

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE FATORES PREDISPOENTES PARA O
DESENVOLVIMENTO DE XANTINÚRIA EM CÃES COM LEISHMANIOSE TRATADOS COM
ALOPURINOL

SARA CAROLINA CLEMENTE OLIVEIRA

ORIENTADOR:
Doutor Rodolfo Assis Oliveira Leal

2023

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE FATORES PREDISPONENTES PARA O
DESENVOLVIMENTO DE XANTINÚRIA EM CÃES COM LEISHMANIOSE TRATADOS COM
ALOPURINOL

SARA CAROLINA CLEMENTE OLIVEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

ORIENTADOR:

Doutor Rodolfo Assis Oliveira Leal

VOGAIS:

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix
Lourenço

Doutor Rodolfo Assis Oliveira Leal

2023

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Sara Carolina Clemente Oliveira

Título da Tese ou Dissertação: Caracterização e avaliação de fatores predisponentes para o desenvolvimento de xantínúria em cães com leishmaniose tratados com alopurinol

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2023

Designação do curso de
Mestrado ou de
Doutoramento: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- ☒ Clínica ☐ Produção Animal e Segurança Alimentar
☐ Morfologia e Função ☐ Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- ☐ Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- ☒ Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de ☒ 6 meses, ☐ 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Preparação de artigo científico

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 06 de dezembro de 2023

Assinatura: Sara Carolina Clemente Oliveira

Roberto Amador

Agradecimentos

Quero agradecer ao meu orientador, Professor Rodolfo Oliveira Leal, por ter contribuído grandemente para que o meu estágio fosse a melhor parte deste longo percurso. Obrigada por todos os dias aceitar os desafios com um sorriso na cara, demonstrando que a vida se torna mais leve se a encararmos com alegria e boa disposição. Obrigada pela sua exigência e espírito crítico, que tantos “Ai querido!” me fizeram soltar. Por toda a amizade, ajuda oferecida e conhecimentos transmitidos. Por ser um exemplo de um excelente profissional. À Joana e ao Miguel, pela ajuda e momentos de aprendizagem. A todos os médicos, enfermeiros e auxiliares do HEV pelos conhecimentos transmitidos, simpatia e compreensão. Aos meus colegas estagiários, em especial à Aninha, pelos almoços partilhados e por tornarem o estágio ainda mais divertido.

Ao meu grupo de amigas da faculdade, Inês, Margarida, Melissa, Teresa, Tess, Diana, por todos os momentos que passámos juntas durante estes 6 anos desafiantes. Obrigada por tornarem as aulas teóricas/práticas mais divertidas, pelos infindáveis trabalhos que elaborámos, pelas noites passadas no Hospital e por tornarem este percurso mais agradável. Inês e Margarida, obrigada pelo companheirismo, incentivo, cantorias e aventuras durante a escrita desta tese de mestrado.

À minha amiga Sandra, com a qual pude sempre contar, mas com especial ênfase na altura dos exames, fosse para rever matéria, esclarecer dúvidas, ou simplesmente desesperar. Ao meu amigo André, por me incentivar a perseguir os meus sonhos e por todos os legumes biológicos oferecidos.

À minha madrinha de faculdade Inês, uma das primeiras pessoas que conheci na FMV e com a qual muito me identifico. Por me ter sempre acolhido e aconselhado nos momentos mais difíceis da faculdade, por me ter ouvido e dado colinho, por todas as aventuras que passámos juntas.

Quero agradecer às pessoas com quem partilhei casa, Rita (Carequita), por todas as brincadeiras passadas juntas, que incluíram idas ao pingo doce, tentativas de me desviar do mundo fitness e torres de papel higiénico, e mais recentemente, Diogo (Pôde), por todas as aventuras, idas ao lixo e reciclagem, peripécias no ginásio, por percorrermos Lisboa com uma sapateira, momentos que tanto contribuíram para a minha alegria, divertimento e alívio do stress causado por este longo percurso.

Quero agradecer à minha família (Kátia incluída!), em especial à minha mãe, por todo o apoio prestado, compreensão, paciência, brincadeiras e motivação, que tornaram

possível a realização deste sonho. Por continuarem a acreditar em mim, quando eu própria me questionava se seria capaz.

Ao ginásio e a todas as pessoas que lá conheci, por me ajudarem a manter a sanidade mental durante este longo percurso.

A todos os meus animais, que suscitaram o meu desejo de me tornar Médica Veterinária.

Caracterização e avaliação de fatores predisponentes para o desenvolvimento de xantinúria em cães com leishmaniose tratados com alopurinol

Resumo

A leishmaniose canina (LCan) caracteriza-se por ser uma doença crônica, multissistêmica, com um vasto leque de apresentações clínicas e diferentes estádios de gravidade. O alopurinol, fármaco rotineiramente utilizado no tratamento desta doença, é um inibidor da enzima xantina oxidase, que desempenha um papel fundamental no metabolismo das purinas. A sua ação inibitória a nível desta enzima conduz a uma diminuição da conversão da hipoxantina em xantina (composto pouco hidrossolúvel) e desta em ácido úrico (composto hidrossolúvel), originando um estado de hiperxantinúria e favorecendo o desenvolvimento de cristais ou urólitos de xantina. Contudo, nem todos os cães com LCan tratados com alopurinol desenvolvem xantinúria e/ou urólitos de xantina, não existindo muita informação relativa a possíveis fatores de risco que concorram para este evento.

No âmbito desta dissertação foi realizado um estudo caso-controlo, multicêntrico, retrospectivo com o principal objetivo de avaliar a existência de fatores de risco associados ao desenvolvimento de xantinúria em cães com diagnóstico prévio de LCan e tratados com alopurinol.

Para compor os grupos caso (desenvolvimento de xantinúria) e controlo (sem desenvolvimento de xantinúria) foram selecionados 90 cães, 45 para cada grupo, seguidos em três centros hospitalares, entre o período de 2011 a 2022. Os dados foram retrospectivamente avaliados e foi colhida informação relativamente à data de diagnóstico de LCan, idade, sexo, raça, estatuto reprodutivo, condição corporal, peso, dieta, serologia, estadiamento clínico LeishVet, sinais clínicos, valores da pressão arterial sistémica, alterações analíticas, tratamento instituído e data e método de diagnóstico da xantinúria.

Constatou-se que os cães com diagnóstico de LCan numa idade mais jovem (mediana - 4 anos) e que não apresentavam diminuição da concentração das globulinas alfa-1 no proteinograma realizado aquando do diagnóstico desta doença aparentam estar mais predispostos ao desenvolvimento de xantinúria, após tratamento com alopurinol.

Embora este estudo apresente limitações, os resultados obtidos sugerem que seja instituída uma monitorização mais atenta dos cães com estas características, de modo a averiguar o possível desenvolvimento de xantinúria precocemente e permitir a aplicação de medidas que diminuam a probabilidade de desenvolvimento da mesma.

Palavras-chave: xantinúria, alopurinol, leishmaniose canina, fatores de risco.

Characterisation and evaluation of predisposing factors for the development of xanthinuria in dogs with leishmaniosis treated with allopurinol

Abstract

Canine leishmaniosis (CanL) is a chronic, multisystemic disease with a wide range of clinical presentations and different stages of severity. Allopurinol, the drug routinely used to treat this disease, is an inhibitor of the enzyme xanthine oxidase, which plays a fundamental role in purine metabolism. Its inhibitory action on this enzyme leads to a decrease in the conversion of hypoxanthine into xanthine (a poorly water-soluble compound) and the latter into uric acid (a water-soluble compound), resulting in a state of hyperxanthinuria and favouring the development of xanthine crystals or uroliths. However, not all dogs with CanL treated with allopurinol develop xanthinuria and/or xanthine uroliths, and there is not much information on the possible risk factors that contribute to this event.

As part of this dissertation, a case-control, multicentric, retrospective study was conducted with the main aim of assessing the existence of risk factors associated with the development of xanthinuria in dogs with a previous diagnosis of CanL and treated with allopurinol.

To make up the case group (development of xanthinuria) and control group (no development of xanthinuria), 90 dogs were selected, 45 for each group, followed up in three referral hospitals between 2011 and 2022. Data were retrospectively evaluated and information was collected regarding time of diagnosis of CanL, age, sex, breed, reproductive status, body condition, weight, diet, serology, LeishVet clinical staging, clinical signs, systemic blood pressure values, analytical changes, treatment instituted and the date and method of diagnosis of xanthinuria.

It was found that dogs diagnosed with CanL at a younger age (median - 4 years) and who did not show a decrease in alpha-1 globulins concentration in the proteinogram carried out at the time of diagnosis of this disease appear to be more predisposed to developing xanthinuria after treatment with allopurinol.

Although the study has limitations, these results suggest that closer monitoring of dogs with these characteristics should be instituted in order to ascertain the possible development of xanthinuria at an early stage and allow the application of measures to reduce the likelihood of its development.

Keywords: xanthinuria, allopurinol, canine leishmaniosis, risk factors.

ÍNDICE

Agradecimentos	iii
Caracterização e avaliação de fatores predisponentes para o desenvolvimento de xantínúria em cães com leishmaniose	v
Characterisation and evaluation of predisposing factors for the development of xanthinuria in dogs with leishmaniosis.....	vi
Lista de figuras.....	ix
Lista de gráficos	x
Lista de tabelas	xi
Lista de anexos	xii
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos	xiii
1. Descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio	1
2. Revisão bibliográfica	4
2.1 Leishmaniose canina.....	4
2.1.1 Etiopatogenia	4
2.1.2 Sinais clínicos	4
2.1.3 Fatores de risco	5
2.1.4 Diagnóstico	6
2.1.5 Tratamento.....	7
2.1.6 Monitorização e prognóstico.....	9
2.1.7 Prevenção.....	11
2.2 Xantínúria.....	12
2.2.1 Metabolismo das purinas	12
2.2.2 Etiopatogenia	13
2.2.3 Cristais e urólitos de xantina – gênese e principais características	14
2.2.4 Fatores de risco	15
2.2.5 Sinais clínicos	18
2.2.6 Diagnóstico	19
2.2.7 Maneio médico.....	20
2.2.8 Maneio cirúrgico.....	22
3. Caracterização e avaliação de fatores predisponentes para o desenvolvimento de xantínúria em cães com leishmaniose	24
3.1 Introdução	24
3.2 Objetivos	24
3.3 Materiais e métodos.....	24
3.3.1 Tipo de estudo e critérios de inclusão	24
3.3.2 Fonte de dados	25

3.3.3	Análise estatística	25
4.	Resultados	26
4.1	Caracterização das populações caninas dos grupos caso e controlo	26
4.1.1	Distribuição temporal do diagnóstico de LCan	26
4.1.2	Idade, sexo e estatuto reprodutivo	27
4.1.3	Raça	28
4.1.4	Condição corporal e peso	29
4.1.5	Dieta	29
4.1.6	Serologia e Estadiamento Clínico segundo o grupo LeishVet	30
4.1.7	Sinais clínicos	31
4.1.8	Pressão arterial	32
4.1.9	Hemograma, análises bioquímicas, ionograma e proteinograma	32
4.1.10	Rácio proteína-creatinina urinário (RPCU)	35
4.1.11	Análise de urina tipo II	35
4.1.12	Administração de imunomodulador	36
4.1.13	Tratamento	37
4.2	GrupoX – Xantinúria	38
4.2.1	Caracterização temporal do diagnóstico de xantinúria e método de diagnóstico	38
4.3	Correlação entre os vários fatores avaliados	40
5.	Discussão	41
5.1	Distribuição temporal do diagnóstico de LCan	41
5.2	Sexo, raça, estatuto reprodutivo e idade	41
5.3	Condição corporal, peso e dieta	43
5.4	Serologia e Estadiamento Clínico segundo o grupo LeishVet	44
5.5	Pressão arterial sistémica	45
5.6	Sinais clínicos	45
5.7	Alterações analíticas – Hemograma, análises bioquímicas e proteinograma	45
5.8	Análise de urina tipo II e RPCU	48
5.9	Tratamento	50
5.10	GrupoX - Xantinúria	51
6.	Limitações do estudo	53
7.	Conclusão e perspetivas futuras	53
8.	Referências bibliográficas	55
9.	Anexos	68

Lista de figuras

Figura 1. Cistólito de xantina removido de um canídeo fêmea, esterilizado, de raça indeterminada, com 13 anos. Cortesia do Anicura Hospital Veterinario Valencia Sur (Dra. Carolina Arenas)	15
Figura 2. Metabolismo das purinas e mecanismo de ação do alopurinol. Adaptado de Flegel et al. (1998).	18

Lista de gráficos

Gráfico 1. Número de semanas passadas em cada serviço	1
Gráfico 2. Distribuição temporal dos meses de diagnóstico de LCan dos cães do GrupoX e do GrupoC.....	26
Gráfico 3. Distribuição das idades (anos) dos cães do GrupoX e do GrupoC.....	27
Gráfico 4. Caracterização dos cães do GrupoX de acordo com a raça.....	28
Gráfico 5. Caracterização dos cães do GrupoC de acordo com a raça.	28
Gráfico 6. Distribuição da condição corporal dos cães do GrupoX.	29
Gráfico 7. Distribuição da condição corporal dos cães do GrupoC.	29
Gráfico 8. Título de anticorpos obtido na serologia dos cães do GrupoX.....	31
Gráfico 9. Título de anticorpos obtido na serologia dos cães do GrupoC.....	31
Gráfico 10. Caracterização dos cães do GrupoX segundo o sistema de estadiamento clínico, tratamento e prognóstico do grupo LeishVet.	31
Gráfico 11. Caracterização dos cães do GrupoC segundo o sistema de estadiamento clínico, tratamento e prognóstico do grupo LeishVet.	31
Gráfico 12. Caracterização dos valores da proteinúria do GrupoX obtidos no RPCU realizado aquando do diagnóstico de LCan.....	35
Gráfico 13. Caracterização dos valores da proteinúria do GrupoC obtidos no RPCU realizado aquando do diagnóstico de LCan.....	35
Gráfico 14. Distribuição temporal dos meses de diagnóstico de xantinúria dos cães do GrupoX.....	39
Gráfico 15. Valores do pH urinário obtidos na análise de urina tipo II realizada aquando do diagnóstico de xantinúria dos cães do GrupoX.....	40

Lista de tabelas

Tabela 1. Recomendações relativas à monitorização periódica dos cães com LCan. Adaptado de LeishVet (2022).	10
Tabela 2. Teor de purinas de vários alimentos. Adaptado de Bartges et al. (1999).	13
Tabela 3. Critérios de inclusão para a constituição dos grupos caso e controlo.	25
Tabela 4. Caracterização da idade (anos), sexo e estatuto reprodutivo dos cães do GrupoX e do GrupoC.	27
Tabela 5. Principais sinais clínicos exibidos no exame do estado geral, aquando do diagnóstico de LCan, pelos cães do GrupoX e do GrupoC.	32
Tabela 6. Principais alterações presentes no hemograma realizado aquando do diagnóstico de LCan, do GrupoX e do GrupoC.	34
Tabela 7. Principais alterações presentes nas análises bioquímicas realizadas aquando do diagnóstico de LCan, do GrupoX e do GrupoC.	34
Tabela 8. Principais alterações presentes no proteinograma realizado aquando do diagnóstico de LCan, do GrupoX e do GrupoC.	35
Tabela 9. Caracterização dos valores dos vários parâmetros da urinálise, realizada aquando do diagnóstico de LCan, do GrupoX e do GrupoC.	36
Tabela 10. Posologia de administração do alopurinol no GrupoX e no GrupoC.	37
Tabela 11. Posologia de administração do antimoniato de meglumina no GrupoX e no GrupoC.	38
Tabela 12. Caracterização dos valores dos vários parâmetros da urinálise realizada aquando do diagnóstico de xantinúria dos cães do GrupoX.	39
Tabela 13. Caracterização das variáveis quantitativas (mediana, intervalo interquartis e valor de p)	40

Lista de anexos

Anexo 1. Caracterização e valor de p das variáveis qualitativas sexo, raça, estatuto reprodutivo, alteração da dieta e dieta com baixo teor de purinas, serologia, estadiamento LeishVet, RPCU, administração e tipo de imunomodulador.	68
Anexo 2. Caracterização e valor de p das variáveis qualitativas referentes ao hemograma, análises bioquímicas e ionograma.....	69
Anexo 3. Caracterização e valor de p das variáveis qualitativas referentes à análise de urina tipo II e proteinograma.....	70
Anexo 4. Caracterização e valor de p dos tratamentos com alopurinol e antimoniato de meglumina.....	71
Anexo 5. Resumo submetido para o American College of Veterinary Internal Medicine – ACVIM FORUM 2023.	72

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

ACVIM: American College of Veterinary Internal Medicine

AHCC: Active hexose correlated compound

ALT: Alanina aminotransferase

ATP: Adenosina trifosfato

AST: Aspartato aminotransferase

BID: Duas vezes ao dia

DNA: Ácido desoxirribonucleico

DU: Densidade urinária

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay

FAS: Fosfatase alcalina sérica

IFAT: Immunofluorescent antibody test

LCan: Leishmaniose canina

PCR: Reação em cadeia da polimerase

RNA: Ácido ribonucleico

RPCU: Rácio proteína-creatinina urinário

SID: Uma vez ao dia

XO: Xantina oxidase

%: Percentagem

>: Superior a

<: Inferior a

=: Igual a

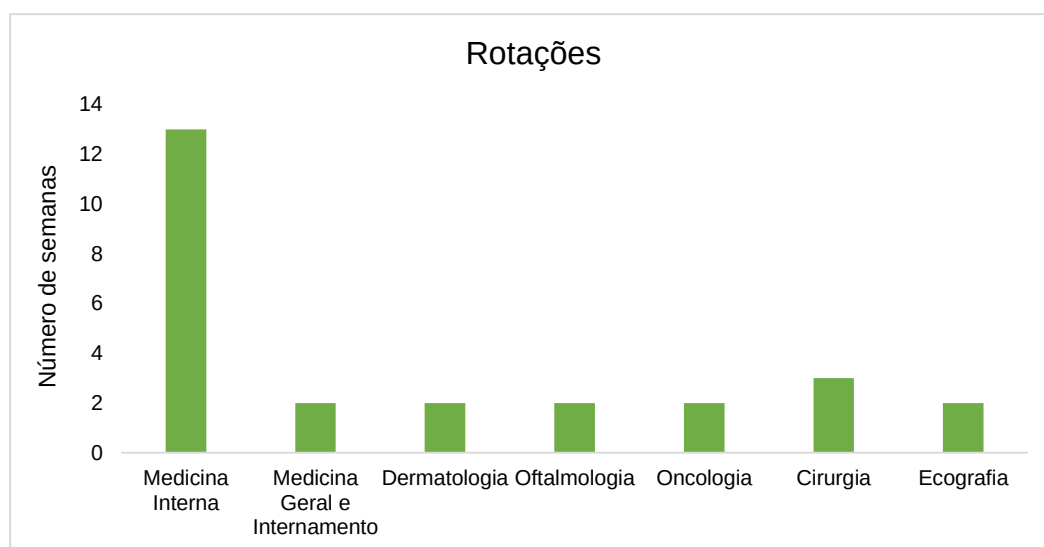
®: Marca registrada

n: Tamanho da amostra

1. Descrição das atividades desenvolvidas durante o estágio

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária foi realizado no Hospital Escolar Veterinário (HEV) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL). Apresentou uma carga horária de aproximadamente 1009 horas, no período decorrente entre dia 7 de março de 2022 e dia 7 de setembro de 2022, sob a orientação do Professor Doutor Rodolfo Oliveira Leal. Durante este estágio, tive a oportunidade de passar por vários serviços do HEV, nomeadamente Medicina Interna, Medicina Geral e Internamento, Dermatologia, Oftalmologia, Oncologia, Cirurgia e Ecografia (Gráfico 1).

Gráfico 1. Número de semanas passadas em cada serviço



Medicina Interna

As treze semanas passadas no serviço de Medicina Interna foram, para mim, as mais enriquecedoras. Todas as manhãs, antes de começarem as consultas agendadas, assisti à passagem e discussão dos casos clínicos relativos aos animais internados. Acompanhei consultas de primeira e segunda opinião, seguimentos e referências, principalmente sobre casos clínicos relativos ao sistema endócrino, gastrointestinal, respiratório e urinário. Tive a oportunidade de recolher a anamnese, realizar o exame de estado geral, obter amostras de sangue e urina e tratar de todo o processo inerente ao envio das mesmas para os vários laboratórios. Fui incentivada a elaborar listas de diagnósticos diferenciais, métodos de diagnóstico e abordagens terapêuticas relativos aos vários casos clínicos. Participei ainda na comunicação aos tutores dos resultados obtidos nos exames complementares realizados e no *Journal Club* semanal. Auxiliei na realização de endoscopias digestivas altas e baixas (colonoscopias), rinoscopias, broncoscopias, cistoscopias e punções de medula óssea.

Medicina Geral e Internamento

No serviço de Medicina Geral, acompanhei vários tipos de consultas, nomeadamente de rotina, seguimentos e referências. Pude recolher a anamnese, realizar o exame do estado geral, obter amostras de sangue e urina e tratar de todo o processo inerente ao envio das mesmas para os vários laboratórios. Preparei e administrei medicações e vacinas, auxiliei na intervenção médica de urgências e na realização de eutanásias. No Internamento, participei no tratamento e monitorização dos pacientes, através da realização de exames do estado geral, preparação e administração de medicações, colheita de amostras de sangue e urina. Auxiliei ainda a colheita de sangue de cães das forças armadas para o Banco de Sangue.

Dermatologia

Neste serviço, tive a oportunidade de acompanhar as várias consultas agendadas, com recolha da anamnese, realização do exame de estado geral e discussão de vários casos clínicos, relativamente aos diagnósticos diferenciais e abordagens terapêuticas. Realizei citologias cutâneas e auriculares, tricogramas e respetiva observação e interpretação ao microscópio ótico. Auxiliei ainda a colheita de biópsias cutâneas e a realização de vídeo-otoscopias.

Oftalmologia

Durante esta rotação, pude acompanhar as consultas, com realização de exames oftalmológicos completos (testar a resposta de ameaça e os reflexos oculares, realização dos testes de Schirmer e da fluoresceína, avaliação da pressão intraocular, oftalmoscopia direta e indireta), debater os casos clínicos diários e ainda assistir a cirurgias oftalmológicas e ecografias oculares.

Oncologia

No serviço de Oncologia tive a oportunidade de aprender mais sobre os vários protocolos de quimioterapia, possíveis efeitos secundários decorrentes dos mesmos, estadiamento clínico e prognóstico associado. Assisti ainda à realização de punções aspirativas por agulha fina (PAAFs).

Cirurgia

Nas semanas passadas no serviço de Cirurgia realizei a receção dos pacientes, averiguando junto dos tutores algumas informações necessárias previamente à execução do procedimento cirúrgico agendado (jejum, medicações em curso, entre outras). Administrei a pré-medicação anestésica, preparei o paciente (colocação de cateter, entubação endotraqueal) e o campo cirúrgico (tricotomia e assepsia) e auxiliei na manutenção e monitorização da anestesia. Fui ajudante em várias cirurgias, com realização de suturas e

outros procedimentos e pude ainda fazer orquiectomias em gatos, como cirurgião principal, sob supervisão. Contactei os tutores pós-cirurgicamente, dando informações sobre a cirurgia e a alta do animal e monitorizei ainda o período de recobro pós cirúrgico dos pacientes.

