada a um mecanismo imunológico resultante da interação entre o parasito e metabolismo lipídico.

Conforme descrito por [Liberopoulos et al. \(2002\)](#) pode ocorrer a formação de complexos imunológicos entre HDL (lipoproteína de alta densidade) e auto-anticorpos que aceleram a degradação do HDL, ou interferência na depuração mediada pelo receptor de quilomícrons-remanescentes, IDL (lipoproteína de densidade baixa), e LDL (lipoproteína de baixa densidade), ou ainda interferências na atividade da lipoproteína lipase. Além disso, a ligação entre HDL e o parasita pode refletir o sequestro de HDL nos tecidos em que o parasita se acumula, reduzindo a concentração do colesterol sérico.

A hipertrigliceridemia foi observada em todos os grupos clínicos (8/41); contudo a maior frequência (5/41) foi nos cães sintomáticos. Para [Lal et al. \(2016\)](#) existe uma provável associação entre hipertrigliceridemia e gravidade da LV. O aumento da concentração sérica de triglicérides pode ser decorrente da diminuição da lipoproteína

lipase e redução da atividade da lipase hepática, que resultam no atraso do metabolismo lipídico. O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que se encontra elevado em infecções parasitárias crônicas, tem sido considerado um dos responsáveis pela indução da atividade prejudicada da lipase ([Liberopoulos et al., 2002](#)). Outro fato a ser considerado é o aumento das concentrações de apoproteína E, estimulado por macrófagos infectados com o patógeno, que eleva a taxa de secreção sérica dos triglicerídeos em animais com leishmaniose visceral ([Liberopoulos et al., 2002](#), [Mohapatra et al., 2014](#)).

Conclusão

As alterações encontradas nos marcadores bioquímicos de injúria hepática indicam que a leishmaniose visceral deve ser considerada no diagnóstico diferencial de hepatopatias, principalmente, nas regiões endêmicas para a enfermidade, uma vez que, hipoalbuminemia, hiperproteinemia, hipertrigliceridemia e hipocolesterolemia foram observadas nesses animais.

Agradecimentos

Esse estudo teve auxílio da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT).

Referências Bibliográficas

- Alexandre-Pires, G., Brito, M. T. V., Algueró, C., Martins, C., Rodrigues, O. R., Fonseca, I. P. & Santos-Gomes, G. 2010. Canine leishmaniosis. Immunophenotypic profile of leukocytes in different compartments of symptomatic, asymptomatic and treated dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 137, 275-283.
- Andrade, G. B., Barreto, W. T. G., Santos, L. L., Ribeiro, L. R. R., Macedo, G. C., Sousa, K. C. M., André, M. R., Machado, R. Z. & Herrera, H. M. 2014. Pathology of dogs in Campo Grande, MS, Brazil naturally co-infected with *Leishmania infantum* and *Ehrlichia canis*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23, 509-515.
- Castro, I. P., Sousa, M. V. C., Magalhaes, G. M., Mundim, A. V., Noleto, P. G., Cardoso de Paula, M. B., Pajuaba Neto, A. d. A. & Medeiros, A. A. 2012. Hepatic and profile in dogs with visceral Leishmaniasis. *BIOSCIENCE JOURNAL*, 28, 799-804.
- Ghosh, J., Lal, C. S., Pandey, K., Das, V. N. R., Das, P., Roychoudhury, K. & Roy, S. 2011. Human visceral leishmaniasis: decrease in serum cholesterol as a function of splenic parasite load. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 105, 267-271.
- Godoy, K. C. S., Braz, P. H., Assis, A. R., Antunes, T. R., Gomes, D. C. & Souza, A. I. 2016. Avaliação dos indicadores de lesão miocárdica em cães com leishmaniose visceral. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 68, 313-320.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W. & Bruss, M. L. 2008. *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic press, New York.
- Keenan, C. M., Hendricks, L. D., Lightner, L. & Johnson, A. J. 1984. Visceral leishmaniasis in the German shepherd dog. II. Pathology. *Veterinary Pathology Online*, 21, 80-86.
- Killick-Kendrick, R. 1990. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Medical and Veterinary Entomology*, 4, 1-24.
- Klosterman, E. S. & Pressler, B. M. 2011. Nephrotic syndrome in dogs: clinical features and evidence-based treatment considerations. *Topics in Companion Animal Medicine*, 26, 135-142.
- Lal, C. S., Verma, R. B., Verma, N., Siddiqui, N. A., Rabidas, V. N., Pandey, K., Singh, D., Kumar, S., Paswan, R. K. & Kumari, A. 2016. Hypertriglyceridemia: a possible diagnostic marker of disease severity in visceral leishmaniasis. *Infection*, 44, 39-45.
- Laurenti, M. D., Rossi, C. N., Matta, V. L. R., Tomokane, T. Y., Corbett, C. E. P., Secundino, N. F. C., Pimenta, P. F. P. & Marcondes, M. 2013. Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* chagasi to the natural vector. *Veterinary Parasitology*, 196, 296-300.
- Liberopoulos, E., Alexandridis, G., Bairaktari, E. & Elisaf, M. 2002. Severe hypocholesterolemia with reduced serum lipoprotein (a) in a patient with visceral leishmaniasis. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 32, 305-308.
- Medeiros, F. S., Rodrigues, M. L. C., Palhano, A. D. T., Ribeiro, D. J. B., Araújo, M. J. C. L. N., Wanderley, M. C. & de Miranda, T. N. A. E. 2010. Comprometimento hepático em crianças