Ecografia

Nesta rotação pude acompanhar a realização de ecografias abdominais completas e parciais, cistocenteses, biópsias ecoguiadas, PAAFs, abdominocenteses e lavagem de dispositivos ureterais subcutâneos (subcutaneous ureteral bypass). Auxiliei ainda a elaboração de relatórios ecográficos, com discussão dos achados clínicos obtidos, e participei no *Journal Club* semanal.

Atividades Complementares

O presente trabalho permitiu ainda a elaboração e submissão de um resumo e apresentação oral para o congresso internacional ACVIM FORUM, que decorreu em Philadelphia (Estados Unidos) de 15 a 17 de Junho de 2023 (Anexo 5).

2. Revisão bibliográfica

2.1 Leishmaniose canina

2.1.1 Etiopatogenia

A leishmaniose canina (LCan) é uma zoonose causada por protozoários do género *Leishmania* (Maurelli et al. 2020), sendo *Leishmania infantum* o agente desta doença na Europa (Silvestrini 2019). O cão doméstico desempenha o papel de principal reservatório deste parasita, embora outros mamíferos também possam ser infetados (Solano-Gallego et al. 2016; Cardoso et al. 2021) e constituir reservatórios da doença, dificultando a mitigação da mesma (Alexandre-Pires et al. 2020). A transmissão ocorre sobretudo em regiões de clima temperado, tropical e subtropical, sendo endémica em vários países, nomeadamente nos Mediterrânicos, como Portugal e Espanha (Solano-Gallego et al. 2016). Contudo, as alterações climáticas verificadas nos últimos anos, particularmente o aumento da temperatura média global, a constante migração das pessoas e dos seus animais de estimação e a existência de hospedeiros reservatório silváticos têm contribuído para a disseminação da doença para áreas não endémicas (Ready 2010; Dumitrache et al. 2016).

L. infantum necessita de dois hospedeiros para completar o seu ciclo de vida: um mamífero vertebrado e insetos fêmea do género *Phlebotomus* (Velho Mundo) ou *Lutzomyia* (Novo Mundo) (Silvestrini 2019). A principal forma de infeção resulta da picada de flebotomíneos fêmea infetados, que inoculam a forma promastigota na derme do hospedeiro vertebrado. Posteriormente, ocorre a fagocitose da forma promastigota por macrófagos e outras células do sistema mononuclear fagocítico. No interior destas células ocorre a transformação para a forma amastigota, que se desenvolve, replica e invade novas células alvo (Gharbi et al. 2015). Nos cães que desenvolvem uma resposta imunitária protetora o parasita pode ficar apenas sequestrado na pele ou linfonodo local. Por outro lado, nos cães suscetíveis há uma disseminação dos macrófagos infetados para o linfonodo local, baço e medula óssea pouco tempo após a inoculação do parasita no hospedeiro (Solano-Gallego et al. 2016). Existem ainda outras vias de transmissão da infeção, nomeadamente in utero (Salant et al. 2021), venérea (da Silva et al. 2009; Salant et al. 2021) e por transfusão sanguínea (Miró and López-Vélez 2018). Suspeita-se ainda da transmissão direta entre cães em zonas onde alegadamente não existe o vetor, embora esta hipótese ainda não tenha sido confirmada (Duprey et al. 2006) e por outros artrópodes hematófagos, ainda que pouco relevante do ponto de vista epidemiológico (Coutinho et al. 2005).

2.1.2 Sinais clínicos

A LCan caracteriza-se por ser uma doença crónica, multissistémica, insidiosa, com um vasto leque de apresentações clínicas e graus de gravidade que dependem de diversos fatores inerentes ao parasita, vetor e hospedeiro (Gharbi et al. 2015). O tipo de resposta

montada pelo sistema imunitário do indivíduo infetado irá determinar uma maior resistência ou suscetibilidade ao desenvolvimento da doença (Alexandre-Pires et al. 2020), desempenhando assim um papel fundamental na progressão e desfecho da mesma. Os cães infetados, mas clinicamente saudáveis (doença subclínica) desenvolvem preferencialmente uma resposta imune do tipo celular (resposta Th1), apresentando geralmente baixo título de anticorpos anti *L.infantum*, baixa carga parasitária e ausência de sinais clínicos e alterações analíticas. Já os cães infetados com a doença clínica desenvolvem maioritariamente uma resposta imune do tipo humoral (resposta Th2), com disseminação sistémica do parasita, grande produção de anticorpos anti *L.infantum* e presença de sinais clínicos e alterações analíticas (Solano-Gallego et al. 2011; Solano-Gallego et al. 2016; Alexandre-Pires et al. 2020). Contudo, não existe nenhum teste laboratorial que permita inferir se irá ou não ocorrer a progressão da doença subclínica para clínica, num animal infetado (Roura et al. 2013). E embora a doença clínica se manifeste apenas numa proporção limitada de cães infetados (Pennisi 2015), aqueles cujo sistema imunitário consegue controlar a infeção numa fase inicial, podem também vir a desenvolver sinais clínicos no futuro, caso haja algum fator que fragilize as defesas do hospedeiro, (doença concomitante, estado imunossupressivo) (Silvestrini 2019).

A produção de anticorpos não é protetora contra a LCan e conduz ao desenvolvimento de imunocomplexos. Estes podem depositar-se em vários órgãos, dando origem a glomerulonefrites, vasculites, poliartrites, uveítes, sendo a insuficiência renal a principal causa de morte de cães com LCan, resultante da progressão da glomerulonefrite, devido à deposição dos complexos imunes (Silvestrini 2019; Roura et al. 2021; Morales-Yuste et al. 2022).

As lesões e sinais clínicos manifestam-se entre meses até anos após a infeção (Solano-Gallego et al. 2016), e podem ser maioritariamente inespecíficos, como perda de peso, prostração, febre, vômito, diarreia, linfadenomegália generalizada; cutâneos, como dermatite esfoliativa não pruriginosa, dermatite nodular, papular ou pustular, onicogribose; oculares, como blefarite, conjuntivite, queratoconjuntivites, ou apresentarem-se sob outras formas, como claudicação, epistáxis, alterações neurológicas (Solano-Gallego et al. 2016; LeishVet 2022). Em termos analíticos, os achados mais frequentes são anemia normocítica normocrômica, não regenerativa, trombocitopenia, neutrofilia, leucocitose/leucopenia, hiperproteinemia, hipergamaglobulinemia, hipoalbuminemia, aumento das transaminases, azotemia, proteinúria (Solano-Gallego et al. 2016; Ribeiro et al. 2018; LeishVet 2022).

2.1.3 Fatores de risco

Estão descritos vários fatores de risco para o desenvolvimento da doença. Relativamente à idade existem vários cenários. Segundo Marques (2008), Rombolà et al.

(2021), Tamponi et al. (2021) e Müller et al. (2022) o risco de infeção por *L.infantum* correlaciona-se positivamente com a idade (maior probabilidade de exposição ao vetor). Velez et al. (2019) descrevem uma distribuição bimodal, onde se verificaram dois picos de maior prevalência de LCan, o primeiro entre os 3 e 4 anos e o segundo entre os 7 e 8 anos. Segundo Gálvez et al. (2020) a presença de LCan foi significativamente maior em cães jovens (<1 ano de idade). Alguns autores (Edo et al. 2021; Symeonidou et al. 2021) não encontraram qualquer associação entre a idade e a prevalência de LCan. O risco de infeção correlaciona-se positivamente com a altura do cão (maior área alvo, dióxido de carbono e calor libertados (Curi et al. 2014)) e inversamente com a condição corporal (maior debilidade do sistema imunitário (Curi et al. 2014)) e comprimento do pêlo (maior dificuldade para o vetor se alimentar e menor irradiação de dióxido de carbono (Belo et al. 2013; Rombolà et al. 2021; Tamponi et al. 2021)). Os cães machos (Belo et al. 2013; Rombolà et al. 2021; Tamponi et al. 2021) e de raça também apresentam maior prevalência de LCan (Belo et al. 2013; Rombolà et al. 2021; Tamponi et al. 2021). De facto, algumas raças como o Boxer, Rottweiler, Cocker Spaniel e Pastor Alemão apresentam maior suscetibilidade para o desenvolvimento da doença devido ao seu património genético (França-Silva et al. 2003; Sanchez-Robert et al. 2005; Sanchez-Robert et al. 2008). Por outro lado, por desenvolverem maioritariamente uma resposta imunitária do tipo celular, os cães da raça Podengo Ibicenco apresentam maior resistência contra a infeção, sendo a doença clínica rara nos animais desta raça (de Vasconcelos et al. 2017).

2.1.4 Diagnóstico

O diagnóstico da LCan é um processo complexo, dificultado pelo facto de a doença poder ter inúmeras formas de apresentação clínica, os sinais predominantes puderem ser inespecíficos e a percentagem de cães com doença subclínica ser superior à com doença clínica (Solano-Gallego et al. 2001; Solano-Gallego et al. 2017; Velez et al. 2019; Tamponi et al. 2021). Contudo, devido ao seu carácter zoonótico, possível impacto em termos de saúde pública e por haver maior predisposição nos cães infetados para a ocorrência de co-infeção por outros hemoparasitas, o que pode complicar o quadro clínico (Attipa et al. 2018; Ramos et al. 2022), é essencial proceder a um diagnóstico precoce desta afeção permitindo assim uma rápida instituição de tratamento adequado e controlo da doença (Fujimori et al. 2021).

A realização dos testes de diagnóstico está frequentemente associada a casos onde os animais apresentam sinais clínicos e/ou analíticos compatíveis com a doença, previamente à vacinação de animais saudáveis, antes do início de um tratamento com fármacos imunossupressores ou para monitorização dos animais com um diagnóstico prévio

de leishmaniose, independentemente do seu estatuto clínico (com sintomatologia vs clinicamente saudáveis) (Solano-Gallego et al. 2017; Castelli et al. 2021; LeishVet 2022).

Para se obter o diagnóstico da doença é necessário realizar uma abordagem integrada considerando a história, sinais clínicos e alterações laboratoriais compatíveis com a mesma e métodos de diagnóstico serológicos, moleculares ou parasitológicos (LeishVet 2022). O diagnóstico serológico baseia-se na detecção de anticorpos específicos contra *Leishmania sp.* e inclui métodos quantitativos (Técnica de imunofluorescência indireta - IFAT e ensaio de imunoabsorção enzimática - ELISA) e qualitativos - testes rápidos (Imunocromatografia) (LeishVet 2022; Maurelli et al. 2020). Estes são os métodos mais utilizados na prática clínica para proceder ao diagnóstico da doença (Monteiro et al. 2021; Morales-Yuste et al. 2022). O diagnóstico molecular baseia-se na amplificação dos ácidos nucleicos do parasita, permitindo a identificação do DNA do mesmo, através de uma reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional, nested ou em tempo real (Solano-Gallego et al. 2017; LeishVet 2022). O PCR em tempo real é considerado a técnica com maior sensibilidade e deve ser feito a partir de amostras de medula óssea, linfonodo, baço, pele ou zaragatoas conjuntivais (LeishVet 2022). O diagnóstico parasitológico baseia-se na observação microscópica das formas amastigota por citologia, histopatologia, imuno-histoquímica ou cultura, a partir de amostras obtidas do baço, medula óssea, linfonodos, pele ou fígado (Ribeiro et al. 2018; LeishVet 2022). Rotineiramente, não são métodos muito utilizados por serem mais fastidiosos e requerem alguma experiência da parte do operador (Paltrinieri et al. 2016; Morales-Yuste et al. 2022).

Após o diagnóstico é importante proceder ao estadiamento da LCan. Assim, de modo a facilitar as decisões clínicas sobre a instituição do tratamento adequado e inferir sobre o prognóstico, o grupo LeishVet criou o sistema de estadiamento clínico, tratamento e prognóstico, que consoante os sinais clínicos, resultados laboratoriais e título de anticorpos obtido na serologia classifica a LCan em quatro estádios: estágio I – doença ligeira; estágio II – doença moderada; estágio III – doença grave; estágio IV – doença muito grave; (Solano-Gallego et al. 2011; LeishVet 2022).

2.1.5 Tratamento

A duração do tratamento vai depender da gravidade do quadro clínico exibido pelo animal, da resposta e tolerância à terapêutica instituída, da presença de outras doenças concomitantes e da disponibilidade monetária e determinação do detentor para seguir o protocolo eleito (Ribeiro et al. 2018). A escolha do protocolo terapêutico mais apropriado para a LCan varia consoante o estágio da doença. Segundo as orientações do grupo LeishVet, o tratamento está indicado nos estádios II, III, IV e baseia-se na utilização combinada ou individual de fármacos ditos leishmanicidas e leishmanióstáticos, como o

antimoniato de meglumina, a miltefosina e o alopurinol. No estágio I pode apenas: a) proceder-se à monitorização do animal sem aplicar qualquer tipo de tratamento; b) instituir-se uma terapêutica de curta duração recorrendo a um ou mais fármacos leishmanióstáticos e/ou leishmanicidas; c) recorrer-se a imunostimulantes (Leisguard® - Domperidona e Impromune® - Combinação de nucleótidos e Composto Correlato Hexose Ativo (AHCC)) como terapêutica co-adjuvante ou única (LeishVet 2022). Apesar de a cura parasitológica (eliminação completa do parasita dos tecidos), embora rara, ser possível de alcançar (Ribeiro et al. 2018), os protocolos terapêuticos disponíveis frequentemente conduzem apenas à cura clínica, com diminuição/controlo dos sinais clínicos e alterações analíticas, melhoria da qualidade de vida do animal e redução da carga parasitária, contribuindo para a diminuição da transmissão do agente (Noli and Saridomichelakis 2014).

Uma grande proporção de animais apresenta melhorias no primeiro mês de tratamento (Manna et al. 2008; Solano-Gallego et al. 2011; Torres et al. 2011), sendo a combinação do antimoniato de meglumina com o alopurinol a terapêutica inicial mais utilizada e também a considerada mais eficaz (Manna et al. 2015; Olías-Molero et al. 2021; Monteiro et al. 2021), seguida da utilização a longo prazo do alopurinol (tratamento de manutenção) (Nascimento et al. 2019; Pereira et al. 2022). Alguns efeitos secundários à utilização do alopurinol incluem o desenvolvimento de xantínúria, mineralização renal e nefrolitíase (LeishVet 2022). Tanto o antimoniato de meglumina como a miltefosina podem causar vômito, diarreia e anorexia. O antimoniato de meglumina está desaconselhado em animais com doença renal, cardíaca e hepática devido ao seu potencial efeito nefrotóxico, cardiotoxico e hepatotóxico (Mateo et al. 2009; Woerly et al. 2009; Bianciardi et al. 2009). As recaídas após o protocolo terapêutico inicial são frequentes e o desenvolvimento de resistências por *L.infantum* aos fármacos vulgarmente utilizados no tratamento da doença também já foi descrito (Aït-Oudhia et al. 2012; Yasur-Landau et al. 2016). Neste âmbito, embora a informação disponível ainda seja escassa, a utilização de fármacos imunomoduladores com o objetivo de melhorar a imunidade dos animais com LCan a longo prazo, ajudando a controlar os sinais clínicos, e a prevenir a doença clínica nos animais não infetados parece ser promissora, com um mínimo de efeitos secundários e sem registo de resistências até à data (Roatt et al. 2014; Segarra et al. 2017). As propriedades imunomoduladoras da domperidona devem-se ao seu efeito antagonista a nível dos recetores D2 da dopamina, conduzindo a um aumento dos níveis séricos de prolactina, hormona com efeito estimulante a nível da imunidade celular (Chavez-Rueda et al. 2005; Sabaté et al. 2014). Nos estudos efetuados por Gómez-Ochoa et al. (2009) e Sabaté et al. (2014) a domperidona demonstrou ser eficaz na redução e controlo dos sinais clínicos e diminuição do título de anticorpos da serologia de cães infetados. Mais recentemente, no estudo conduzido por Cavallera et al. (2021) verificou-se que o seu uso foi associado a uma

melhoria da função renal (diminuição dos níveis séricos de creatinina, título de anticorpos e proteína C reativa) de cães com doença renal crônica concomitante. O Impromune® é um alimento complementar e contém Nucleoforce®, uma formulação específica de nucleótidos, e AHCC (Active hexose correlated compound), um extrato micelial obtido a partir do fungo *Lentinula edodes* (Segarra et al. 2017). Os nucleótidos apresentam, entre outras funções, um efeito modulador a nível da resposta imune (propriedades anti-inflamatórias, maior resistência contra infeções) e a sua ausência conduz à redução da resposta imune do hospedeiro (Hess and Greenberg 2012). AHCC demonstrou estimular a resposta Th1 (Lee et al. 2012), importante na prevenção da progressão da LCan. Num estudo conduzido por Segarra et al. (2017) nenhum dos cães (0%) com LCan tratados com o suplemento à base de nucleótidos e AHCC desenvolveu xantínúria, contrariamente a 41% (12/29) dos cães com LCan tratados com alopurinol. Para além disso, este suplemento alimentar demonstrou ter uma eficácia similar à do alopurinol, sem produzir hiperxantínúria, podendo representar uma alternativa terapêutica ao alopurinol, principalmente nos casos onde se desenvolve xantínúria.

Mais recentemente, têm surgido publicações sobre abordagens terapêuticas inovadoras e alternativas às convencionais. Medkour et al. (2020) verificaram que a utilização do artesunato, fármaco anti-malárico, isoladamente no tratamento de cães com LCan conduziu à diminuição da carga parasitária, do título de anticorpos e melhoria dos sinais clínicos, sem efeitos adversos visíveis. Rodriguez-Cortes et al. (2017) e Martori et al. (2021) averiguaram que os níveis de vitamina D eram menores nos cães infetados por *L. infantum*, tanto com doença clínica como sem sinais clínicos, face a cães não infetados e que a concentração sérica de vitamina D era inversamente proporcional à carga parasitária e gravidade dos sinais clínicos. Embora sejam necessários mais estudos para averiguar a posologia mais adequada, existência de efeitos adversos, entre outros fatores, estas alternativas poderão vir a ser utilizadas no futuro, como parte da abordagem terapêutica.

2.1.6 Monitorização e prognóstico

O prognóstico depende em grande parte da precocidade do diagnóstico, gravidade dos sinais clínicos exibidos, alterações analíticas (a presença de anemia grave, linfopénia, co-infeção por outros hemoparasitas, hipoalbuminémia, azotémia e proteinúria correlacionam-se com um pior prognóstico) (Geisweid et al. 2012; Roura et al. 2013; Pereira et al. 2020), principalmente do comprometimento da função renal, aquando do diagnóstico da LCan (Roura et al. 2013; Pereira et al. 2020), instituição de terapêutica apropriada quer da doença quer das comorbilidades (Roura et al. 2021) e resposta ao tratamento instituído (Roura et al. 2013; Pereira et al. 2020). Após o diagnóstico da LCan, os pacientes devem ser periodicamente reavaliados, consoante a gravidade do quadro clínico apresentado.

Segundo o grupo LeishVet, a monitorização deve ser feita através da avaliação clínica (anamnese, exame físico) e laboratorial (hemograma, análises bioquímicas, proteinograma, urinálise, etc) do paciente, de acordo com o esquema presente na tabela 1. (LeishVet 2022)

Tabela 1. Recomendações relativas à monitorização periódica dos cães com LCan. Adaptado de LeishVet (2022).

	Cães infetados com a doença clínica	Cães infetados clinicamente saudáveis
Anamnese e exame físico; Hemograma, Análises bioquímicas, Proteinograma; Urinálise + RPCU	• Após o primeiro mês de tratamento • Depois a cada 3-4 meses (durante o primeiro ano) • Seguidamente, a cada 6-12 meses*	• A cada 3-6 meses
Serologia quantitativa	• ≥ 3 meses após o tratamento inicial • Depois a cada 6-12 meses	• A cada 3-6 meses
PCR (opcional)	• Aquando da serologia	• A cada 3-6 meses

*em cães completamente recuperados em termos clínicos com o tratamento instituído

A monitorização deve ser feita com os seguintes objetivos: a) verificar se as alterações clínicas e laboratoriais apresentadas pelo paciente estão a melhorar; b) apurar se há necessidade de alterar o protocolo terapêutico instituído e se existe algum efeito adverso decorrente do mesmo; c) averiguar a evidência de recaídas (presença de sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais compatíveis com LCan) (Roura et al. 2013), uma vez que estas estão associadas a um aumento marcado dos níveis de anticorpos anti *L.infantum* e da carga parasitária, propiciando a transmissão da doença para outros cães suscetíveis, devido à maior facilidade de transferência do agente para o vetor; (Solano-Gallego et al. 2009; LeishVet 2022). Contudo, os custos associados à monitorização podem dissuadir alguns detentores, principalmente em zonas mais desfavorecidas, prejudicando o estado hígido do animal e culminando num problema de saúde pública (Pereira et al. 2022).

O proteinograma é considerado uma boa ferramenta de monitorização para avaliar a resposta imunitária do paciente, podendo revelar alterações mesmo na ausência de grandes variações na serologia (Carreira et al. 2017; Pereira et al. 2022). Apesar disso, a medição do título de anticorpos anti *L.infantum* (no mínimo 3 meses após a terapêutica inicial) durante o tratamento também é útil, na medida em que, embora seja discutível, na grande maioria dos cães, um decréscimo do título de anticorpos correlaciona-se com uma melhoria nos sinais clínicos e um aumento abrupto deve ser interpretado como recaída. (Proverbio et al. 2014; Manna et al. 2015; LeishVet 2022). Devido à capacidade de *L.infantum* de permanecer latente nos tecidos após o tratamento, o recurso ao PCR quantitativo em tempo real permite

a identificação de animais positivos sem a doença ativa, cujo resultado da serologia poderia ser negativo ou duvidoso, permitindo assim a monitorização da carga parasitária do paciente (Francino et al. 2006; Manna et al. 2015; Pereira et al. 2022). Recentemente, num estudo desenvolvido por Chagas et al. (2021), verificou-se que a pele (biópsias cutâneas da face interna do pavilhão auricular) é considerada o melhor tipo de amostra para proceder à monitorização através da realização do PCR quantitativo, face a outras amostras (linfonodo, medula óssea e zaragatoas conjuntivais), independentemente do estatuto clínico do animal infetado (sem sinais clínicos, com sinais moderados, com sinais graves).

2.1.7 Prevenção

Todos os cães infetados têm a capacidade de transmitir o parasita ao vetor, incluindo aqueles clinicamente saudáveis, permitindo a infeção de outros cães suscetíveis, desempenhando um papel importante na manutenção da doença (Laurenti et al. 2013). Assim, a prevenção da LCan é essencial na redução da transmissão da doença entre cães e, devido ao seu caráter zoonótico, para os humanos (Otranto and Dantas-Torres 2013). Uma vez que a principal forma de transmissão de *L.infantum* é através da picada de flebotomíneos fêmea infetados (Gharbi et al. 2015) a prevenção deve basear-se primariamente na evicção do contacto com o inseto vetor, através da adoção de várias medidas, nomeadamente, aplicação de inseticidas repelentes (coleiras e soluções *spot-on*), evitar a exposição dos cães ao exterior durante a altura de maior atividade do vetor (do anoitecer ao amanhecer), utilização de barreiras físicas (colocação de redes mosquiteiras nas janelas) (Gaglio et al. 2014; Ribeiro et al. 2018). Como estas medidas não são completamente eficientes na prevenção da infeção, o recurso à vacinação, utilização de imunomoduladores (Müller et al. 2017) e deteção e instituição de tratamento adequado aos animais infetados está igualmente indicado no combate à disseminação da doença (Olías-Molero et al. 2021). A estratégia de prevenção mais eficaz é o uso combinado de inseticidas repelentes (coleiras, soluções *spot-on*) e a vacinação (Otranto and Dantas-Torres 2013; Gálvez et al. 2018).

O uso de inseticidas tópicos (deltametrina, permetrina) está indicado como primeira linha na proteção dos cães saudáveis contra a infeção (LeishVet 2022), devido à sua ação repelente, impedindo a picada do vetor e consequentemente a infeção, e ação inseticida, matando o vetor (Killick-Kendrick et al. 1997). Num estudo realizado por Baxarias et al. (2022) a recorrência a produtos com ação repelente como forma de prevenção pelos tutores foi superior à vacinação ou uso de imunomoduladores (Domperidona). Recentemente, no estudo efetuado por Bongiorno et al. (2022), verificou-se que a utilização do fluralaner (Bravecto®) foi também eficaz na prevenção da picada de flebótomos infetados, durante um período de 8 semanas. A vacinação não previne a infeção, mas diminui os sinais clínicos e a

progressão da doença. Embora os cães vacinados e posteriormente infetados tenham capacidade de transmitir *L.infantum* aos vetores, a infecciosidade é menor, face a cães com a doença clínica (Miró et al. 2017; Cotrina et al. 2018; Almeida et al. 2022). O protocolo de utilização da domperidona durante 30 dias seguidos a cada quatro meses reduz o risco de desenvolvimento da doença clínica nos animais suscetíveis, devido à estimulação da imunidade celular (Sabaté et al. 2014), sendo também uma alternativa viável para proceder à prevenção da doença.

2.2 Xantinúria

2.2.1 Metabolismo das purinas

As purinas são bases nitrogenadas que compõem os nucleótidos e também outras biomoléculas como o ATP. Subdividem-se em oxipurinas (hipoxantina, xantina, ácido úrico e alantoína), aminopurinas (adenina e guanina) e metilpurinas (cafeína, teobromina, teofilina). (Bartges et al. 1999; Osborne et al. 2010). Podem ter duas origens: alimentar, através do catabolismo dos ácidos nucleicos presentes nos alimentos ingeridos, principalmente naqueles ricos em proteínas (Tabela 2), e endógena, decorrente essencialmente da degradação dos ácidos nucleicos das células do indivíduo e da síntese de novo (Kelley and Weiner 1978). O metabolismo das purinas (Figura 2) desenrola-se essencialmente a nível hepático, iniciando-se pela conversão das mesmas em hipoxantina (Kelley and Weiner 1978). Posteriormente, através da ação da enzima xantina oxidase (XO), ocorre a conversão da hipoxantina em xantina e desta em ácido úrico (Kelley and Weiner 1978). Contrariamente aos humanos, nos cães (exceto nos dálmatas) e nos outros mamíferos ocorre ainda a transformação do ácido úrico em alantoína, através da ação da enzima hepática uricase, composto facilmente eliminado pela urina (Schaible 1986; Bartges et al. 1999; Osborne et al. 2010; Rivara et al. 2013). Relativamente aos produtos resultantes do metabolismo das purinas e excretados na urina, a alantoína é o que apresenta maior solubilidade e a xantina o que demonstra menor (Osborne et al. 2010). Nos cães da raça dálmata, apesar de a concentração da enzima hepática uricase ser suficiente, a conversão do ácido úrico em alantoína ocorre em menor extensão, comparativamente aos cães das outras raças (Kelley and Weiner 1978; Bartges et al. 1999; Osborne et al. 2010; McCue et al. 2009). Esta diferença deve-se a uma mutação genética autossómica recessiva que altera o transporte transmembranar de ácido úrico a nível dos hepatócitos e células dos túbulos renais, tornando as membranas destas células parcialmente impermeáveis a este composto (McCue et al. 2009; Osborne et al. 2010). Nos cães de outras raças quase todo o ácido úrico filtrado a nível glomerular é reabsorvido pelo tubo contornado proximal. Nos dálmatas, para além de essa reabsorção ocorrer em muito menor grau verifica-se ainda a excreção de uma pequena quantidade de ácido úrico pelo tubo contornado distal (Bartges et al. 1999;

Osborne et al. 2010), culminando numa eliminação muito maior deste composto na urina, face aos cães de outras raças, tornando os dálmatas mais propensos ao desenvolvimento de urólitos de uratos (Kelley and Weiner 1978; Bartges et al. 1999; Osborne et al. 2010). Contudo, nem todos os cães desta raça desenvolvem este tipo de cálculos urinários, uma vez que na sua génese estão envolvidos múltiplos outros fatores para além das alterações anteriormente mencionadas (McCue et al. 2009).

Tabela 2. Teor de purinas de vários alimentos. Adaptado de Bartges et al. (1999).

Alimentos com alto teor de purinas	Alimentos com teor moderado de purinas	Alimentos com baixo teor de purinas
• Sardinha • Salmão • Atum • Camarão • Anchova • Vísceras (coração, rim, fígado)	• Feijão • Ervilha • Lentilha • Espinafres • Cogumelos • Couve-flor	• Cereais • Frutas • Ovos • Leite • Nozes • Manteiga • Queijo

2.2.2 Etiopatogenia

A xantinúria, excreção urinária de xantina, caracteriza-se pela presença de baixos níveis séricos e urinários de ácido úrico e elevados níveis séricos e urinários de hipoxantina e xantina (Kelley and Weiner 1978). Pode ser primária (hereditária) ou iatrogénica (secundária à utilização de alopurinol), a forma mais frequente (Osborne et al. 2009; Osborne et al. 2010). Ambas as formas podem coexistir, principalmente nas raças com predisposição para o desenvolvimento de xantinúria primária (Torres et al. 2016). A xantinúria hereditária é uma doença autossómica recessiva rara que engloba dois subtipos (OMIM 2022), indistinguíveis clinicamente. No subtipo I existe uma deficiência da enzima XO, causada por uma mutação no gene que codifica a mesma (OMIM 2019). No subtipo II há um defeito na síntese do cofator de molibdénio, que é essencial para a atividade de várias enzimas, nomeadamente da XO (OMIM 2022). Ambas as alterações vão culminar numa excreção anormalmente elevada de xantina na urina. Embora ainda não esteja completamente determinado, suspeita-se que a xantinúria hereditária possa ocorrer em raças como o Cavalier King Charles Spaniel (van Zuilen et al. 1997; Jacinto et al. 2013) e Teckel (Kucera et al. 1997; Flegel et al. 1998). Devido à baixa solubilidade da xantina na urina, o aumento da sua excreção urinária e acumulação na urina originam um estado de hiperxantinúria, favorecendo o desenvolvimento de cristais e/ou urólitos de xantina (Osborne et al. 2009).

2.2.3 Cristais e urólitos de xantina – gênese e principais características

A cristalúria consiste na visualização, através do microscópio, de cristais presentes no sedimento da urina, após centrifugação da mesma (Bartges and Kirk 2009) e a sua presença, associada a uma densidade urinária (DU) elevada, favorece o desenvolvimento de urólitos (Bartges and Kirk 2009). Para o desenvolvimento de cristalúria de um determinado tipo é necessário ocorrer a precipitação desse composto na urina, devido a uma supersaturação urinária com o mesmo, com formação de microcristais. Esses microcristais podem posteriormente agregar-se, formando estruturas maiores e organizadas, podendo culminar no desenvolvimento de urólitos. A permanência dos cristais no trato urinário também favorece o desenvolvimento de urólitos, na medida em que facilita a agregação de novos cristais e crescimento da estrutura originada (Bartges and Kirk 2009; Osborne et al. 2010). Na presença de urolitíase, o tipo de cristal observado na análise de urina nem sempre se correlaciona com o tipo de urólito formado e pode ainda haver cristalúria sem desenvolvimento de urólitos e formação de urólitos sem se observar cristalúria. Este fenômeno pode ocorrer se houver uma rápida incorporação dos cristais que precipitam na urina em cálculos urinários pré formados ou caso a amostra de urina tenha sido obtida durante um período de menor supersaturação da urina com o composto em questão (Bartges and Kirk 2009).

Os urólitos de xantina, juntamente com os de uratos, pertencem à família dos urólitos de purinas (McCue et al. 2009). Apresentam baixa prevalência nos cães (0,3 – 1,7%) (Lulich et al. 2014; Breu et al. 2021; Kopecny et al. 2021; Burggraaf et al. 2021), são radiolúcidas (Osborne et al. 2010; Bartges and Callens 2015) e geralmente são puros (>70% de xantina), podendo, contudo, conter outros minerais, como urato de amônio (Osborne et al. 2009). A grande maioria encontra-se presente no trato urinário inferior (Osborne et al. 2009; Torres et al. 2016), podendo variar de 1 até mais de 100 exemplares, apresenta forma ovalada, superfície lisa e uma cor que varia entre o amarelo e o castanho. O seu comprimento geralmente está compreendido entre 0,5 mm a 1 cm (Figura 1) (Osborne et al. 2009).



Figura 1. Cistólito de xantina removido de um canídeo fêmea, esterilizado, de raça indeterminada, com 13 anos. Cortesia do Anicura Hospital Veterinario Valencia Sur (Dra. Carolina Arenas)

2.2.4 Fatores de risco

A presença de urólitos de xantina está mais frequentemente descrita nos cães machos e em ambos os sexos nos animais esterilizados (Osborne et al. 2009; Osborne et al. 2010; Breu et al. 2021; Kopecny et al. 2021; Burggraaf et al. 2021), de raça (Osborne et al. 2009; Breu et al. 2021; Kopecny et al. 2021) e em cães com idades compreendidas entre 4 e 7 anos e 10 e 15 anos (Osborne et al. 2009; Osborne et al. 2010; Breu et al. 2021; Kopecny et al. 2021). Existem ainda outros fatores que facilitam o desenvolvimento de xantínúria, e consequentemente cálculos de xantina: a nível alimentar, dietas com alto teor de purinas, com potencial acidificante e baixo conteúdo em humidade; a presença de urina com um pH ácido, densidade urinária elevada e retenção urinária; tratamento com alopurinol (Osborne et al. 2010).

pH urinário

A acidúria representa um fator de risco para o desenvolvimento de xantínúria pelo facto de a solubilidade da xantina, embora em pequena extensão, ser dependente do pH urinário. Apesar de a xantina ser o produto resultante do metabolismo das purinas com menor solubilidade a nível urinário, ela é ligeiramente menos insolúvel em valores de pH urinário mais elevados (Osborne et al. 2010).

Dieta

As dietas hiperproteicas contêm altos teores de purinas (Bartges and Kirk 2009; Osborne et al. 2010), favorecendo o desenvolvimento de xantínúria pelo facto de fornecerem uma grande quantidade de precursores do ácido úrico. Para além disso, por serem ricas em enxofre, apresentam ainda um potencial acidificante, facilitando o desenvolvimento de acidúria, e deste modo a formação de cristais de xantina e, eventualmente, cálculos. O consumo de dietas com baixo teor de humidade também contribui para o desenvolvimento

de xantinúria por estar associado a uma menor produção de urina, mais concentrada, favorecendo a precipitação da xantina e formação de cristalúria (Osborne et al. 2010).

Alopurinol

O mecanismo que conduz ao desenvolvimento de xantinúria associado à utilização do alopurinol depende de vários fatores, nomeadamente da dose utilizada, da quantidade de purinas de origem alimentar e de origem endógena obtidas pelo animal, da taxa de degradação das mesmas e da função hepática do animal (Osborne et al. 2009).

Como mencionado anteriormente, o alopurinol é um fármaco leishmanioestático, rotineiramente utilizado na abordagem terapêutica de cães com LCan. O grupo LeishVet recomenda a sua utilização na dose de 10 mg/kg duas vezes ao dia e por um período de pelo menos 6 a 12 meses (LeishVet 2022), com o objetivo de diminuir a carga parasitária e prevenir a ocorrência de recaídas (Torres et al. 2011). A sua atividade leishmanioestática deve-se à formação de um análogo do ATP, o ribonucleótido trifosfato de 4-amino-pirazolopirimidina, composto bastante tóxico, quando este fármaco é metabolizado por *L.infantum*. Este metabolito vai inibir a síntese proteica de *L.infantum*, devido à incorporação do mesmo no RNA do parasita, impedindo assim a multiplicação de *L.infantum* (Nelson et al. 1979; Koutinas et al. 2001; Segarra et al. 2017). Contudo, tal como em todos os fármacos, a utilização do alopurinol também pode originar alguns efeitos secundários, a curto e longo prazo, como o desenvolvimento de xantinúria, mineralização renal e nefrolitíase (Torres et al. 2011; Torres et al. 2016; LeishVet 2022). De facto, num estudo realizado por Torres et al. (2016), foi possível detetar a presença de xantinúria em cães com LCan tratados com alopurinol apenas 3 semanas após o início do tratamento e o desenvolvimento de urolitíase após um mês de utilização. O desenvolvimento de xantinúria em cães com LCan tratados com alopurinol foi relatado em 13% e 41% dos cães envolvidos nos estudos de Torres et al. (2016) e Segarra et al. (2017), respetivamente. O mecanismo que conduz ao desenvolvimento de xantinúria pelo alopurinol consiste na inibição do funcionamento da enzima XO. Em baixas concentrações este fármaco funciona como um substrato, mas também inibidor competitivo da enzima e em altas concentrações como um inibidor não competitivo (Kelley and Weiner 1978; Pacher et al. 2006). A inibição da XO vai culminar numa menor conversão da hipoxantina em xantina e desta em ácido úrico (Figura 2) (Osborne et al. 2009), favorecendo o aumento da concentração dos dois primeiros compostos. A força de ligação do alopurinol à XO é 10 a 40 vezes superior à força de ligação da xantina a esta enzima (Kelley and Weiner 1978). Após a ligação à XO o alopurinol é posteriormente oxidado, dando origem ao seu metabolito ativo oxipurinol (Kelley and Weiner 1978; Pacher et al. 2006), que também apresenta uma ação inibitória ao nível desta enzima (inibidor não competitivo) (Pacher et al. 2006). O alopurinol funciona como um

isômero sintético da hipoxantina e o oxipurinol um análogo da xantina, sendo o alopurinol tal como a hipoxantina bastante hidrossolúvel e o oxipurinol tal como a xantina pouco hidrossolúvel (Bartges et al. 1999). Apesar de o alopurinol apresentar um tempo de semi-vida curto, o seu metabolito ativo tem longa persistência nos tecidos, sendo responsável pela maioria dos efeitos terapêuticos deste fármaco e também pela sua ação inibitória a nível da XO (Kelley and Weiner 1978; Pacher et al. 2006). Assim, mesmo nos animais aos quais só é administrado alopurinol uma vez ao dia, vai haver uma contínua inibição da XO devido à ação do oxipurinol, que tem um tempo de semi-vida bastante superior ao do alopurinol (Kelley and Weiner 1978). A inibição da XO vai conduzir a uma maior excreção de xantina e hipoxantina na urina (Figura 2), sendo a quantidade de xantina geralmente o dobro da quantidade de hipoxantina excretada (Kelley and Weiner 1978). Como a hipoxantina apresenta elevada solubilidade é facilmente eliminada pela urina (Kelley and Weiner 1978). Por outro lado, devido à sua elevada insolubilidade, há a possibilidade de o excesso de xantina precipitar, facilitando a formação de cristalúria e posterior desenvolvimento de urólitos (Kelley and Weiner 1978; Flegel et al. 1998). Há maior risco de formação de urólitos de xantina quando se utilizam doses mais elevadas de alopurinol, associado a uma dieta rica em purinas (Bartges et al. 1999). Assim, de forma a permitir uma identificação precoce dos principais efeitos adversos decorrentes da terapêutica com alopurinol nos cães com LCan (Torres et al. 2011; Torres et al. 2016; LeishVet 2022) deve ser feita uma monitorização regular através da realização de ecografia abdominal e análise de urina tipo II (Torres et al. 2011; Torres et al. 2016; Roura et al. 2021).

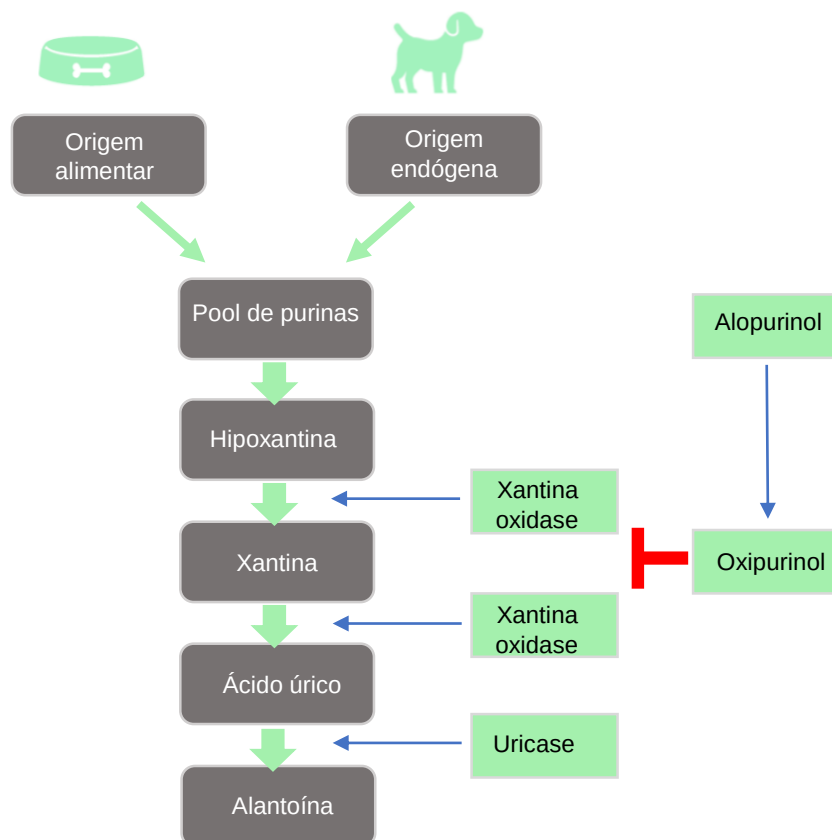


Figura 2. Metabolismo das purinas e mecanismo de ação do alopurinol. Adaptado de Flegel et al. (1998).

2.2.5 Sinais clínicos

Embora a presença de xantinúria seja um fator de risco para o desenvolvimento de urólitos de xantina, a sua detecção não implica necessariamente a presença de urolitíase ou dos sinais clínicos associados à mesma (Osborne et al. 2010). Assim, a presença de xantinúria caracteriza-se, geralmente, por ausência de sinais clínicos, estando o surgimento dos mesmos mais associado ao desenvolvimento de urólitos de xantina (Kucera et al. 1997). A gravidade e exuberância dos sinais clínicos exibidos vai depender do local, grau de obstrução ao fluxo urinário e tamanho do(s) urólito(s). No trato urinário inferior, a sua existência pode conduzir a um quadro de disúria, polaquiúria, hematória e periúria. No trato urinário superior a presença destes urólitos geralmente não origina sinais clínicos, principalmente quando são nefrólitos. Contudo, também pode desencadear um quadro obstrutivo, associado principalmente à existência de ureterólitos, ou originar sinais clínicos intermitentes (Bartges et al. 1999; Osborne et al. 2010; Torres et al. 2016), com possível progressão para um quadro de hidronefrose, afetando a função renal. Embora raro, nos quadros obstrutivos, pode ainda ocorrer rotura vesical, com desenvolvimento de uroabdômen. Outros sinais clínicos que podem coexistir são anorexia, prostração, dor

abdominal, vômito, diarreia e renomegália. (Kucera et al. 1997; Bartges et al. 1999; Osborne et al. 2010)

2.2.6 Diagnóstico

A identificação da presença de xantinúria pode ser feita através da realização de urinálise, ecografia abdominal ou radiografia abdominal. A informação obtida a partir destes exames complementares deve ainda ser combinada com a anamnese, exame do estado geral e análises laboratoriais (hemograma, análises bioquímicas), de modo a permitir a identificação de outras alterações manifestadas pelo paciente e facilitar a escolha do melhor plano terapêutico (Bartges and Kirk 2009).

Na presença de xantinúria, a análise de urina tipo II permite averiguar: o valor do pH urinário, que mais frequentemente se encontra ácido (excetuando-se, por exemplo, nos casos onde exista infeção concomitante com bactérias produtoras de urease); a densidade urinária, que mais comumente se encontra aumentada; e a visualização dos cristais de xantina no sedimento, como estruturas esféricas, castanhas amareladas. Contudo, estes cristais são difíceis de distinguir dos de urato de amónio utilizando apenas o microscópio ótico (Bartges et al. 1999; Koehler et al. 2009; Osborne et al. 2009). A análise de urina tipo II pode ainda identificar a presença de hematória (Bartges et al. 1999; Osborne et al. 2010), proteinúria e piúria (Osborne et al. 2010). Concomitantemente à sua realização deve ser feita cultura bacteriana para descartar a presença de infeções bacterianas, que possam piorar o quadro clínico. (McCue et al. 2009).

O recurso à radiografia abdominal simples (sem contraste) pode permitir a observação dos urólitos de xantina, principalmente os de maiores dimensões. Contudo, a sua visualização através deste exame imagiológico é geralmente difícil devido ao facto de estes urólitos serem radiolucentes. Comparativamente à radiografia abdominal simples, a cistografia de duplo contraste apresenta maior sensibilidade na identificação deste tipo de urólitos, principalmente os de menores dimensões. Este exame complementar permite, caso as dimensões dos cálculos sejam superiores a 1 mm, averiguar o seu número, tamanho e forma (Osborne et al. 2010; Lulich et al. 2014), podendo ainda possibilitar a recolha de alguns urólitos através do cateter, permitindo posteriormente a realização de uma análise quantitativa (Osborne et al. 2010). Não necessita de anestesia geral, embora seja recomendado fazer sedação do paciente e anestesia local, de modo a facilitar o processo e tornar o procedimento mais confortável para o paciente (Osborne et al. 2010; Lulich et al. 2014).

A ultrassonografia é um exame complementar não invasivo e permite identificar a presença de urólitos, inclusive os radiolucentes como os de xantina. Contudo, não fornece

informações sobre a sua natureza (Osborne et al. 2009), dimensão ou quantidade (Bartges et al. 1999).

Geralmente não existem alterações a nível do hemograma e análises bioquímicas. Contudo, pode verificar-se a presença de azotémia, hipercaliémia e hiperfosfatémia na presença de um quadro obstrutivo (Bartges et al. 1999). Para obter o diagnóstico definitivo de litíase por xantina devem enviar-se os urólitos para um laboratório de referência para análise quantitativa, uma vez que a presença de cristalúria de um determinado tipo não implica necessariamente que os cálculos presentes sejam da mesma natureza (McCue et al. 2009).