- portadoras de calazar atendidas no hospital universitário alcides carneiro da ufcg. *Revista Saúde & Ciência Online*, 1, 27-30.
- Melo, F. A., Moura, E. P., Ribeiro, R. R., Alves, C. F., Caliari, M. V., Tafuri, W. L., Silva Calabrese, K. & Tafuri, W. L. 2009. Hepatic extracellular matrix alterations in dogs naturally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *International Journal of Experimental Pathology*, 90, 538-548.
- Migliano, M. F. 1953. Uremia em cães. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo*, 5, 157-172.
- Mohapatra, S., Samantaray, J. C., Dash, S. & Ramakrishnan, L. 2014. Lipid derangement as diagnostic and prognostic indicator for visceral leishmaniasis patients. *Tropical Parasitology*, 4, 134-135.
- Silva, L. C., Castro, R. S., Figueiredo, M. M., Michalick, M. S. M., Tafuri, W. L. & Tafuri, W. L. 2013. Canine visceral leishmaniasis as a systemic fibrotic disease. *International Journal of Experimental Pathology*, 94, 133-143.
- Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G. & Baneth, G. 2009. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, 165, 1-18.
- Stockham, S. L. & Scott, M. A. 2011. *Fundamentos de patologia clínica veterinária*, Rio de Janeiro.
- Tafuri, W. L., Tafuri, W. L., Barbosa, A. J. A., Michalick, M. S. M., Genaro, O., França-Silva, J. C., Mayrink, W. & Nascimento, E. 1996. Histopathology and immunocytochemical study of type 3 and type 4 complement receptors in the liver and spleen of dogs naturally and experimentally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 38, 81-89.
- Tilley, L. P., Smith, J. R. & Francis, W. K. 2008. *Consulta veterinária em 5 minutos: Espécies canina e felina*. Editora Manole, São Paulo.
- Valladares, J. E., Riera, C., Pastor, J., Gállego, M., Portús, M. & Arboix, M. 1997. Hepatobiliar and renal failure in a dog experimentally infected with *Leishmania infantum*. *Veterinary Record*, 141, 574-575.
- Vidal, I. F., Martins, I. V., Lira, R. A., Teixeira, M. N., Faustino, M. A. & Alves, L. C. 2009. Níveis séricos da gama-glutamyltransferase em cães com e sem infecção natural por *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61, 749-751.

Article History:

Received 5 April 2017

Accepted 4 May 2017

Available on line 13 May 2017

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.