2.2.7 Maneio médico

Até à data não existe forma de dissolução médica dos urólitos de xantina (Torres et al. 2016; Queau 2018). Contudo, podem ser adotadas medidas que diminuam a probabilidade de desenvolvimento de xantinúria e/ou cálculos de xantina, permitam o seu controlo e reduzam a possibilidade de ressurgimento de urólitos após a sua remoção cirúrgica. O maneio médico visa, assim, diminuir a concentração urinária de xantina e aumentar a solubilidade deste composto (Mestrinho et al. 2013). Sem a adoção de qualquer medida médica, após serem removidos cirurgicamente, os urólitos de xantina podem reaparecer após 3 a 12 meses (Bartges and Callens 2015).

Dieta

Na presença de xantinúria, o regime alimentar do animal deve ser alterado para uma dieta com restrição proteica (10 – 18 %) e consequentemente no teor de purinas, de modo a reduzir a excreção urinária dos produtos resultantes do metabolismo das purinas (Osborne et al. 2010). Esta medida é ainda mais importante nos cães que estejam a ser tratados com alopurinol, uma vez que há maior risco de formação de urólitos de xantina caso a sua alimentação seja rica em purinas (Bartges et al. 1999). As dietas com teor restrito de proteína podem conduzir a perdas de massa magra, se o nível requerido de aminoácidos essenciais não for alcançado (Wakshlag et al. 2003), não sendo recomendadas em animais gestantes, em lactação ou em crescimento (Osborne et al. 2010). Assim, de modo a contornar este problema, as dietas formuladas para o maneio da xantinúria utilizam proteínas com baixo teor de purinas (Tabela 2), como o ovo, mas de elevada qualidade e com grande digestibilidade (Osborne et al. 2010). Alguns exemplos deste tipo de dietas disponíveis no mercado são a Canine Urinary UC Low Purine®, da Royal Canin, a Advance Veterinary Diets Urinary Low Purine®, Advance Veterinary Diets Leishmaniasis®, Purina NF®, Hill's Prescription Diet k/d® e Hill's Prescription Diet u/d®. Como alternativa, pode realizar-se uma dieta caseira, com alimentos pobres em purinas (Tabela 2), formulada por um médico veterinário nutricionista, de acordo com as características individuais do animal

(Bartges et al. 1999; Koehler et al. 2009). Estas dietas promovem ainda a alcalinização da urina, por terem na sua formulação agentes alcalinizantes, como o citrato de potássio (Osborne et al. 2010), sendo o objetivo manter o pH urinário idealmente entre valores de 7,1 a 7,5 (Osborne et al. 2010).

Ingestão de água

A diminuição do consumo de água reduz a eliminação de metabolitos através da urina, contribui para o aumento da densidade urinária e acumulação de solutos (Osborne et al. 2010), favorecendo a supersaturação da urina. Este fenómeno é o ponto-chave para o desenvolvimento de cristalúria, nomeadamente de xantina. Assim, aumentar o volume de urina produzido é uma das estratégias mais simples a adotar para prevenir este evento, devido à diminuição da concentração da xantina presente na urina. O aumento do consumo de água vai originar um maior volume urinário, diminuir a densidade urinária (o objetivo deve ser manter a densidade urinária abaixo de 1.020) (Lulich et al. 2016) e a supersaturação da urina, dificultando a precipitação e agregação dos compostos precursores dos cristais (Koehler et al. 2009; Osborne et al. 2010). Para além disso, também conduz a um aumento da frequência de micção e, conseqüentemente, de eliminação de cristais de xantina pré-existent (Osborne et al. 2010). Uma das ações que poderá ajudar a aumentar o consumo de água pelos animais é a utilização exclusiva de dietas húmidas (humidade >70%) (Koehler et al. 2009), uma vez que as dietas secas estão associadas a uma menor produção de urina, mais concentrada (Osborne et al. 2010). Contudo, este tipo de alimentação em regime exclusivo tende a ser relativamente mais dispendioso, comparativamente às dietas secas. Assim, para estimular o consumo de água durante todo o dia, podem ser adotadas várias outras medidas, que proporcionem sempre água limpa e fresca (Osborne et al. 2010): utilização de fontes de água; colocação de vários recipientes com água em diversos locais da casa; adicionar água à comida seca ou húmida; ou mesmo oferecer cubos de gelo.

Alcalinização da urina

A solubilidade dos produtos resultantes do metabolismo das purinas varia consoante o pH urinário, sendo maior em valores de pH alcalinos (Bartges et al. 1999). Contudo, a xantina apresenta pouca solubilidade independentemente do valor do pH urinário (Kelley and Weiner 1978; Simmonds 2003). De facto, apesar de os urólitos de xantina se desenvolverem predominantemente em urinas com pH ácido ou neutro (Koehler et al. 2009), também se podem formar na presença de valores de pH urinário alcalino (Flegel et al. 1998). Embora a alcalinização da urina tenha um efeito limitado (Flegel et al. 1998), o objetivo é manter os valores do pH urinário próximos de 7. Valores acima de 7.5 devem ser evitados, sob o risco de propiciarem a formação de outro tipo de cálculos, como os de fosfato de cálcio (Bartges et al. 1999). As dietas formuladas para o manejo da xantinúria são

alcalinizantes, uma vez que contêm um teor proteico restrito (as dietas hiperproteicas promovem a acidúria) e muitas vezes também apresentam na sua formulação agentes alcalinizantes, como o citrato de potássio (Osborne et al. 2010). Se o valor do pH urinário permanecer ácido pode ainda experimentar-se outra dieta formulada para o mesmo objetivo, mas de marca diferente, ou recorrer-se ao uso do citrato de potássio, embora este composto também apresente um efeito limitado como alcalinizante urinário, na dose de 40 a 75 mg/kg (Bartges et al. 1999; Stevenson et al. 2000). Deve ser dado duas vezes ao dia, para facilitar a manutenção contínua de um pH urinário não ácido (Osborne et al. 2010).

Terapêutica com o alopurinol

Como anteriormente mencionado, a utilização do alopurinol pode conduzir ao desenvolvimento de xantinúria. Na presença de xantinúria está recomendado reduzir-se a dose de alopurinol para 10mg/kg SID ou menos (Osborne et al. 2010; Manna et al. 2015; Roura et al. 2021; Jesus 2021) ou mesmo descontinuar a terapêutica (Osborne et al. 2009; Lulich et al. 2014; Jesus 2021). Nos cães com LCan que desenvolvem xantinúria pode também introduzir-se o suplemento à base de nucleótidos e AHCC (Impromune®), com o objetivo de melhorar a imunidade dos animais a longo prazo, ajudando a controlar os sinais clínicos (Roatt et al. 2014; Segarra et al. 2017). Como já mencionado, no estudo conduzido por Segarra et al. (2017) nenhum dos cães com LCan tratados com o suplemento à base de nucleótidos e AHCC desenvolveu xantinúria e este composto demonstrou ter uma eficácia similar à do alopurinol, podendo assim representar uma alternativa terapêutica nos casos onde se desenvolve xantinúria.

2.2.8 Maneio cirúrgico

Na abordagem terapêutica à presença de xantinúria e cálculos de xantina deve fazer-se uma combinação do maneio médico e cirúrgico (Bartges et al. 1999). O maneio cirúrgico adquire um peso especialmente importante na presença deste tipo de urólitos, principalmente quando existem sinais clínicos, uma vez que estes não podem ser dissolvidos medicamente (Osborne et al. 2010; Bartges and Callens 2015). Em certas situações, como na presença de um quadro obstrutivo (obstrução total do bacinete, ureteres ou uretra) há também a necessidade de remoção imediata dos urólitos (Bartges et al. 1999; Osborne et al. 2010; Lulich et al. 2014). Para este efeito pode recorrer-se a técnicas minimamente invasivas (litotripsia a laser, laparoscopia, uretrocistoscopia, urohidropulsão), ou não (cistotomia, uretrotomia, uretrostomia) (Bartges and Callens 2015). Sempre que possível, deve dar-se primazia às primeiras, de modo a facilitar a preservação do normal funcionamento do trato urinário (Lulich et al. 2014).

A urohidropulsão está indicada na remoção de urólitos de pequenas dimensões, cujo diâmetro seja inferior ao da uretra dilatada, localizados na uretra ou bexiga. Para a sua

realização é necessário anestésias o paciente, inserir um cateter urinário até à bexiga, enchendo-a com solução salina estéril, caso esta não se encontre suficientemente repleta. É necessária precaução para não encher em demasia a bexiga, sob o risco de haver rotura da mesma. O animal deve ser colocado posteriormente numa posição bipedal e proceder-se ao agitação cuidadoso da bexiga, para promover o movimento dos urólitos para o trígono vesical. Em seguida, deve remover-se o cateter e apertar a bexiga suavemente para promover a saída da urina e dos urólitos, que podem ser colhidos e seguir para análise (Bartges and Kirk 2009; Osborne et al. 2010). Perante um quadro de obstrução uretral pode fazer-se urohidropulsão retrógrada, que consiste na condução dos urólitos presentes na uretra de novo para a bexiga. O facto de os cálculos de xantina serem geralmente ovóides e de superfície lisa facilita este processo (Osborne et al. 2010).

A litotripsia, quando disponível, está mais indicada na presença de cálculos de maiores dimensões. (Osborne et al. 2010; Bartges and Kirk 2009). Procede-se à fragmentação dos urólitos, através do recurso ao laser, que passa através de um cistoscópio. Os fragmentos são depois removidos através do cistoscópio, por urohidropulsão ou pela micção natural (Bartges and Kirk 2009; Bartges and Callens 2015), podendo também ser posteriormente enviados para análise.

3. Caracterização e avaliação de fatores predisponentes para o desenvolvimento de xantinúria em cães com leishmaniose

3.1 Introdução

A LCan é uma zoonose (Maurelli et al. 2020) endémica em vários países, como Portugal e Espanha (Solano-Gallego et al. 2016). Caracteriza-se por ser uma doença crónica, multissistémica, insidiosa, cuja progressão e desfecho dependem do tipo de resposta imunitária desenvolvida pelo animal (Alexandre-Pires et al. 2020; Gharbi et al. 2015). O alopurinol, fármaco rotineiramente utilizado no tratamento da LCan, é um inibidor da enzima xantina oxidase, que exerce um papel fundamental no metabolismo das purinas (Kelley and Weiner 1978). A ação inibitória do alopurinol conduz a uma diminuição da conversão da hipoxantina em xantina (composto pouco hidrossolúvel) e desta em ácido úrico (composto hidrossolúvel), originando um estado de hiperxantinúria, favorecendo o desenvolvimento de cristais ou urólitos de xantina (Osborne et al. 2009). Contudo, nem todos os cães com LCan tratados com alopurinol desenvolvem xantinúria e/ou urólitos de xantina e até ao momento não existe muita informação relativa a possíveis fatores de risco que concorram para este evento.

3.2 Objetivos

O presente estudo teve como objetivos:

1. descrever as principais características de dois grupos de cães com diagnóstico de LCan, submetidos a tratamento com alopurinol, com e sem desenvolvimento de xantinúria, respetivamente;
2. avaliar a existência de fatores de risco associados ao desenvolvimento de xantinúria em cães com diagnóstico prévio de LCan e tratados com alopurinol;

3.3 Materiais e métodos

3.3.1 Tipo de estudo e critérios de inclusão

Foi realizado um estudo caso-controlo, multicêntrico, retrospectivo em canídeos com diagnóstico de LCan. Para compor os grupos caso (desenvolvimento de xantinúria) e controlo (sem desenvolvimento de xantinúria) foram selecionados, em igual número, cães que cumprissem os fatores de inclusão presentes na tabela 3.

Sempre que disponível, foi colhida informação relativamente à data de diagnóstico de LCan, idade, sexo, raça, estatuto reprodutivo, condição corporal, peso, dieta, serologia, estadiamento clínico LeishVet, sinais clínicos, valores da pressão arterial sistémica, alterações analíticas a nível do hemograma, análises bioquímicas, ionograma, proteinograma, RPCU e urina tipo II, aquando do diagnóstico de LCan, tratamento instituído, data e método de diagnóstico da xantinúria (apenas no grupo caso).

Tabela 3. Critérios de inclusão para a constituição dos grupos caso e controle.

Critérios de inclusão	
Grupo caso	Grupo controle
• Diagnóstico de LCan (infecção natural por <i>L. infantum</i>), através da obtenção de um resultado serológico (utilização de métodos quantitativos) ou molecular (PCR em tempo real) positivo; • Tratamento com alopurinol, após o diagnóstico de LCan; • Ausência de historial prévio de desenvolvimento de xantínúria; • Disponibilidade de informação clínica relativa à data de diagnóstico de LCan, idade, sexo, raça, estatuto reprodutivo, peso, diagnóstico de xantínúria; • Diagnóstico de xantínúria através da visualização de cristais de xantina na urinálise ou detecção de urolitíase na ecografia abdominal, seguida da realização de urinálise e confirmação da presença de cristais de xantina;	• Diagnóstico de LCan (infecção natural por <i>L. infantum</i>), através da obtenção de um resultado serológico (utilização de métodos quantitativos) ou molecular (PCR em tempo real) positivo; • Tratamento com alopurinol, após o diagnóstico de LCan, durante no mínimo cinco meses; • Ausência de historial prévio de desenvolvimento de xantínúria; • Ausência de desenvolvimento de xantínúria durante o acompanhamento clínico do animal; • Disponibilidade de informação clínica relativa à data de diagnóstico de LCan, idade, sexo, raça, estatuto reprodutivo, peso;

3.3.2 Fonte de dados

Foi criada uma base de dados no Microsoft® Office Excel 2013, com informação obtida a partir dos programas informáticos *Guruvet* do Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária, *NEXO* do AniCura Valencia Sur Hospital Veterinario e *Qvet* do Hospital Clinico Veterinario, Universidad Alfonso X El Sabio, relativamente ao período compreendido entre outubro de 2011 e fevereiro de 2022. Os dados recolhidos estavam presentes nos relatórios e documentos anexos às fichas clínicas dos animais incluídos no estudo.

3.3.3 Análise estatística

A análise estatística deste estudo foi realizada a partir do programa Rx64, versão 4.2.2, Microsoft® Office Excel 2013 e IBM® SPSS® Statistics versão 23. Para as variáveis qualitativas, a existência de fatores de risco para o desenvolvimento de xantínúria foi avaliada através da realização do Teste de qui-quadrado (χ^2) de Pearson, para um intervalo de confiança de 95%, sendo a probabilidade de significância 0,05 (nível de significância de 5%). Nas células das tabelas de contingência onde a frequência esperada era inferior a 5 foi utilizado o Teste exato de Fisher, de modo a obter o valor-p (*p-value*) corrigido. Nas variáveis onde o valor de p revelou ser inferior a 0,05, mas os valores da classe amostral eram pequenos foi aplicado o Fator de correção de Yates. Relativamente às variáveis quantitativas, foi realizado o Teste de Shapiro-Wilk para testar a normalidade. A existência de fatores de risco para o desenvolvimento de xantínúria foi avaliada através da realização

do Teste de Wilcoxon (teste não paramétrico). Para as variáveis quantitativas obtiveram-se os valores da mediana e variação interquartil e para as variáveis qualitativas as frequências absoluta e relativa.

4. Resultados

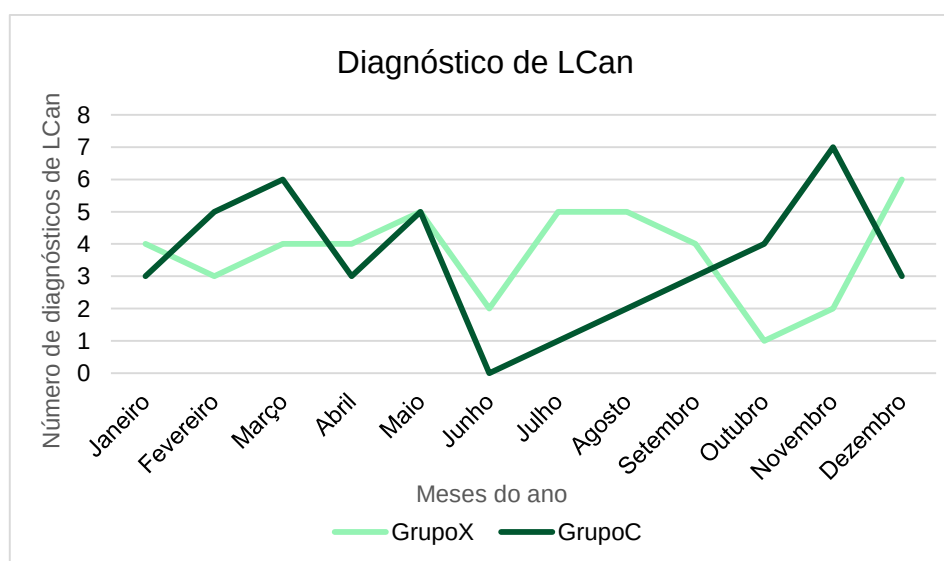
4.1 Caracterização das populações caninas dos grupos caso e controlo

Para compor o grupo caso e o grupo controlo foram selecionados noventa cães. Cada grupo foi composto por quarenta e cinco cães. No grupo caso (GrupoX), cães que após o diagnóstico de LCan e início do tratamento desenvolveram xantínúria, vinte e cinco eram seguidos no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária, dez no Anicura Hospital Veterinario Valencia Sur e os restantes dez no Hospital Clinico Veterinario, Universidad Alfonso X El Sabio. No grupo controlo (GrupoC), cães que após o diagnóstico de LCan e início do tratamento não desenvolveram xantínúria, vinte e oito eram seguidos no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária, cinco no Anicura Hospital Veterinario Valencia Sur e os restantes doze no Hospital Clinico Veterinario, Universidad Alfonso X El Sabio.

4.1.1 Distribuição temporal do diagnóstico de LCan

No GrupoX, o diagnóstico de LCan foi feito principalmente nos meses de dezembro, 13,3% (6/45), maio, 11,1% (5/45), julho, 11,1% (5/45), e agosto, 11,1% (5/45); e no GrupoC, nos meses de novembro, 16,7% (7/42), março, 14,3% (6/42), fevereiro, 11,9% (5/42) e maio, 11,9% (5/42) (Gráfico 2). Três cães do GrupoC apenas apresentavam informação quanto ao ano de diagnóstico de LCan.

Gráfico 2. Distribuição temporal dos meses de diagnóstico de LCan dos cães do GrupoX e do GrupoC.



4.1.2 Idade, sexo e estatuto reprodutivo

A mediana de idades do GrupoX foi de 4 ± 5 anos (Tabela 4), estando os valores compreendidos entre 1 a 10 anos. Em detalhe, 46,7% (21/45) dos cães tinham entre 1 a 3 anos (Gráfico 3). No GrupoC a mediana foi de 6 ± 5 anos (Tabela 4). As idades dos cães deste grupo estavam compreendidas entre 1 a 14 anos, onde 35,6% (16/45) tinha entre 4 a 6 anos e 28,9% (13/45) entre 7 a 9 anos (Gráfico 3). Neste estudo, a diferença de idades entre os grupos foi estatisticamente significativa ($p=0.002$) sendo os animais do GrupoX mais novos.

Quanto ao sexo e estatuto reprodutivo, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas ($p=1$ e $p=0.97$, respetivamente) (Anexo 1). Ambos os grupos eram constituídos por 29 machos (64,4%) e 16 fêmeas (35,6%) (Tabela 4). No GrupoX, 55,6% (25/45) dos cães eram inteiros e no GrupoC, 57,8% (26/45) dos cães eram férteis (Tabela 4).

Gráfico 3. Distribuição das idades (anos) dos cães do GrupoX e do GrupoC.

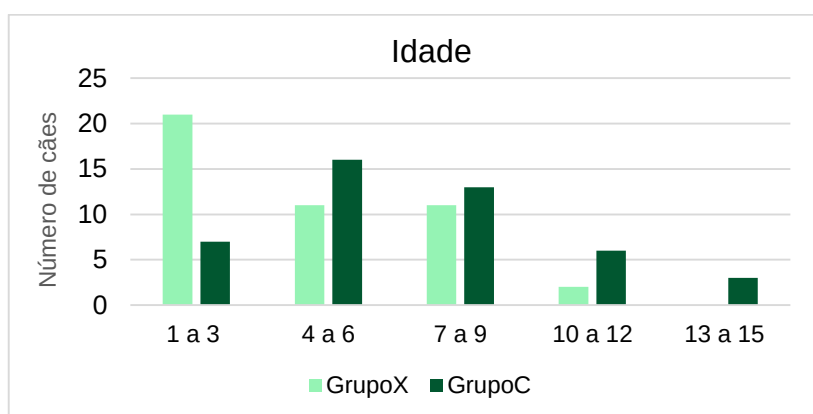


Tabela 4. Caracterização da idade (anos), sexo e estatuto reprodutivo dos cães do GrupoX e do GrupoC.

	GrupoX (n=45)		GrupoC (n=45)	
Idade	4 ± 5		6 ± 5	
	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
Sexo				
Machos	29	64,4	29	64,4
Fêmeas	16	35,6	16	35,6
Estatuto reprodutivo				
Fértil	25	55,6	26	57,8
Machos	18	72,0	19	73,1
Fêmeas	7	28,0	7	26,9
Esterilizados	20	44,4	19	42,2
Orquiectomia	11	55,0	10	52,6
Ovariohisterectomia	9	45,0	9	47,4

4.1.3 Raça

O GrupoX era composto por 32 cães de raça pura (71,1%) e 13 de raça indeterminada (28,9%). Dentro das 24 raças representadas, as mais prevalentes foram a Boxer, 9,4% (3/32), Labrador Retriever, 9,4% (3/32) e Pastor Alemão, 9,4% (3/32) (Gráfico 4). O GrupoC apresentava 31 cães de raça pura (68,9%) e 14 de raça indeterminada (31,1%). Relativamente às 25 raças presentes, a raça Pastor Alemão, 9,7% (3/31), foi a mais prevalente, seguida da American Pit Bull Terrier, 6,5% (2/31), Labrador Retriever, 6,5% (2/31), Pointer Inglês, 6,5% (2/31) e Setter Inglês, 6,5% (2/31) (Gráfico 5). Relativamente à raça, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre grupos ($p=0.8181$) (Anexo 1).

Gráfico 4. Caracterização dos cães do GrupoX de acordo com a raça.

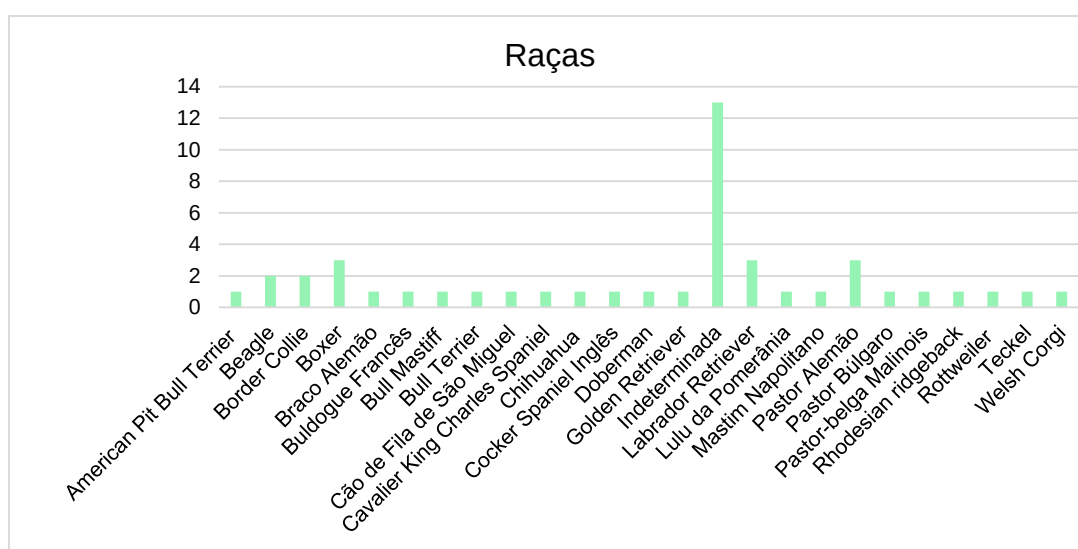
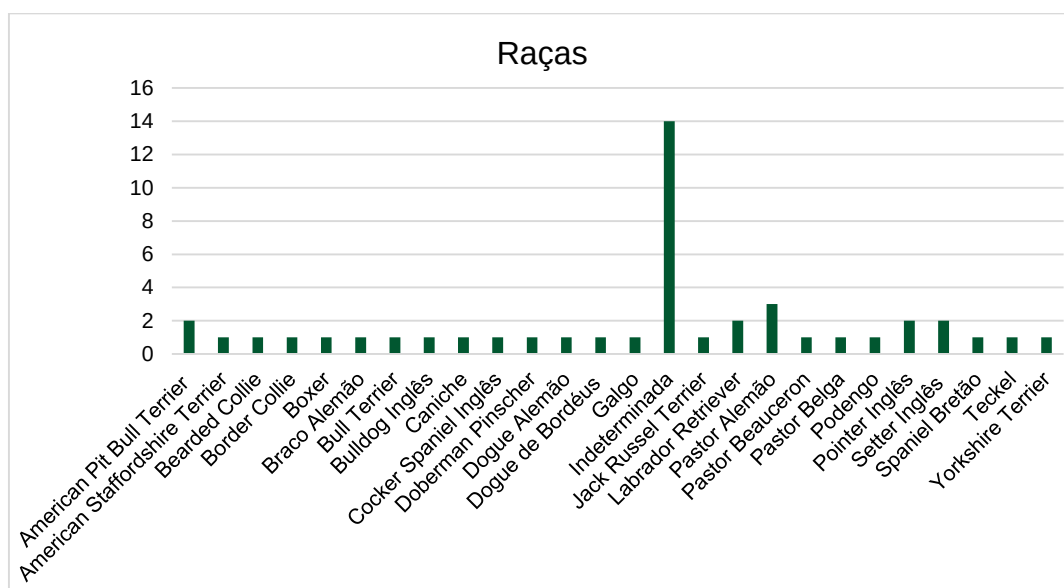


Gráfico 5. Caracterização dos cães do GrupoC de acordo com a raça.



4.1.4 Condição corporal e peso

A mediana do peso do GrupoX foi de $22,5 \pm 18,9$ kg (Tabela 13), estando os valores desta medida compreendidos entre 3,0 e 58,0 kg. No GrupoC, a mediana do peso foi $20,0 \pm 17,2$ kg (Tabela 13), estando os pesos dos animais deste grupo compreendidos entre os 4,2 e 70,0 kg. Os valores da condição corporal foram obtidos com o auxílio de escalas de classificação semi-quantitativas (1-9), subjetivas, como o Sistema de Avaliação da Condição Corporal Canina, da Nestlé Purina. No GrupoX, esta informação apenas estava disponível em 51,1% (23/45) dos animais, sendo que destes 65,2% (15/23) apresentavam uma condição corporal ideal (4-5) (Gráfico 6). Nos animais seguidos em Portugal apenas se efetuou esta classificação em 12,0% (3/25) dos casos, enquanto nos animais seguidos em Espanha essa classificação foi de 100,0% (20/20). Relativamente ao GrupoC, em 42,2% (19/45) dos casos foi possível obter esta informação, verificando-se que 57,9% (11/19) dos cães tinham peso ideal (4-5) (Gráfico 7). Esta informação estava disponível apenas em 7,1% (2/28) dos casos seguidos em Portugal e em 100,0% dos cães seguidos em Espanha (17/17).

O valor da mediana da condição corporal do GrupoX foi de $5 \pm 1,5$ (Tabela 13), variando os valores entre 2 e 7. No GrupoC este valor foi $4 \pm 1,5$, sendo o valor mínimo registado 3 e o máximo 9 (Tabela 13). Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre grupos relativamente ao peso ($p=0.5343$) e condição corporal ($p=0.4664$) (Tabela 13).

Gráfico 7. Distribuição da condição corporal dos cães do GrupoX.

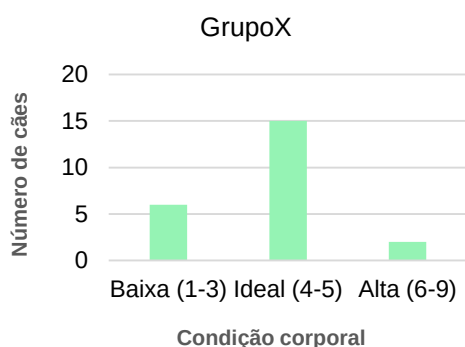
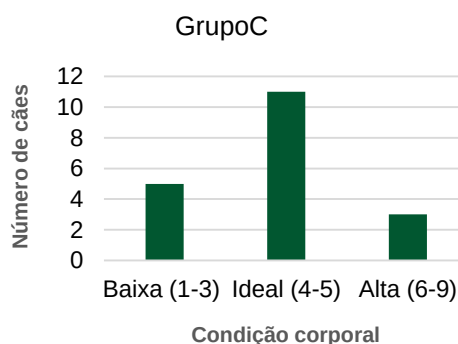


Gráfico 6. Distribuição da condição corporal dos cães do GrupoC.



4.1.5 Dieta

O tipo de dieta de cada cão antes do diagnóstico de LCan foi registado em 57,8% (26/45) dos indivíduos, no GrupoX, sendo que em 92,3% (24/26) dos animais era composta por ração seca. A dieta seca consistia em rações formuladas para cães adultos saudáveis. Dos 2 cães cuja alimentação não consistia somente em ração seca, um deles tinha uma dieta baseada em comida caseira e outro comia ração seca juntamente com húmida.

Aquando do diagnóstico de LCan, a dieta foi mudada em 23,7% (9/38) dos casos, onde 55,6% (5/9) mudou para uma dieta com restrição de purinas (Anexo 1). No GrupoC, a informação relativa à dieta de cada cão estava disponível em 64,4% (29/45) dos casos, onde a ração seca, 75,9% (22/29), era o tipo de dieta mais prevalente. A dieta seca consistia em rações formuladas para cães adultos saudáveis. Havia ainda 5 cães cuja dieta consistia em ração seca juntamente com comida caseira e 2 que comiam apenas comida caseira. Verificou-se uma alteração na dieta, aquando do diagnóstico de LCan, em 15,6% (7/45) dos casos, onde 28,6% (2/7) mudou para uma dieta com baixo teor de purinas (Anexo 1). No nosso estudo, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas relativamente à alteração da dieta aquando do diagnóstico de LCan ($p=0.3496$) e à realização de dieta com baixo teor de purinas ($p=0.2371$) (Anexo 1).

4.1.6 Serologia e Estadiamento Clínico segundo o grupo LeishVet

O diagnóstico de LCan foi realizado através da obtenção de um resultado serológico (métodos quantitativos) ou molecular (PCR em tempo real) positivo. Sempre que o título de anticorpos da primeira serologia realizada ao animal era equivalente a duvidoso ou positivo baixo, o caso clínico era acompanhado até realização de nova serologia com título de anticorpos superior ou realização de PCR, com obtenção de um resultado positivo. Em ambos os grupos, o título de anticorpos equivalente a positivo muito alto foi o mais prevalente (GrupoX - 54,8% (23/42); GrupoC - 46,5% (20/43)) (Gráficos 8 e 9). Comparando ambos os grupos, o título de anticorpos obtido na serologia foi similar ($p=0.2933$) (Anexo 1).

Com base nos sinais clínicos, alterações analíticas e valores obtidos na serologia foi determinado o estágio da doença, de acordo com o sistema de estadiamento clínico, tratamento e prognóstico do grupo LeishVet. Em ambos os grupos o estágio II foi o mais frequente (GrupoX – 75,0% (33/44); GrupoC - 83,7% (36/43)) (Gráficos 10 e 11). Sempre que os valores da creatinina e rácio proteína-creatinina urinário (RPCU) se encontravam disponíveis, foi ainda efetuado o subestadiamento do estágio II. Em ambos os grupos foi possível averiguar o subestadiamento em 66,7% (GrupoX - 22/33; GrupoC - 24/36) dos cães com estágio II. No GrupoX 54,5% (12/22) foram classificados com o subestádio IIb e no GrupoC ambos os subestádios tiveram a mesma proporção, 50% (12/24). O estadiamento clínico foi similar em ambos os grupos ($p=0.8521$) (Anexo 1).

Gráfico 8. Título de anticorpos obtido na serologia dos cães do GrupoX.

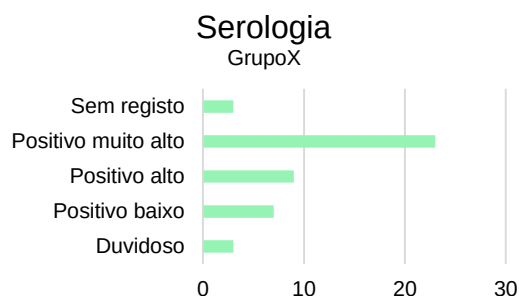


Gráfico 9. Título de anticorpos obtido na serologia dos cães do GrupoC.

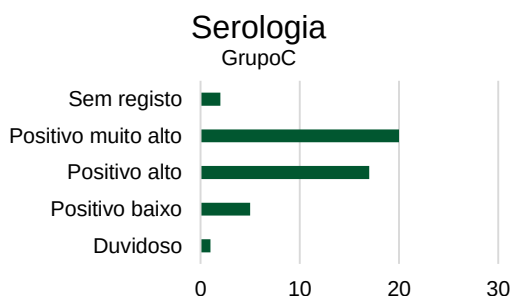


Gráfico 10. Caracterização dos cães do GrupoX segundo o sistema de estadiamento clínico, tratamento e prognóstico do grupo LeishVet.

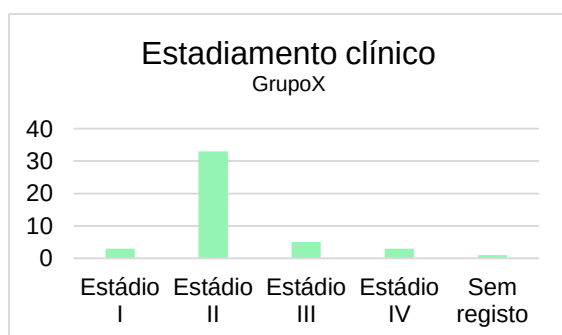
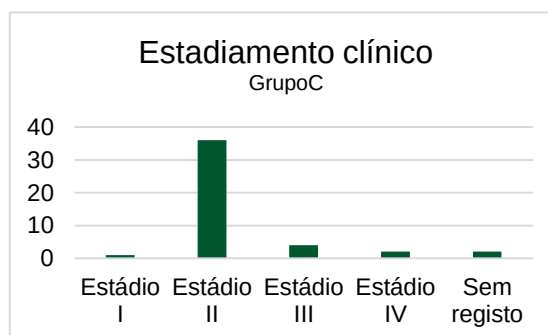


Gráfico 11. Caracterização dos cães do GrupoC segundo o sistema de estadiamento clínico, tratamento e prognóstico do grupo LeishVet.



4.1.7 Sinais clínicos

Em ambos os grupos, os sinais clínicos inespecíficos e cutâneos foram os mais predominantes. Dentro desses sinais, no GrupoX, os mais frequentes foram: linfadenomegália, generalizada ou apenas de um ou mais linfonodos, (28,9%), apatia/prostração (26,7%), alopecia, periocular, peribucal, do bordo auricular, ou dos membros, (22,2%), anorexia/hiporexia (17,8%) (Tabela 5). No GrupoC, a presença de linfadenomegália, generalizada ou apenas de um ou mais linfonodos, (26,7%), perda de peso (22,2%), anorexia/hiporexia (15,6%) e apatia/prostração (13,3%) foram os sinais clínicos mais frequentes (Tabela 5). Cinco cães, três pertencentes ao GrupoX e dois ao GrupoC, não apresentaram qualquer alteração no exame do estado geral.

Tabela 5. Principais sinais clínicos exibidos no exame do estado geral, aquando do diagnóstico de LCan, pelos cães do GrupoX e do GrupoC.

Sinais clínicos	GrupoX (n=45)		GrupoC (n=45)	
	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
Inespecíficos				
Linfadenomegália	13	28,9	12	26,7
Apatia/Prostração	12	26,7	6	13,3
Anorexia/Hiporexia	8	17,8	7	15,6
Diarreia	5	11,1	4	8,9
Mucosas pálidas	5	11,1	3	6,7
Perda de peso	3	6,7	10	22,2
Pirécia	2	4,4	3	6,7
Poliúria/Polidipsia	4	8,9	3	6,7
Vômito	2	4,4	2	4,4
Cutâneos				
Alopécia	10	22,2	5	11,1
Seborreia seca	6	13,3	6	13,3
Onicogribose	2	4,4	2	4,4
Eritema	1	2,2	3	6,7
Dermatite	1	2,2	3	6,7
Prurido	4	8,9	2	4,4
Oculares				
Blefarite	1	2,2	0	0,0
Conjuntivite	2	4,4	1	2,2
Outros				
Claudicação	2	4,4	5	11,1
Epistáxis	1	2,2	1	2,2

4.1.8 Pressão arterial

Os valores da pressão arterial sistémica apenas se encontravam disponíveis em 26,7% (12/45) dos cães do GrupoX e em 31,1% (14/45) dos casos no GrupoC. No GrupoX, 50,0% (6/12) dos cães encontravam-se normotensos (PAS <160mmHg (Acierno et al. 2018)) e 50,0% (6/12) hipertensos (PAS ≥160mmHg (Acierno et al. 2018)). No GrupoC, 71,4% (10/14) dos cães apresentavam normotensão e 28,6% (4/14) hipertensão.

4.1.9 Hemograma, análises bioquímicas, ionograma e proteinograma

Em termos de alterações a nível do hemograma, no GrupoX, as mais frequentes foram anemia (53,7%), trombocitopenia (29,3%), policromasia (12,2%) e anisocitose eritrocitária (12,2%) (Tabela 6). Quinze cães (36,6%) não apresentaram qualquer tipo de alteração. No GrupoC foi mais frequente a presença de anemia (47,7%), trombocitopenia

(25,0%), leucocitose (13,6%), neutrofilia (13,6%) e policromasia (13,6%) (Tabela 6). Em nove cães (20,5%) os valores dos parâmetros do hemograma encontravam-se dentro dos limites de referência. Nenhuma das alterações encontradas no hemograma foi estatisticamente significativa entre grupos (Anemia - $p=0.5847$; Trombocitopénia - $p=0.658$; Leucocitose - $p=0.7399$; Neutrofilia - $p=0.2675$; Animais sem alterações - $p=0.09876$) (Anexo 2).

Relativamente às análises bioquímicas as alterações mais frequentemente encontradas no GrupoX foram hipoalbuminémia (22,5%), hiperglobulinémia (22,5%), hiperproteinémia (20,0%) e aumento da concentração sérica de ureia (20,0%) (Tabela 7). 35% (14/40) dos cães deste grupo apresentaram todos os parâmetros dentro dos intervalos de referência. No GrupoC foi mais prevalente a presença de hipoalbuminémia (25,0%), hiperproteinémia (22,7%) e hiperglobulinémia (13,6%) (Tabela 7). Dezassete cães (38,6%) não apresentaram qualquer alteração. Também a nível das análises bioquímicas, nenhum dos parâmetros avaliados foi estatisticamente diferente entre grupos (Hipoalbuminémia - $p=0.7882$; Hiperproteinémia - $p=0.7609$; $\uparrow$ Ureia - $p=0.2744$; $\uparrow$ Creatinina - $p=0.1817$; $\uparrow$ FAS - $p=0.3626$; $\uparrow$ AST - $p=0.6781$; Hiperglobulinémia - $p=0.2894$; Animais sem alterações - $p=0.7301$) (Anexo 2).

Os resultados do ionograma estavam disponíveis em 60% (27/45) dos cães do GrupoX, sendo que desses 70,4% (19/27) apresentavam todos os parâmetros dentro dos intervalos de referência. As principais alterações verificadas foram hipocaliémia, 11,1% (3/27), hiponatrémia, 7,4% (2/27) e hipoclorémia 7,4% (2/27). No GrupoC, os valores dos parâmetros do ionograma apenas puderam ser consultados em 21 cães (46,7%), onde 90,5% (19/21) não apresentava qualquer tipo de alteração. As alterações mais frequentes foram hiponatrémia, 4,8% (1/21), e hipercaliémia, 4,8% (1/21). Relativamente ao ionograma, nenhum dos parâmetros avaliados foi estatisticamente significativo entre grupos (Hipocaliémia - $p=0.246$; Hiponatrémia - $p=1$; Hipoclorémia - $p=0.4973$; Animais sem alterações - $p=0.1518$) (Anexo 2).

Quanto ao proteinograma, a presença de hipergamaglobulinémia foi a alteração mais frequente em ambos os grupos (GrupoX - 43,3%; GrupoC - 47,2%) (Tabela 8). No GrupoX destaca-se ainda a presença de hipoalbuminémia (16,7%), diminuição das alfa-1 globulinas (13,3%) e hiperproteinémia (13,3%) e no GrupoC a diminuição das alfa-1 globulinas (38,9%), hipoalbuminémia (30,6%) e aumento das alfa-2 globulinas (30,6%) (Tabela 8). Não foram registadas alterações no proteinograma de 36,7% (11/30) dos cães do GrupoX e 16,7% (6/36) dos cães do GrupoC. Apenas a diminuição das alfa-1 globulinas ($p=0.02028$) foi estatisticamente significativa entre grupos (Hipergamaglobulinémia - $p=0.7521$; Hipoalbuminémia - $p=0.1899$; Hiperproteinémia - $p=0.3512$; $\downarrow$ Rel. Alb/Glob - $p=0.1157$; $\uparrow$ Alfa-2 - $p=0.08$; Animais sem alterações - $p=0.0643$) (Anexo 3).

Tabela 6. Principais alterações presentes no hemograma realizado aquando do diagnóstico de LCan, do GrupoX e do GrupoC.

Alterações analíticas	GrupoX (n=41)		GrupoC (n=44)	
	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
Hemograma				
Anemia	22	53,7	21	47,7
Trombocitopenia	12	29,3	11	25,0
Leucocitose	4	9,8	6	13,6
Leucopenia	0	0,0	3	6,8
Neutrofilia	2	4,9	6	13,6
Neutropenia	0	0,0	1	2,3
Linfocitose	1	2,4	1	2,3
Linfopenia	2	4,9	5	11,4
Policromasia	5	12,2	6	13,6
Anisocitose eritrocitária	5	12,2	5	11,4

Tabela 7. Principais alterações presentes nas análises bioquímicas realizadas aquando do diagnóstico de LCan, do GrupoX e do GrupoC.

Alterações analíticas	GrupoX (n=40)		GrupoC (n=44)	
	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
Análises bioquímicas				
Hipoalbuminemia	9	22,5	11	25,0
Hiperproteinemia	8	20,0	10	22,7
Hiperglobulinemia	9	22,5	6	13,6
Hiperurémia	8	20,0	5	11,4
Hipercreatinemia	7	17,5	3	6,8
Aumento da FAS	1	2,5	4	9,1
Aumento da AST	2	5,0	4	9,1
Aumento da ALT	1	2,5	4	9,1

Legenda: FAS - Fosfatase alcalina sérica; AST - Aspartato aminotransferase; ALT - Alanina aminotransferase.

Tabela 8. Principais alterações presentes no proteinograma realizado aquando do diagnóstico de LCan, do GrupoX e do GrupoC.

Alterações analíticas	GrupoX (n=30)		GrupoC (n=36)	
	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
Proteinograma				
Hipergamaglobulinémia	13	43,3	17	47,2
Hipoalbuminémia	5	16,7	11	30,6
↓Alfa-1	4	13,3	14	38,9
Hiperproteinémia	4	13,3	8	22,2
↓Rel. Alb/Glob	3	10,0	9	25,0
↑Alfa-2	3	10,0	11	30,6
Hiperbetaglobulinémia	1	3,3	6	16,7

Legenda: ↓Alfa-1 - Diminuição da concentração das globulinas alfa-1; ↓Rel. Alb/Glob - Diminuição da relação albumina / globulinas; ↑Alfa-2 – Aumento da concentração das globulinas alfa-2.

4.1.10 Rácio proteína-creatinina urinário (RPCU)

Os valores obtidos no RPCU puderam ser consultados em 73,3% (33/45) dos animais do GrupoX, onde 48,5% (16/33) exibia proteinúria significativa (Gráfico 12). No GrupoC, os resultados do RPCU estavam disponíveis em 30 (66,7%) cães, onde 53,3% (16/30) demonstrava ter proteinúria significativa (Gráfico 13). Não foi observada diferença significativa do valor de RPCU entre os grupos ($p=0.9378$) (Anexo 1).

Gráfico 12. Caracterização dos valores da proteinúria do GrupoX obtidos no RPCU realizado aquando do diagnóstico de LCan.

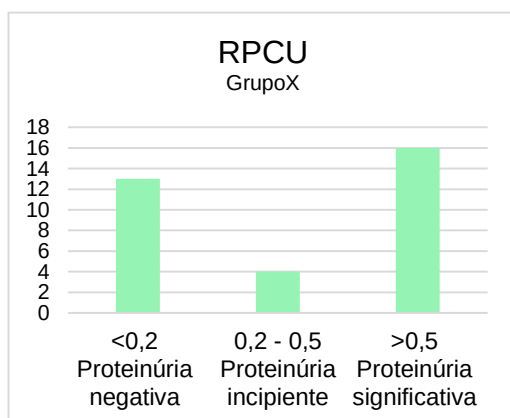
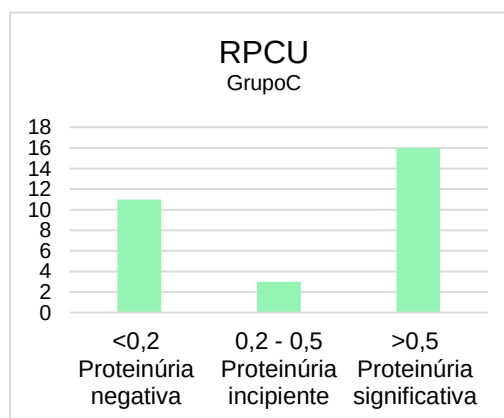


Gráfico 13. Caracterização dos valores da proteinúria do GrupoC obtidos no RPCU realizado aquando do diagnóstico de LCan.



4.1.11 Análise de urina tipo II

Na análise de urina tipo II efetuada aquando do diagnóstico de LCan, verificou-se que em 72,7% dos cães do GrupoX o pH urinário estava normal ($5,5 \leq \text{pH} \leq 7,5$) e em 34,5% a

urina se encontrava hiperestenúrica (Tabela 9). Nos 29 (64,4%) cães onde a informação sobre os resultados da urinálise estava disponível verificou-se a presença de proteinúria em 79,3% dos casos (Tabela 9). No GrupoC, 73,3% e 40,0% dos cães apresentavam os valores do pH e densidade urinária, respetivamente, dentro dos intervalos de referência ($5,5 \leq \text{pH} \leq 7,5$; $1.035 \leq \text{DU} < 1.050$) (Tabela 9). Os resultados da urina tipo II estavam disponíveis em 66,7% (30/45) dos cães, sendo que desses 73,3% apresentavam proteinúria na tira de urina (Tabela 9). Nenhuma das alterações na urina II foi estatisticamente significativa entre grupos (pH - $p=0.7206$; DU - $p=0.3962$; Proteinúria - $p=0.5895$; Hematúria - $p=0.2542$; Piúria - $p=0.0521$; Cristalúria - $p=1$; Lipúria - $p=1$) (Anexo 3).

Tabela 9. Caracterização dos valores dos vários parâmetros da urinálise, realizada aquando do diagnóstico de LCan, do GrupoX e do GrupoC.

Urina tipo II	GrupoX		GrupoC	
	Frequência relativa %		Frequência relativa %	
pH				
Aumentado ($\text{pH} > 7,5$)	5/22	22,7	5/30	16,7
Normal ($5,5 \leq \text{pH} \leq 7,5$)	16/22	72,7	22/30	73,3
Diminuído ($\text{pH} \leq 5,5$)	1/22	4,5	3/30	10,0
Densidade urinária				
Hiperestenúria	10/29	34,5	6/30	20,0
Normal	9/29	31,0	12/30	40,0
Inapropriadamente concentrada	1/29	3,4	0/30	0,0
Isostenúria	0/29	0,0	2/30	6,7
Hipostenúria	9/29	31,0	10/30	33,3
Proteinúria	23/29	79,3	22/30	73,3
Hematúria	5/29	17,2	2/30	6,7
Piúria	4/29	13,8	0/30	0,0
Cristalúria*	1/29	3,4	1/30	3,3
Lipúria	2/29	6,9	3/30	10,0

Legenda: *cristalúria exceto cristais de xantina; Densidade urinária: Hiperestenúria - $\text{DU} \geq 1.050$; Normal - $1.035 \leq \text{DU} < 1.050$; Inapropriadamente concentrada - $1.012 < \text{DU} < 1.035$; Isostenúria - $1.007 < \text{DU} \leq 1.012$; Hipostenúria - $\text{DU} \leq 1.007$.

4.1.12 Administração de imunomodulador

No GrupoX, 33,3% (15/45) dos cães receberam um imunomodulador, como parte da abordagem terapêutica, após o diagnóstico de LCan. Desses, em 7 (46,7%) foi administrada a domperidona (Leisguard®), em 4 (26,7%) o suplemento à base de nucleótidos e AHCC (Impromune®) e nos restantes 4 (26,7%) o nutracêutico à base de levedura de cerveja,

mananoligossacáridos, polifenóis, vitamina B6 e zeólita clinoptilolita (Omnifect® Pro imune). No GrupoC, foi administrado um imunomodulador em 46,7% (21/45) dos cães, sendo que desses 61,9% (13/21) tomou a domperidona e 38,1% o nutracêutico. Nenhum cão recebeu o suplemento à base de nucleótidos e AHCC. Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre grupos relativamente à utilização ou não de um imunomodulador ($p=0.1967$), nem entre os vários imunomoduladores utilizados ($p=0.0535$) (Anexo 1).

4.1.13 Tratamento

Alopurinol

A mediana da duração do tratamento com alopurinol foi de 150 ± 362 dias no GrupoX (Tabela 13), variando os valores entre 4 e 2190 dias. No GrupoC este valor foi de 284 ± 245 dias (Tabela 13), sendo o valor mínimo 150 dias e máximo 2005 dias. Em ambos os grupos a posologia mais utilizada consistiu em 10 mg/kg BID (GrupoX - 81,4%; GrupoC - 86,7%) (Tabela 10). 25,0% e 37,8% dos cães do GrupoX e do GrupoC, respetivamente, tomaram alopurinol durante mais de 365 dias (Anexo 4). Neste estudo, a dose e frequência de administração do alopurinol ($p=0.5983$) e a utilização deste fármaco durante um período superior a 365 dias ($p=0.1943$) não foram estatisticamente significativas entre grupos (Anexo 4). A duração do tratamento com alopurinol foi estatisticamente significativa ($p=0.004812$) (Tabela 13).

Tabela 10. Posologia de administração do alopurinol no GrupoX e no GrupoC.

Posologia	GrupoX (n=43)		GrupoC (n=45)	
	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
<10 mg/kg BID	4	9,3	3	6,7
10 mg/kg BID	35	81,4	39	86,7
10 - 20 mg/kg BID	0	0,0	1	2,2
>20 mg/kg BID	2	4,7	0	0,0
<10 mg/kg SID	0	0,0	0	0,0
10 mg/kg SID	1	2,3	1	2,2
10 - 20 mg/kg SID	0	0,0	1	2,2
>20 mg/kg SID	1	2,3	0	0,0

Legenda: BID – Duas vezes ao dia; SID - Uma vez ao dia.

Antimoniato de meglumina

No GrupoX, 36 cães (80%) foram tratados com antimoniato de meglumina (Glucantime®), sendo que em 2 deles não havia registos suficientes que permitissem averiguar toda a posologia efetuada. No GrupoC, 84,4% (38/45) dos casos receberam antimoniato de meglumina como parte da abordagem terapêutica. A posologia mais utilizada

em ambos os grupos foi de 50 mg/kg BID (GrupoX - 58,8%; GrupoC - 57,9%) (Tabela 11). Relativamente à dose e frequência de administração do antimonio de meglumina não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre grupos ($p=0.364$) (Anexo 4).

Quanto ao número de ciclos efetuados, 83,3% (30/36) dos cães do GrupoX e 81,6% (31/38) dos cães do GrupoC realizou apenas um ciclo de antimonio de meglumina. A mediana da duração do tratamento foi de 28 ± 2 dias, no GrupoX, e 28 ± 0 dias, no GrupoC.

Tabela 11. Posologia de administração do antimonio de meglumina no GrupoX e no GrupoC.

Posologia	GrupoX (n=34)		GrupoC (n=38)	
	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
<50 mg/kg BID	3	8,8	0	0,0
50 mg/kg BID	20	58,8	22	57,9
>50 mg/kg BID	0	0,0	0	0,0
<100 mg/kg SID	3	8,8	4	10,5
100 mg/kg SID	8	23,5	12	31,6
>100 mg/kg SID	0	0,0	0	0,0

Legenda: BID - Duas vezes ao dia; SID - Uma vez ao dia

Miltefosina

Em ambos os grupos, apenas 2 cães (4,4%) foram tratados com miltefosina. As posologias efetuadas no GrupoX foram: 2 mg/kg SID, durante 4 dias e 1 mg/kg BID, durante 28 dias. No GrupoC, em nenhum dos cães estava disponível informação suficiente que permitisse averiguar toda a posologia efetuada.

4.2 GrupoX – Xantínúria

4.2.1 Caracterização temporal do diagnóstico de xantínúria e método de diagnóstico

O surgimento de xantínúria verificou-se entre 4 a 2190 dias após o início do tratamento com alopurinol. O diagnóstico de xantínúria dos cães do GrupoX foi realizado com maior frequência nos meses de outubro, 17,8% (8/45), fevereiro, 13,3% (6/45) e janeiro, 11,1% (5/45) (Gráfico 14). Foi obtido através da visualização de cristais de xantina na urinálise em 80% (36/45) dos casos e nos restantes 20% (9/45) através da realização de ecografia abdominal. A ecografia abdominal permitiu identificar a presença de litíase urinária, sendo posteriormente realizada a análise de urina tipo II, com visualização dos cristais de xantina.

Na urina tipo II realizada aquando do diagnóstico de xantínúria, nos casos onde a informação se encontrava disponível, verificou-se que o valor do pH urinário se encontrava

dentro do intervalo de referência ($5,5 \leq \text{pH} \leq 7,5$) em 71,0% (22/31) dos casos (Tabela 12), sendo ≥ 7 em 67, 7% (21/31) dos cães (Gráfico 15). A densidade urinária encontrava-se ≥ 1.035 em 62,2% (23/37) dos cães e nenhum cão (0,0%) apresentou hipostenúria (Tabela 12). A presença de proteinúria foi identificada em 57,5,3% (23/40) dos cães (Tabela 12).

Gráfico 14. Distribuição temporal dos meses de diagnóstico de xantinúria dos cães do GrupoX.

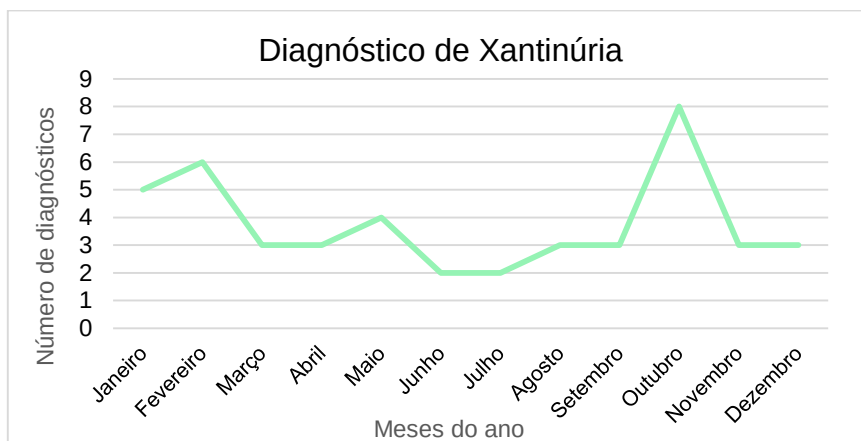
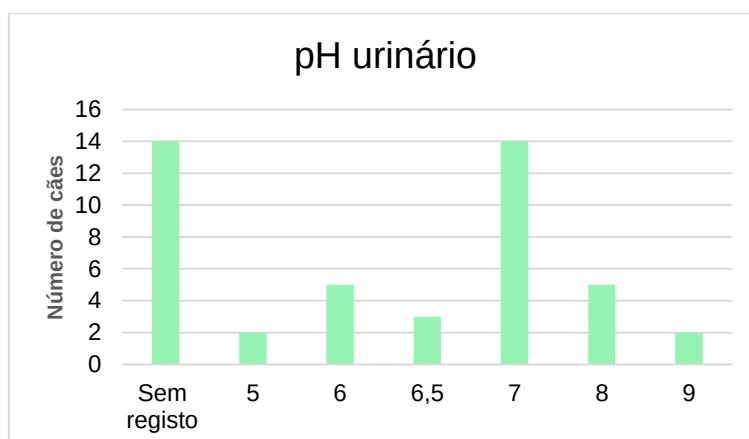


Tabela 12. Caracterização dos valores dos vários parâmetros da urinálise realizada aquando do diagnóstico de xantinúria dos cães do GrupoX.

Urina tipo II Xantinúria	GrupoX	
	Frequência relativa	%
pH		
Aumentado ($\text{pH} > 7,5$)	7/31	22,6
Normal ($5,5 \leq \text{pH} \leq 7,5$)	22/31	71,0
Diminuído ($\text{pH} \leq 5,5$)	2/31	6,5
Densidade urinária		
Hiperestenúria	11/37	29,7
Normal	12/37	32,4
Inapropriadamente concentrada	13/37	35,1
Isostenúria	1/37	2,7
Hipostenúria	0/37	0,0
Proteinúria	23/40	57,5
Hematúria	6/40	15,0
Piúria	4/40	10,0
Cristalúria*	6/40	15,0
Lipúria	0/40	0,0

Legenda: *cristalúria exceto cristais de xantina. Densidade urinária: Hiperestenúria - $\text{DU} \geq 1.050$; Normal - $1.035 \leq \text{DU} < 1.050$; Inapropriadamente concentrada - $1.012 < \text{DU} < 1.035$; Isostenúria - $1.007 < \text{DU} \leq 1.012$; Hipostenúria - $\text{DU} \leq 1.007$

Gráfico 15. Valores do pH urinário obtidos na análise de urina tipo II realizada aquando do diagnóstico de xantinúria dos cães do GrupoX.



4.3 Correlação entre os vários fatores avaliados

No presente estudo foi avaliada a possível presença de uma associação entre os vários parâmetros estudados, de forma a averiguar a existência de fatores de risco para o desenvolvimento de xantinúria. Todas as variáveis quantitativas apresentavam distribuição não normal, sendo portanto utilizado um teste não paramétrico (Teste de Wilcoxon) para averiguar uma possível associação entre as mesmas. Verificou-se que a idade ($p=0.001805$) e a duração do tratamento com alopurinol ($p=0.004812$) foram estatisticamente significativas ($p<0,05$). Os resultados obtidos estão sumarizados na tabela 13.

Tabela 13. Caracterização das variáveis quantitativas (mediana, intervalo interquartis e valor de p)

	GrupoX	GrupoC	Valor de p
Idade	4 ± 5	6 ± 5	p-value = 0.001805
Condição corporal	$5 \pm 1,5$	$4 \pm 1,5$	p-value = 0.4664
Peso	$22,5 \pm 18,9$	$20 \pm 17,2$	p-value = 0.5343
Duração do tratamento com alopurinol	150 ± 362	284 ± 245	p-value = 0.004812
Duração do tratamento com antimoniato de meglumina	28 ± 2	28 ± 0	p-value = 0.1382
Urina tipo II – pH (numérico)	$7 \pm 1,5$	$6,5 \pm 1$	p-value = 0.1319

Legenda: Idade em anos; peso em kg; duração do tratamento com alopurinol e antimoniato de meglumina em dias;

Entre grupos, de todas as variáveis qualitativas avaliadas, apenas a diminuição das globulinas alfa-1 ($p=0.02028$) foi estatisticamente significativa, tendo o GrupoC significativamente mais cães com diminuição das globulinas alfa-1 no proteinograma realizado aquando do diagnóstico de LCan (Anexos 1, 2, 3 e 4).

5. Discussão

Este estudo averiguou a existência de fatores de risco para o desenvolvimento de xantínúria em cães com LCan e permitiu caracterizar as duas populações caninas, ambas com LCan e tratamento com alopurinol, uma com e outra sem desenvolvimento de xantínúria.

5.1 Distribuição temporal do diagnóstico de LCan

Os cães incluídos neste estudo eram seguidos em Hospitais Veterinários localizados em Portugal e Espanha, ambos países mediterrânicos, com clima temperado e onde a LCan é uma doença endémica (Morales-Yuste et al. 2022). Nos países de clima tropical a atividade do vetor está presente durante todo o ano (Morales-Yuste et al. 2022), enquanto na bacia mediterrânica, a mesma segue um padrão tendencialmente sazonal, sendo mais evidente entre a primavera e o outono (Alten et al. 2016; Müller et al. 2022; Morales-Yuste et al. 2022).

No GrupoX, 57,8% (26/45) dos diagnósticos de LCan foram feitos entre abril e outubro, janela temporal correspondente à maior atividade do vetor, nos países de clima temperado (Alten et al. 2016; Morales-Yuste et al. 2022). No GrupoC essa percentagem foi de 42,8% (18/42), sendo a quantidade de diagnósticos na altura de suposta inatividade do vetor (novembro a março) superior, 57,1% (24/42). Isto pode ser explicado pelas alterações climáticas, que têm conduzido a um aumento global da temperatura, com invernos mais amenos, aumentando o número de meses onde o vetor apresenta atividade (Ready 2010; Dumitrache et al. 2016; Morales-Yuste et al. 2022). Por outro lado, pelo facto de a LCan poder ter um período de incubação bastante variável, onde as lesões e sinais clínicos se manifestam entre meses até anos após a infeção (Solano-Gallego et al. 2016), possibilita que a infeção ocorra, de facto, durante a época de maior atividade do vetor, mas que os sinais clínicos surjam algum tempo depois, coincidindo com épocas de ausência/menor atividade do flebótomo (Müller et al. 2022).

5.2 Sexo, raça, estatuto reprodutivo e idade

No nosso estudo, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas relativamente ao sexo e raça. De facto, tanto o desenvolvimento de cálculos de xantina como a presença de LCan estão mais frequentemente documentadas em cães de raça (Osborne et al. 2009; Belo et al. 2013; Rombolà et al. 2021; Tamponi et al. 2021; Breu et al. 2021; Kopecny et al. 2021; Edo et al. 2021; Müller et al. 2022) e do sexo masculino (Osborne et al. 2009; Osborne et al. 2010; Belo et al. 2013; Rombolà et al. 2021; Tamponi et al. 2021; Breu et al. 2021; Kopecny et al. 2021; Burggraaf et al. 2021; Edo et al. 2021; Müller et al. 2022). O número de machos e fêmeas foi igual entre grupos, havendo um predomínio do sexo masculino, tal como descrito em estudos prévios (Marques 2008; Torres et al. 2016;

Pereira et al. 2020). Alguns autores, contudo, não relatam diferenças entre a prevalência da infecção por *L.infantum* no sexo masculino e feminino em zonas endêmicas (Gálvez et al. 2020; Symeonidou et al. 2021). Em ambos os grupos, a presença de cães de raça pura foi superior aos de raça indeterminada, tal como verificado noutros estudos (Marques 2008; Torres et al. 2016; Edo et al. 2021; Müller et al. 2022), sendo as raças mais frequentes o Boxer, Labrador Retriever e Pastor Alemão. Estes resultados estão de acordo com o descrito sobre a maior suscetibilidade para o desenvolvimento de LCan de algumas raças devido ao seu património genético (França-Silva et al. 2003; Sanchez-Robert et al. 2005; Sanchez-Robert et al. 2008).

O estatuto reprodutivo também não foi estatisticamente significativo. No nosso estudo, a percentagem de animais inteiros e esterilizados foi semelhante, entre grupos. Contudo, embora a percentagem de fêmeas esterilizadas, face às inteiras, tenha sido superior, nos machos tal não se verificou, havendo maior percentagem de machos inteiros em ambos os grupos. Relativamente à relação entre a prevalência de LCan e o estatuto reprodutivo, Curi et al. (2014) descrevem que esta foi estatisticamente superior nos cães esterilizados (tendência para ficarem mais parados, daí mais facilmente serem picados), apesar de existirem outros estudos onde a prevalência de cães inteiros, embora não avaliada em termos estatísticos, tenha sido superior (Torres et al. 2016). A presença de urólitos de xantina está mais frequentemente descrita em ambos os sexos nos animais esterilizados (Osborne et al. 2009; Osborne et al. 2010; Breu et al. 2021; Kopečný et al. 2021; Burggraaf et al. 2021). Contudo, a conhecimento da autora, o estudo realizado por Torres et al. (2016), foi o único onde foi efetuada uma breve caracterização dos 13% de cães (42/320) que após o diagnóstico de LCan e início do tratamento efetivamente desenvolveram xantinúria (e não urólitos de xantina), sendo que o número de machos inteiros com xantinúria também foi superior ao dos orquiectomizados.

No presente estudo, a idade foi significativamente diferente entre grupos, sendo os cães do GrupoX mais jovens comparativamente aos do GrupoC. Relativamente à idade, no caso da LCan, estão descritos múltiplos cenários, como já mencionado. Neste estudo, o padrão encontrado no GrupoX (maior prevalência de LCan na faixa etária 1 a 3 anos) aproxima-se do descrito por Gálvez et al. (2020), onde a presença de LCan foi significativamente maior em cães jovens (<1 ano de idade). O padrão da distribuição de idades no GrupoC (maior prevalência de LCan nas faixas etárias 4 a 6 anos e 7 a 9 anos) assemelha-se ao relatado por Velez et al. (2019), que descrevem uma distribuição bimodal, onde se verificaram dois picos, o primeiro entre os 3 e 4 anos e o segundo entre os 7 e 8 anos. A presença de cálculos de xantina foi mais frequentemente documentada em cães com idades compreendidas entre 4 e 7 anos e 10 e 15 anos (Osborne et al. 2009; Osborne et al. 2010; Breu et al. 2021; Kopečný et al. 2021). No estudo realizado por Torres et al.

(2016), está presente a mediana de idades dos 42 cães com LCan, tratados com alopurinol e que desenvolveram xantinúria, aquando do diagnóstico de LCan, mas não dos 278 cães com LCan, tratamento com alopurinol, que não desenvolveram xantinúria. Assim, a conhecimento da autora, não existe nenhum estudo prévio que compare as idades de cães com xantinúria e sem xantinúria, ambos com LCan, aquando do diagnóstico de LCan.

A enzima XO encontra-se presente em vários órgãos e tecidos, apresentando maior atividade e expressão a nível hepático e intestinal. É responsável por várias funções no organismo, entre as quais participar no metabolismo das purinas, que se desenrola essencialmente a nível hepático, onde catalisa a transformação da hipoxantina em xantina, e desta em ácido úrico (Kelley and Weiner 1978). De acordo com a literatura disponível, vários estudos apontam para um aumento da atividade desta enzima com a idade, a nível de vários tecidos (Vida et al. 2011a, 2011b; Battelli et al. 2020). Vida et al. (2011b) analisaram a atividade e expressão da enzima XO a nível hepático, renal, no timo e plasma de ratos com diferentes idades (28, 52, 72 e 122 semanas). De acordo com os resultados obtidos, ambos estes parâmetros aumentaram com a idade. O maior aumento verificou-se nos ratos de 72 semanas (idosos). Levinson e Chalker (1980) avaliaram, entre outros fatores, a atividade da XO e a excreção de ácido úrico em ratos de ambos os sexos imaturos, adultos, e castrados. Nesse mesmo estudo, verificou-se uma correlação entre a atividade da XO e a formação de ácido úrico (nos ratos onde a atividade da XO era maior, havia uma maior excreção de ácido úrico). O facto de o GrupoX apresentar cães mais jovens pode dever-se à possível existência de menor atividade e expressão da enzima XO, a nível hepático, nos cães de idades menores. A hipótese formulada seria que num cão jovem (menor quantidade da enzima e com menor atividade) seria expectável haver uma inibição em maior extensão do metabolismo das purinas a nível dos passos catabolizados pela XO (conversão da hipoxantina em xantina e desta em ácido úrico), para a mesma dose de alopurinol, do que num cão adulto (maior quantidade de XO, com maior atividade). Esta inibição culminaria numa maior excreção urinária de xantina e hipoxantina, facilitando assim o desenvolvimento de xantinúria nestes cães jovens. Contudo, que se saiba, a avaliação da atividade e expressão da XO a nível hepático, em animais de várias idades não foi avaliada em cães, sendo os estudos disponíveis realizados em ratos. Deste modo, serão necessários mais estudos para avaliar o quão plausível é esta teoria e justificar os dados obtidos no presente estudo.

5.3 Condição corporal, peso e dieta

No nosso estudo, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas relativamente ao peso, condição corporal, alteração da dieta aquando do diagnóstico de LCan e realização de dieta com baixo teor de purinas.

A presença de má condição corporal está frequentemente descrita nos cães com LCan, aquando do diagnóstico (Koutinas AF and Koutinas CK 2014; Silvestrini 2019; Tamponi et al. 2021; Salant et al. 2021; Morales-Yuste et al. 2022). No estudo realizado por Curi et al. (2014) verificou-se uma correlação negativa entre o peso e a condição corporal e o risco de infeção por *L.infantum*, devido a uma maior debilidade do sistema imunitário dos cães com má condição corporal. No nosso estudo, pouco mais de um quarto dos cães apresentaram condição corporal abaixo do desejado (1-3) em cada grupo. Contudo, estas baixas percentagens podem dever-se a uma amostra pequena. De facto, os valores da condição corporal apenas estavam disponíveis em 51,1% e 42,2% dos cães do GrupoX e do GrupoC, respetivamente.

No nosso estudo, aquando do diagnóstico de LCan, a dieta foi mudada em menos de um quarto (23,7%) e 15,6% (7/45) dos cães do GrupoX e do GrupoC, respetivamente. Desses, apenas uma pequena percentagem (GrupoX - 13,5%; GrupoC - 4,5%) mudou para uma dieta com restrição de purinas. Jesus (2021) avaliou as respostas da comunidade veterinária portuguesa e espanhola, relativamente a vários parâmetros relacionados com a terapêutica com alopurinol (protocolo efetuado, efeitos secundários decorrentes, surgimento de xantinúria e medidas de prevenção da mesma, durante o tratamento, entre outros) em cães com LCan. Apenas 28,4% dos inquiridos consideraram mudar o regime alimentar do animal para uma dieta com baixo teor de purinas, o que vai de encontro às baixas percentagens obtidas no presente estudo.

Apesar de a mudança para uma dieta com baixo teor de purinas ter sido efetuada numa pequena percentagem dos cães do GrupoX, todos eles (100,0%) desenvolveram xantinúria. Isto pode dever-se ao facto de os dados recolhidos para efetuar a análise estatística deste estudo se basearem em fichas médicas contruídas com informações facilmente validadas, como os valores obtidos nas análises laboratoriais anexadas, mas também a partir dos relatos efetuados pelos tutores. Assim, e tratando-se de um estudo retrospectivo, não foi possível confirmar a efetiva realização de uma dieta com baixo teor de purinas, até ao surgimento de xantinúria, nos cães onde nas fichas clínicas estava presente a recomendação e venda da mesma.

5.4 Serologia e Estadiamento Clínico segundo o grupo LeishVet

No presente estudo, nem o título de anticorpos obtidos na serologia nem o estadiamento clínico foram estatisticamente significativos. Em ambos os grupos, o título de anticorpos equivalente a positivo muito alto foi o mais prevalente. Recorrendo ao sistema de estadiamento clínico, tratamento e prognóstico criado pelo grupo LeishVet para efetuar a classificação da LCan nos vários estádios, o estádio II foi o mais frequente (GrupoX - 75% (33/44); GrupoC - 83,7% (36/43)), o que vai de encontro ao descrito por Edo et al. (2021).

5.5 Pressão arterial sistémica

No nosso estudo, os valores da pressão arterial sistémica aquando do diagnóstico de LCan apenas se encontravam disponíveis em menos de um terço dos cães de ambos os grupos. Estas baixas percentagens vão de encontro ao descrito por Pereira et al. (2022), onde menos de 22% dos médicos veterinários portugueses inquiridos referiu medir sempre ou frequentemente a pressão arterial sistémica dos cães diagnosticados com LCan. Estima-se que a hipertensão arterial sistémica esteja presente em 28,8% dos cães com LCan (Braga et al. 2015) e em 61,5% dos cães com glomerulonefrite secundária à presença de LCan (Cortadellas et al. 2006). A sua existência verificou-se logo nos estádios iniciais da doença, mesmo na ausência de azotémia (Cortadellas et al. 2006). Na LCan, a hipertensão sistémica contribui para a piora do quadro clínico, devido aos efeitos produzidos em vários órgãos, nomeadamente a nível renal (indução/exacerbação de proteinúria, progressão da doença renal), ocular, cardíaco e cerebral (Acierno et al. 2018; Roura et al. 2021). Assim, a medição da pressão arterial sistémica deve ser feita em todos os cães com LCan (Roura et al. 2021), de modo a permitir a instituição de um plano terapêutico adequado precocemente, que vise prevenir/minimizar os efeitos deletérios associados à presença de hipertensão (Braga et al. 2015; Pereira et al. 2022).

5.6 Sinais clínicos

A presença de sinais clínicos, aquando do diagnóstico de LCan, verificou-se no GrupoX em 93,3%(42/45) dos cães e no GrupoC em 95,6% (43/45), o que vai de encontro ao descrito por (Pereira et al. 2020) (presença de sinais clínicos compatíveis com LCan em 96% dos cães incluídos no estudo). Contudo, outros trabalhos realizados em áreas endémicas, tal como Portugal e Espanha, descrevem uma prevalência muito menor de sinais clínicos nos cães seropositivos (Tamponi et al. 2021; Almeida et al. 2022). Em ambos os grupos, os sinais clínicos inespecíficos e cutâneos foram os mais predominantes, tal como descrito na literatura (Marques 2008; Bourdeau et al. 2014; Koutinas AF and Koutinas CK 2014; Solano-Gallego et al. 2016; Miró and López-Vélez 2018; Pereira et al. 2020; Mhadhbi et al. 2021; Morales-Yuste et al. 2022).

5.7 Alterações analíticas – Hemograma, análises bioquímicas e proteinograma

Relativamente ao hemograma, nenhum dos parâmetros avaliados foi estatisticamente significativo, entre grupos. A presença de anemia e trombocitopénia foram as alterações analíticas mais frequentemente encontradas no hemograma, em ambos os grupos, o que vai de encontro ao registado noutros estudos (Pereira et al. 2020; Idrissi et al. 2021). De facto, tanto a presença de anemia, geralmente normocítica normocrómica, como

de trombocitopénia são as alterações mais frequentemente encontradas no hemograma de cães com LCan (Nicolato et al. 2013; Koutinas AF and Koutinas CK 2014; Paltrinieri et al. 2016; Solano-Gallego et al. 2016; Ribeiro et al. 2018; Miró and López-Vélez 2018). Na gênese da anemia estão envolvidos vários fatores, como a diminuição da síntese de eritrócitos pela medula óssea devido à aplasia/hipoplasia medular causada pela invasão da mesma pelo parasita, diminuição dos níveis plasmáticos de ferro, tipicamente associado a doenças crônicas, que prejudica a síntese de eritrócitos normais, aumento da hemólise no baço e fígado, devido à resposta inflamatória causada pela doença, deficiência na síntese de eritropoetina, devido aos danos a nível renal, causados pela LCan (Nicolato et al. 2013; Paltrinieri et al. 2016; Ribeiro et al. 2018). A trombocitopénia ocorre essencialmente devido a uma menor produção de plaquetas pela medula óssea e destruição imunomediada, causada pela formação de anticorpos antiplaquetários (Cortese et al. 2011; Paltrinieri et al. 2016).

A nível das análises bioquímicas também nenhum dos parâmetros avaliados foi estatisticamente significativo. Em ambos os grupos, as alterações mais prevalentes foram hipoalbuminémia, hiperproteinémia e hiperglobulinémia, achados analíticos tipicamente encontrados em cães com LCan (Marques 2008; Paltrinieri et al. 2016; Ribeiro et al. 2018).

Relativamente ao proteinograma, a diminuição da concentração das globulinas alfa-1 foi estatisticamente significativa entre grupos, apresentando os cães do GrupoC mais frequentemente uma diminuição na concentração destas globulinas, face aos cães do GrupoX. A presença de hipergamaglobulinémia foi a alteração mais frequente em ambos os grupos (GrupoX - 43,3%; GrupoC - 47,2%), tal como descrito na literatura (Paltrinieri et al. 2016; Ribeiro et al. 2018).

A resposta de fase aguda é um mecanismo de defesa precoce, não específico, que faz parte da imunidade inata do animal, potenciado na presença de infeções (como a LCan). Esta resposta vai originar vários efeitos a nível sistémico, como a diminuição dos níveis séricos de ferro e alterações da concentração das proteínas plasmáticas (proteínas de fase aguda). As citocinas pró-inflamatórias libertadas durante esta resposta estimulam a síntese de proteínas de fase aguda positiva (ferritina, haptoglobina, proteína C reativa, amiloide sérica A, entre outras) e diminuem a de proteínas de fase aguda negativa (albumina, transferrina) (Ceron et al. 2005; Geisweid et al. 2012; Paltrinieri et al. 2016). Estas alterações, em conjunto com a anorexia/hiporexia apresentada por alguns animais, diminuição da produção de albumina, devido a lesão hepática causada pela LCan e perda através da urina, devido a dano renal, culminam no desenvolvimento de hipoalbuminémia, fator de mau prognóstico, aquando do diagnóstico de LCan (Geisweid et al. 2012; Ribeiro et al. 2018). A hipergamaglobulinémia, frequentemente observada, resulta da grande quantidade de anticorpos circulantes, imunocomplexos e outras moléculas semelhantes às gamaglobulinas, produzidos durante a ativação dos linfócitos B, devido à presença do

parasita (Paltrinieri et al. 2016; Ribeiro et al. 2018). As alfa-1 e alfa-2 globulinas compreendem um conjunto de moléculas, essencialmente proteínas de fase aguda positiva, que devido à resposta de fase aguda originada pela infecção por *L.infantum* vão aumentar a sua concentração (Paltrinieri et al. 2016). O aumento conjunto das alfa, beta e principalmente gamaglobulinas originam hiperglobulinémia (Ribeiro et al. 2018). Apesar de a concentração de albumina se apresentar frequentemente diminuída, o grande aumento das gamaglobulinas, com consequente hiperglobulinémia culmina no aumento das proteínas totais (hiperproteinémia) (Ribeiro et al. 2018).

Na prática clínica, o proteinograma é frequentemente utilizado como ferramenta auxiliar de diagnóstico, permitindo a identificação da presença de inflamação e de alterações a nível das frações proteicas do soro, que ocorrem tipicamente em certas doenças, como a LCan, peritonite infecciosa felina ou erliquiose (Tothova et al. 2016). O proteinograma é composto por várias frações: albumina, globulinas alfa-1, globulinas alfa-2, betaglobulinas e gamaglobulinas (Cerón et al. 2010; Tothova et al. 2016). Nos cães com LCan, embora possa estar normal (Martínez-Subiela et al. 2002b; Martínez-Subiela and Ceron 2005), as alterações mais comumente encontradas a nível deste exame complementar para além da hipoalbuminémia e hiperproteinémia são o aumento das alfa, beta e gamaglobulinas e diminuição do rácio albumina/globulina (da Silva et al. 2011; Paltrinieri et al. 2016; Solano-Gallego et al. 2016; Carreira et al. 2017; Ribeiro et al. 2018). A fração das globulinas alfa-1 do proteinograma é composta por várias proteínas, nomeadamente a alfa-1 antitripsina (90% desta fração) e alfa-1 glicoproteína ácida, também designada por orosomucóide (Cerón et al. 2010). Como já referido, todas são proteínas de fase aguda positiva (Cerón et al. 2010; Paltrinieri et al. 2016). A diminuição das globulinas alfa-1 ocorre geralmente na presença de doença hepática, com diminuição da síntese de globulinas, deficiência de alfa-1 antitripsina, perda de proteína na urina, devido a dano renal, má nutrição, hemólise e lipémia (Martínez-Subiela et al. 2002a; Tothova et al. 2016; Kraševac and Tašner 2019). O seu aumento verifica-se na presença de reação inflamatória aguda (Tothova et al. 2016; Kraševac and Tašner 2019). Embora seja mais frequente a presença de hipoalbuminémia, hiperproteinémia, aumento das alfa, beta e gamaglobulinas e diminuição do rácio albumina/globulina no proteinograma de cães com LCan (da Silva et al. 2011; Paltrinieri et al. 2016; Solano-Gallego et al. 2016; Carreira et al. 2017; Ribeiro et al. 2018), a variação dos valores destes parâmetros é inconsistente, podendo os mesmos encontrar-se aumentados, diminuídos ou sem alterações. Assim, existem estudos em cães com LCan que demonstram um aumento das frações alfa (Monteiro 2014; Paltrinieri et al. 2016; Solano-Gallego et al. 2016; Carreira et al. 2017; Ribeiro et al. 2018), mas outros onde não se verificam aumentos nestas frações (Marques 2008; da Silva et al. 2011; Monteiro 2014), ou onde as alfa-1 estão abaixo dos valores de referência (da Silva et al. 2011; de Jong et al. 2023).

Neste estudo, verificou-se que os cães do GrupoC apresentavam mais frequentemente uma diminuição da concentração das globulinas alfa-1, face aos do GrupoX. Várias hipóteses podem ter conduzido a este resultado. A primeira prende-se com o facto de esta alteração se poder tratar apenas de um achado incidental, sem significância em termos clínicos, tal como observado noutros trabalhos (da Silva et al. 2011; de Jong et al. 2023). Em segundo lugar, o resultado obtido pode ser um falso positivo, ou seja, apesar de ter sido estatisticamente significativo, na realidade não o ser (erro tipo I). Para um nível de significância igual a 0,05 há 5% de probabilidade de se cometer um erro tipo I (Maroco 2007). Por último, a terceira hipótese está ligada a uma eventual alteração da farmacocinética do alopurinol.

Após atingirem a corrente sanguínea, os fármacos circulam pelo compartimento vascular de forma livre, ligados a proteínas ou a células sanguíneas. As principais proteínas de transporte são a albumina, orosomucóide e as lipoproteínas (Costa et al. 2021; Luo et al. 2015; MSD 2022), sendo que apenas a fração de fármaco não ligado pode exercer a sua ação (MSD 2022). A orosomucóide apresenta apenas um local de ligação ao fármaco e uma concentração plasmática muito menor que a da albumina. Assim, para as substâncias que têm maior afinidade de ligação a esta proteína, a sua fração livre vai ser fortemente alterada caso haja uma variação na concentração da orosomucóide (Costa et al. 2021; Luo et al. 2015). Segundo estudos efetuados em humanos, tanto o alopurinol como o seu metabolito ativo se ligam pouco às proteínas plasmáticas (Breithaupt and Tittel 1982; Dean et al. 1974; Elion et al. 1976). Contudo, no GrupoC, verificou-se mais frequentemente uma diminuição da concentração das globulinas alfa-1, fração à qual pertence a proteína orosomucóide, comparativamente ao GrupoX. Assim, a hipótese sugerida seria que no GrupoX, onde esta fração demonstrou estar maioritariamente dentro dos valores de referência (e portanto também a concentração da orosomucóide), caso o alopurinol tivesse afinidade de ligação a esta proteína, iria haver uma maior fração de fármaco ligado, face ao GrupoC, não podendo esta ser filtrada e eliminada por via renal, prolongando assim a ação deste fármaco, favorecendo a inibição da enzima XO e o desenvolvimento de xantinúria. A fim de apoiar/refutar esta hipótese serão necessários mais estudos que avaliem a farmacocinética do alopurinol no que concerne à sua potencial ligação a esta proteína e efeitos causados na concentração plasmática deste fármaco, mediante a variação da concentração da orosomucóide.

5.8 Análise de urina tipo II e RPCU

Na análise de urina tipo II, nenhuma das alterações avaliadas foi estatisticamente significativa, entre grupos. Aquando do diagnóstico de LCan, verificou-se que na maioria dos cães de ambos os grupos o valor do pH urinário estava dentro do intervalo de referência

($5,5 \leq \text{pH} \leq 7,5$) e a densidade urinária se encontrava ≥ 1.035 em 65,5% e 60,0% dos cães do GrupoX e do GrupoC, respetivamente. A presença de isostenúria e hipostenúria ocorreu em 31% e 40% dos cães do GrupoX e do GrupoC, respetivamente. Nos cães com LCan com lesão renal, a densidade urinária tende a ser menor, devido à perda da capacidade de concentração da urina (Paltrinieri et al. 2016). Contudo, se o animal estiver desidratado ou se a sua função renal não for afetada, a densidade urinária pode estar normal a aumentada. A presença de proteinúria foi a alteração mais frequentemente encontrada na análise do sedimento urinário, verificando-se em 79,3% e 73,3% dos cães do GrupoX e do GrupoC, respetivamente, o que vai de encontro ao descrito por outros autores (Marques 2008; Paltrinieri et al. 2016; Ribeiro et al. 2018; Roura et al. 2021). A realização da análise de urina tipo II revela-se uma etapa da investigação diagnóstica essencial em cães com LCan, sendo a diminuição da densidade urinária e presença de proteinúria sugestivas de uma possível doença renal consequente (Roura et al. 2021). Para além disso, a urinálise permite ainda averiguar a presença de hematuria, piúria e bacteriúria, achados analíticos que poderão ser indicativos (juntamente com outras alterações) da existência concomitante de uma possível cistite bacteriana (Paltrinieri et al. 2016). O comprometimento da função renal ocorre frequentemente nos cães com LCan (Koutinas AF and Koutinas CK 2014; Roura et al. 2021). Como já mencionado, a produção de anticorpos nesta doença conduz ao desenvolvimento de imunocomplexos, que se podem depositar em vários órgãos, nomeadamente a nível renal, potenciando o desenvolvimento de glomerulonefrite, cuja progressão pode culminar em insuficiência renal (Silvestrini 2019; Roura et al. 2021; Morales-Yuste et al. 2022). A presença de glomerulonefrite com eventual hipertensão sistémica concomitante leva ao surgimento de proteinúria e progressão da doença renal (Lees et al. 2005; Braga et al. 2015). De facto, a existência de proteinúria, aquando do diagnóstico de LCan é um fator de mau prognóstico, associada a menor tempo de sobrevivência (Lees et al. 2005; Geisweid et al. 2012; Acierno et al. 2018; Pereira et al. 2020; Roura et al. 2021). A presença de proteinúria deve então ser avaliada em todos os cães com doença que predisponha para a sua ocorrência, como a LCan (Lees et al. 2005; Roura et al. 2021).

Os valores obtidos no RPCU não foram estatisticamente significativos entre grupos. Ainda assim, a presença de proteinúria significativa ($\text{RPCU} > 0,5$) foi a alteração mais frequentemente encontrada em ambos os grupos. Estes resultados sugerem que a presença de proteinúria, aquando do diagnóstico de LCan, não aparenta ter relação com o desenvolvimento de xantínúria.

5.9 Tratamento

Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre grupos relativamente à utilização ou não de um imunomodulador, como parte da abordagem terapêutica à LCan, nem sobre qual foi utilizado. Em ambos os grupos, alguns animais receberam imunomoduladores sendo que a domperidona foi a opção mais escolhida. Tal vai de encontro ao descrito por Pereira et al. (2022). A utilização de fármacos imunomoduladores como a domperidona e o suplemento à base de nucleótidos e AHCC com o objetivo de melhorar a imunidade dos animais com LCan a longo prazo, ajudando a controlar os sinais clínicos, parece ser promissora (Roatt et al. 2014; Segarra et al. 2017). Embora a eficácia do suplemento à base de nucleótidos e AHCC tenha sido similar à do alopurinol no estudo realizado por Segarra et al. (2017), a utilização deste imunomodulador ocorreu em apenas 26,7% dos cães do GrupoX e em nenhum (0,0%) dos cães do GrupoC. Uma baixa percentagem na escolha deste imunomodulador, como opção na abordagem terapêutica à LCan, também foi obtida no estudo realizado por Pereira et al. (2022). Um fator que poderá contribuir para a menor escolha deste suplemento face à domperidona, pelos Médicos Veterinários, é o facto de o primeiro ser comercializado apenas desde 2017 e o segundo desde 2012, havendo mais informações e estudos realizados sobre este último.

Relativamente à dose e frequência de administração do alopurinol e do antimoníato de meglumina também não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre grupos. O tratamento mais utilizado e considerado mais eficaz na LCan consiste na combinação do antimoníato de meglumina com o alopurinol (Manna et al. 2015; Olías-Molero et al. 2021). Todos os cães (100,0%) de ambos os grupos foram tratados com alopurinol, sendo esse um dos critérios de inclusão no estudo. Adicionalmente, 80% e 84,4% dos cães do GrupoX e do GrupoC, respetivamente, receberam concomitantemente antimoníato de meglumina. O grupo LeishVet recomenda a utilização do alopurinol na dose de 10 mg/kg duas vezes ao dia e do antimoníato de meglumina 100 mg/kg uma vez ao dia ou dividido em duas doses (50 mg/kg BID) (LeishVet 2022). Relativamente ao alopurinol 81,4% e 86,7% dos cães do GrupoX e do GrupoC, respetivamente, receberam a posologia recomendada (10 mg/kg BID). Para o antimoníato de meglumina em 82,3% e 89,5% dos cães do GrupoX e do GrupoC, respetivamente, verificou-se o cumprimento das indicações do grupo LeishVet.

A duração do tratamento com alopurinol foi estatisticamente significativa entre grupos ($p=0.004812$). Esta diferença pode ser explicada pelos critérios de inclusão utilizados no GrupoC. Não se podia garantir que os cães do GrupoC não desenvolvessem xantínúria durante algum período da sua vida, enquanto estivessem a ser tratados com alopurinol. Contudo, para tentar minimizar essa probabilidade, só foram incluídos para o GrupoC cães com LCan tratados com alopurinol durante um período mínimo de cinco meses, valor

correspondente à mediana (150 dias) do tratamento com alopurinol e surgimento de xantinúria do GrupoX, e com ausência de registo de xantinúria na ficha clínica e exames complementares realizados pelo animal, durante todo o período de acompanhamento do caso.

O mecanismo que conduz ao desenvolvimento de xantinúria associado à utilização do alopurinol depende de vários fatores, nomeadamente da dose utilizada (doses mais altas de alopurinol favorecem o desenvolvimento de xantinúria (Bartges et al. 1999; Osborne et al. 2009)), da quantidade de purinas de origem alimentar e de origem endógena obtidas pelo animal, da taxa de degradação das mesmas e da função hepática do animal (Osborne et al. 2009). Como já mencionado, a mudança para uma dieta com restrição de purinas aquando do diagnóstico de LCan ocorreu em 13,5% e 4,5% dos cães do GrupoX e do GrupoC, respetivamente, não sendo estes valores estatisticamente significativos. No entanto, devido ao caráter retrospectivo do estudo e escassa informação sobre o regime alimentar efetivamente realizado por cada animal, não foi possível averiguar se alguma das dietas realizadas poderia ou não ser rica em purinas. No nosso estudo, também não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre as várias doses administradas aos cães de cada grupo. Para além disso, 81,4% dos cães que desenvolveram xantinúria (GrupoX) seguiu a dose recomendada de 10 mg/Kg BID (LeishVet 2022). O grupo LeishVet recomenda a utilização do alopurinol durante um período de 6 a 12 meses (LeishVet 2022). Neste estudo, 25,0% e 37,8% cães do GrupoX e do GrupoC, respetivamente, tomaram alopurinol durante mais de 365 dias, também não sendo estes valores estatisticamente significativos. Assim, apesar de a amostra ser pequena, no nosso estudo, a posologia de alopurinol efetuada nos vários cães de ambos os grupos não pareceu influenciar o desenvolvimento de xantinúria.

5.10 GrupoX - Xantinúria

Neste trabalho, o surgimento de xantinúria verificou-se entre 4 a 2190 dias após o início do tratamento com alopurinol. Torres et al. (2016) documentaram o aparecimento de xantinúria, mineralização renal e/ou urolitíase entre 3 semanas a 9 anos (21 a 3285 dias) após o início do tratamento com alopurinol. Torres et al. (2011) descrevem o surgimento de cálculos de xantina após mais de 24 meses de terapia com alopurinol. Contudo, embora fosse referido que o acompanhamento dos cães incluídos no estudo (exame do estado geral e exames complementares, incluindo urinálise) ocorreu 1, 3 e 6 meses após o diagnóstico de LCan e a partir daí a cada 6 meses, pouca informação está disponível sobre os resultados obtidos nesses exames. Adicionalmente, não há informação sobre a presença de xantinúria nas análises de urina efetuadas, estando apenas descrito o desenvolvimento de urólitos de xantina em 3 cães. Segarra et al. (2017) relatam o surgimento de xantinúria no

grupo de cães com LCan que recebeu alopurinol 30 a 180 dias após o início do tratamento. No entanto, este trabalho durou apenas 180 dias e a avaliação clínica e exames complementares (incluindo urinálise) só foram realizados no dia em que os animais entraram no estudo (dia 0) e após 30 e 180 dias de tratamento. No presente trabalho, o cão que desenvolveu xantinúria 4 dias após o início do tratamento com alopurinol era um macho inteiro, com 3 anos de idade, da raça Pastor Búlgaro. Sendo um estudo de natureza retrospectiva não foi possível avaliar a presença de outros fatores que concorressem para o desenvolvimento de xantinúria, previamente ao tratamento com alopurinol, como alteração da função hepática. De igual modo, não foi possível neste caso realizar análises de urina tipo II previamente ao diagnóstico de LCan, para averiguar a eventual presença de xantinúria (xantinúria hereditária). A conhecimento da autora, não está descrita nenhuma predisposição desta raça para o desenvolvimento de cristais e/ou urólitos de xantina. Contudo, a literatura disponível sobre as doenças para as quais o Pastor Búlgaro está mais predisposto é escassa, logo uma origem genética subjacente não pode ser descurada. Ainda assim, a dose de alopurinol recebida por este animal foi a recomendada pelo grupo LeishVet (10 mg/kg BID) (LeishVet 2022), pelo que a autora não encontra uma justificação plausível para um surgimento tão precoce de xantinúria neste cão. Adicionalmente, dois cães pertencentes ao GrupoX eram de raças onde se suspeita que a xantinúria hereditária possa ocorrer (Kucera et al. 1997; van Zuilen et al. 1997; Flegel et al. 1998; Jacinto et al. 2013). No cão da raça Teckel o surgimento de xantinúria verificou-se 120 dias após o início do tratamento com alopurinol, enquanto no cão da raça Cavalier King Charles Spaniel este evento ocorreu após 225 dias de terapêutica com alopurinol. Assim, nestes cães, não se pode descurar também a possível co-existência das duas formas de xantinúria, primária e iatrogénica (Torres et al. 2016).

Segundo a classificação climática de Köppen-Geiger Portugal e Espanha têm ambos um clima essencialmente temperado, caracterizado por verões quentes e secos e invernos suaves (0 a 18°C) (IPMA 1971-2000; Giorgi and Lionello 2008). Nos países do Hemisfério Norte, como Portugal e Espanha, as estações do ano correspondentes ao outono e inverno, onde se verificam as temperaturas menores, estendem-se desde finais de setembro até finais de março. A conhecimento da autora, não existe nenhum estudo que correlacione a distribuição do diagnóstico de xantinúria, em cães, com os vários meses do ano. Neste trabalho, verificou-se que o diagnóstico de xantinúria foi realizado com maior frequência na altura do outono e inverno, nos meses de outubro, 17,8%, fevereiro, 13,3% e janeiro, 11,1%. Uma possível justificação para esta maior ocorrência pode ser o facto de, em alguns cães, a quantidade de água ingerida por dia se correlacionar positivamente com a temperatura ambiental (Rashotte et al. 1984), havendo uma menor ingestão da mesma quando a temperatura ambiental é menor. Como previamente mencionado, a diminuição do consumo

de água contribui para o aumento da densidade urinária e acumulação de compostos (Osborne et al. 2010), como a xantina, favorecendo a supersaturação da urina, posterior precipitação e formação de cristais. (Bartges and Kirk 2009; Osborne et al. 2010).

A presença de cristais de xantina foi observada tanto em valores de pH urinário inferiores como superiores a 7 (pH<7 em 32,3% e pH≥7 em 67,7%), o que está de acordo com a relativa insolubilidade da xantina descrita na literatura, independentemente do pH urinário (Kelley and Weiner 1978; Flegel et al. 1998; Simmonds 2003; Osborne et al. 2009; Osborne et al. 2010).

6. Limitações do estudo

Este trabalho constitui um estudo caso-controlo, multicêntrico, retrospectivo que apresenta algumas limitações. No que concerne aos dados recolhidos para realizar o tratamento estatístico, a maior limitação prende-se com a indisponibilidade pontual de várias informações necessárias para preencher os parâmetros avaliados neste estudo relativamente à anamnese, exame do estado geral, exames complementares realizados e tratamentos instituídos. O facto de as análises laboratoriais não serem todas realizadas pelos mesmos laboratórios e sendo um estudo multicêntrico dificulta a uniformização dos resultados, uma vez que os vários laboratórios apresentam intervalos de referência que podem variar entre si. Relativamente à escolha do GrupoC, apesar de três dos critérios de inclusão serem “Tratamento com alopurinol, após o diagnóstico de LCan, durante no mínimo cinco meses”, “Ausência de historial prévio de desenvolvimento de xantinúria” e “Ausência de desenvolvimento de xantinúria durante o acompanhamento clínico do animal” não se pode garantir que os cães incluídos no GrupoC, após o período de acompanhamento realizado neste estudo, não desenvolvessem xantinúria em algum momento, durante o tratamento com alopurinol.

7. Conclusão e perspetivas futuras

Este estudo foi efetuado para tentar descobrir fatores de predisposição para o desenvolvimento de xantinúria e principais características de dois grupos de cães com diagnóstico de LCan, tratamento com alopurinol, com e sem desenvolvimento posterior de xantinúria. Nem todos os cães com LCan sob tratamento com alopurinol desenvolvem xantinúria, sendo que o mecanismo pelo qual este fármaco origina a mesma já está previamente estudado e descrito noutros trabalhos. Contudo, existe pouca informação que correlacione o desenvolvimento de xantinúria em cães com esta doença com outras alterações e as características gerais desses canídeos, havendo mais trabalhos com enfoque em cães com urólitos de xantina.

Tendo em conta os resultados obtidos, os cães com diagnóstico de LCan numa idade mais jovem e que não apresentem diminuição da concentração das globulinas alfa-1 no proteinograma realizado aquando do diagnóstico desta doença aparentam estar mais predispostos para o desenvolvimento de xantinúria, após tratamento com alopurinol. Assim, talvez seja importante proceder a uma monitorização mais atenta (urinálise e ecografias abdominais frequentes) destes cães, de modo a averiguar o possível desenvolvimento de xantinúria precocemente e permitir a instituição de medidas que diminuam a probabilidade de desenvolvimento da mesma.

Futuramente, recomenda-se a realização de um estudo semelhante com uma amostra maior, com animais seguidos no mesmo hospital, que apresentem todas ou quase todas as informações necessárias disponíveis e tratamento com alopurinol nos cães do grupo controlo durante um período mínimo superior ao efetuado no nosso estudo, para tentar mitigar a possibilidade do desenvolvimento de xantinúria, nesses cães.

8. Referências bibliográficas

- Aït-Oudhia K, Gazanion E, Sereno D, Oury B, Dedet JP, Pratlong F, Lachaud L. 2012. In vitro susceptibility to antimonials and amphotericin B of *Leishmania infantum* strains isolated from dogs in a region lacking drug selection pressure. *Vet. Parasitol.* [Internet]. [acedido em 2022 Out 30]; 187(3-4):386-93. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.01.034.
- Alexandre-Pires G, Santos M, Rodrigues MA, Pereira MA, Gomes J, Diaz SA, Gomes L, Basso A, Reisinho A, Gomes J, Leal R, Correia J, Bolas A, Meireles J, Santos-Gomes G, Pereira-da-Fonseca I. 2020. Leishmaniosis: new insights in a changing world. *Adv. Anim. Health Med. Prod.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 1]; 301–320. doi:10.1007/978-3-030-61981-7.
- Almeida M, Maia C, Cristóvão JM, Morgado C, Barbosa I, Ibars RF, Campino L, Gonçalves L, Cortes S. 2022. Seroprevalence and risk factors associated with *Leishmania* infection in dogs from Portugal. *Microorganisms.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 17]; 10(11):2262. doi: 10.3390/microorganisms10112262.
- Alten B, Maia C, Afonso MO, Campino L, Jiménez M, González E, Molina R, Bañuls AL, Prudhomme J, Vergnes B, Toty C, Cassan C, Rahola N, Thierry M, Sereno D, Bongiorno G, Bianchi R, Khoury C, Tsirigotakis N, Dokianakis E, Antoniou M, Christodoulou V, Mazeris A, Karakus M, Ozbel Y, Arserim SK, Erisoz Kasap O, Gunay F, Oguz G, Kaynas S, Tsertsvadze N, Tskhvaradze L, Giorgobiani E, Gramiccia M, Volf P, Gradoni L. 2016. Seasonal dynamics of phlebotomine sand fly species proven vectors of mediterranean leishmaniasis caused by *Leishmania infantum*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 4]; 10(2):e0004458. doi: 10.1371/journal.pntd.0004458.
- Acierno MJ, Brown S, Coleman AE, Jepson RE, Papich M, Stepien RL, Syme HM. 2018. ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J. Vet Intern. Med.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 12]; 32(6):1803-1822. doi: 10.1111/jvim.15331.
- Attipa C, Solano-Gallego L, Papasouliotis K, Soutter F, Morris D, Helps C, Carver S, Tasker S. 2018. Association between canine leishmaniosis and *Ehrlichia canis* co-infection: a prospective case-control study. *Parasites Vectors.* [Internet]. [acedido em 2022 Set 22]; 11(1):184. doi: 10.1186/s13071-018-2717-8.
- Bartges JW, Osborne CA, Lulich JP, Kruger JM, Sanderson SL, Koehler LA, Ulrich LK. 1999. Canine urate urolithiasis. Etiopathogenesis, diagnosis, and management. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 10]; 29(1):161-91, xii-xiii. doi: 10.1016/s0195-5616(99)50010-7.
- Bartges JW, Kirk CA. 2009. Interpreting and managing crystalluria. In: Bonagura JD, Twedt DC, editors. *Kirk's Current Veterinary Therapy XIV*. 14th ed. Missouri: Saunders Elsevier; p. 850–854.
- Bartges JW, Callens AJ. 2015. Urolithiasis. *Vet. Clin. Small Anim.* [Internet]. [acedido em 2023 Fev 2]; 45(4):747-768. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.cvs.2015.03.001.
- Battelli MG, Bortolotti M, Bolognesi A, Polito L. 2020. Pro-aging effects of xanthine oxidoreductase products. *Antioxid.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 8]; 9(9):839. doi: 10.3390/antiox9090839.

- Baxarias M, Homedes J, Mateu C, Attipa C, Solano-Gallego L. 2022. Use of preventive measures and serological screening tools for *Leishmania infantum* infection in dogs from Europe. *Parasites Vectors*. [Internet]. [acedido em 2022 Set 20]; 15(1):134. doi: 10.1186/s13071-022-05251-5.
- Belo VS, Struchiner CJ, Werneck GL, Barbosa DS, de Oliveira RB, Neto RG, da Silva ES. 2013. A systematic review and meta-analysis of the factors associated with *Leishmania infantum* infection in dogs in Brazil. *Vet. Parasitol.* [Internet]. [acedido em 2022 Out 9]; 195(1-2):1-13. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.03.010.
- Bianciardi P, Brovida C, Valente M, Aresu L, Cavicchioli L, Vischer C, Giroud L, Castagnaro M. 2009. Administration of miltefosine and meglumine antimoniate in healthy dogs: clinicopathological evaluation of the impact on the kidneys. *Toxicol. Pathol.* [Internet]. [acedido 2022 Nov 11]; 37(6):770-5. doi: 10.1177/0192623309344088.
- Bongiorno G, Meyer L, Evans A, Lekouch N, Doherty P, Chiummo R, Gradoni L. 2022. Insecticidal efficacy against *Phlebotomus perniciosus* in dogs treated orally with fluralaner in two different parallel-group, negative-control, random and masked trials. *Parasites Vectors*. [Internet]. [acedido em 2022 Set 20]; 15(1):18. doi: 10.1186/s13071-021-05128-z.
- Bourdeau P, Saridomichelakis MN, Oliveira A, Oliva G, Kotnik T, Gálvez R, Foglia Manzillo V, Koutinas AF, Pereira da Fonseca I, Miró G. 2014. Management of canine leishmaniosis in endemic SW European regions: a questionnaire-based multinational survey. *Parasit. Vectors*. [Internet]. [acedido em 2023 Mai 12]; 7:110. doi: 10.1186/1756-3305-7-110.
- Braga ET, Leite JH, Rosa FA, Tivelli P, Araújo AM, de Almeida BF, Ferrari HF, Ciarlini PC, Machado GF, Marcondes M. 2015. Hypertension and its correlation with renal lesions in dogs with leishmaniosis. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 18]; 24(1):45-51. doi: 10.1590/S1984-29612015007.
- Breithaupt B, Tittel M. 1982. Kinetics of allopurinol after single intravenous and oral doses. Noninteraction with benzbromarone and hydrochlorothiazide. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* [Internet]. [acedido em 2023 Jul 23]; 22(1):77-84. doi: 10.1007/BF00606429.
- Breu D, Stieger N, Müller E. 2021. Auftreten von Harnsteinen – alters-, rasse- und geschlechtsspezifische Unterschiede bei Hunden aus Deutschland [Occurrence of uroliths - age-, breed-, and gender-specific differences in dogs from Germany]. *Tierärztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*. [Internet]. [acedido em 2022 Dez 22]; 49(1):6-12. German. doi: 10.1055/a-1334-0733.
- Burggraaf ND, Westgeest DB, Corbee RJ. 2021. Analysis of 7866 feline and canine uroliths submitted between 2014 and 2020 in the Netherlands. *Res. Vet. Sci.* [Internet]. [acedido em 2022 Fev 15]; 137:86-93. doi: https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.04.026.
- Cardoso L, Schallig H, Persichetti MF, Pennisi MG. 2021. New epidemiological aspects of animal leishmaniosis in Europe: the role of vertebrate hosts other than dogs. *Pathogens*. [Internet]. [acedido em 2021 Nov 21]; 10(3):307. doi: 10.3390/pathogens10030307.
- Carreira LM, Monteiro P, Azevedo P. 2017. Total Proteins, β - and γ -globulins as efficacy therapy response indicators in dogs infected with *Leishmania infantum* – a review. *J. Vet. Healthc.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 2]; 1(2):1-11. doi: 10.14302/issn.2575-1212.jvhc-17-1764.

- Castelli G, Bruno F, Reale S, Catanzaro S, Valenza V, Vitale F. 2021. Molecular diagnosis of Leishmaniasis: quantification of parasite load by a Real-Time PCR assay with high sensitivity. *Pathog.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 3]; 10(7):865. doi: 10.3390/pathogens10070865.
- Cavalera MA, Gernone F, Uva A, D'Ippolito P, Roura X, Paltrinieri S, Zatelli A. 2021. Effect of domperidone (leisguard®) on antibody titers, inflammatory markers and creatinine in dogs with leishmaniosis and chronic kidney disease. *Parasites Vectors.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 3]; 14(1):525. doi: 10.1186/s13071-021-05030-8.
- Cerón JJ, Eckersall PD, Martýnez-Subiela S. 2005. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet. Clin. Pathol.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 18]; 34(2):85-99. doi: 10.1111/j.1939-165x.2005.tb00019.x.
- Cerón JJ, Caldin M, Martinez-Subiela S. 2010. Electrophoresis and acute phase protein measurement. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, editors. *Schalm's veterinary hematology*. 6th ed. Iowa: Blackwell Publishing; p. 1157-1161.
- Chagas ÚMR, de Avelar DM, Marcelino AP, Paz GF, Gontijo CMF. 2021. Correlations between tissue parasite load and common clinical signs in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet. Parasitol.* [Intenet]. [acedido em 2022 Fev 15]; 291:109368. doi: 10.1016/j.vetpar.2021.109368.
- Chavez-Rueda K, Hernández J, Zenteno E, Leños-Miranda A, Legorreta-Haquet MV, Blanco-Favela F. 2005. Identification of prolactin as a novel immunomodulator on the expression of co-stimulatory molecules and cytokine secretions on T and B human lymphocytes. *Clin. Immunol.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 7]; 116(2):182-91. doi: 10.1016/j.clim.2005.03.013.
- Cortadellas O, del Palacio MJ, Bayón A, Albert A, Talavera J. 2006. Systemic hypertension in dogs with leishmaniasis: prevalence and clinical consequences. *J. Vet. Intern. Med.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 12]; 20(4):941-7. doi: 10.1892/0891-6640(2006)20[941:shidwl]2.0.co;2.
- Cortese L, Terrazzano G, Piantedosi D, Sica M, Prisco M, Ruggiero G, Ciaramella P. 2011. Prevalence of anti-platelet antibodies in dogs naturally co-infected by *Leishmania infantum* and *Ehrlichia canis*. *Vet J.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 12]; 188(1):118-21. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.03.015.
- Costa AP, Court MH, Villarino NF, Burke NS, Mealey KL. 2021. Canine orosomucoid (alpha-1 acid glycoprotein) variants and their influence on drug plasma protein binding. *J. Vet Pharmacol Ther.* [Internet]. [acedido em 2023 Jul 24]; 44(1):116-125. doi: 10.1111/jvp.12899.
- Cotrina JF, Iniesta V, Monroy I, Baz V, Hugnet C, Marañón F, Fabra M, Gómez-Nieto LC, Alonso C. 2018. A large-scale field randomized trial demonstrates safety and efficacy of the vaccine LetiFend® against canine leishmaniosis. *Vaccine.* [Internet]. [acedido em 2022 Fev 15]; 36(15):1972-1982. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.02.111.
- Coutinho MT, Bueno LL, Sterzik A, Fujiwara RT, Botelho JR, De Maria M, Genaro O, Linardi PM. 2005. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Vet. Parasitol.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 1]; 128(1-2):149-55. doi: 10.1016/j.vetpar.2004.11.011.
- Curi NH, Paschoal AM, Massara RL, Marcelino AP, Ribeiro AA, Passamani M, Demétrio GR, Chiarello AG. 2014. Factors associated with the seroprevalence

- of leishmaniasis in dogs living around Atlantic Forest fragments. PLoS One. [Internet]. [acedido em 2022 Set 22]; 9(8):e104003. doi: 10.1371/journal.pone.0104003.
- da Silva ADF, Lima MCJS, Soto-Blanco B. 2011. Perfil hematológico e eletroforético de proteínas séricas em cães soropositivos para leishmaniose visceral no estado do rio grande do norte. Acta Vet. Brasilica. [Internet]. [acedido em 2023 Mai 22]; 5(3):300-305. doi: <https://doi.org/10.21708/avb.2011.5.3.2551>
- da Silva SM, Ribeiro VM, Ribeiro RR, Tafuri WL, Melo MN, Michalick MS. 2009. First report of vertical transmission of Leishmania (Leishmania) infantum in a naturally infected bitch from Brazil. Vet. Parasitol. [Internet]. [acedido em 2021 Nov 1]; 166(1-2):159-62. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.08.011.
- Dean BM, Perrett D, Simmonds HA, Grahame R. 1974. Thiopurinol: comparative enzyme inhibition and protein binding studies with allopurinol, oxipurinol and 6-mercaptopurine. Br. J. Clin. Pharmacol. [Internet]. [acedido em 2023 Jun 18]; 1(2):119-27. doi: 10.1111/j.1365-2125.1974.tb00220.x.
- de Jong MK, Rappoldt A, Broere F, Piek CJ. 2023. Survival time and prognostic factors in canine leishmaniosis in a non-endemic country treated with a two-phase protocol including initial allopurinol monotherapy. Parasit. Vectors. [Internet]. [acedido em 2023 Jun 1]; 16(1):163. doi: 10.1186/s13071-023-05777-2.
- de Vasconcelos TCB, Furtado MC, Belo VS, Morgado FN, Figueiredo FB. 2017. Canine susceptibility to visceral leishmaniasis: a systematic review upon genetic aspects, considering breed factors and immunological concepts. Infect. Genet. Evol. [Internet]. [acedido em 2022 Fev 21]; 74:103293. doi: 10.1016/j.meegid.2017.10.005.
- Dumitrache MO, Nachum-Biala Y, Gilad M, Mircean V, Cazan CD, Mihalca AD, Baneth G. 2016. The quest for canine leishmaniasis in Romania: the presence of an autochthonous focus with subclinical infections in an area where disease occurred. Parasites Vectors [Internet]. [acedido em 2021 Nov 1]; 9(1):297. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1583-5>.
- Duprey ZH, Steurer FJ, Rooney JA, Kirchhoff LV, Jackson JE, Rowton ED, Schantz PM. 2006. Canine visceral leishmaniasis, United States and Canada, 2000-2003. Emerg. Infect. Dis. [Internet]. [acedido em 2021 Nov 1]; 12(3):440-6. doi: 10.3201/eid1203.050811.
- Edo M, Marín-García PJ, Llobat L. 2021. Is the prevalence of Leishmania infantum linked to breeds in dogs? Characterization of seropositive dogs in Ibiza. Anim. [Internet]. [acedido 2021 Nov 3]; 11(9):2579. doi: 10.3390/ani11092579.
- Elion GB, Kovensky A, Hitchings GH. 1966. Metabolic studies of allopurinol, an inhibitor of xanthine oxidase. Biochem. Pharmacol. [Internet]. [acedido em 2023 Jul 23]; 15(7):863-80. doi: 10.1016/0006-2952(66)90163-8.
- Flegel T, Freistadt R, Haider W. 1998. Xanthine urolithiasis in a dachshund. Vet. Rec. [Internet]. [acedido em 2021 Nov 9]; 143(15):420-3. doi: 10.1136/vr.143.15.420.
- França-Silva JC, da Costa RT, Siqueira AM, Machado-Coelho GL, da Costa CA, Mayrink W, Vieira EP, Costa JS, Genaro O, Nascimento E. 2003. Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. Vet. Parasitol. [Internet]. [acedido em 2022 Fev 21]; 111(2-3):161-73. doi: 10.1016/s0304-4017(02)00351-5.

- Francino O, Altet L, Sánchez-Robert E, Rodriguez A, Solano-Gallego L, Alberola J, Ferrer L, Sánchez A, Roura X. 2006. Advantages of real-time PCR assay for diagnosis and monitoring of canine leishmaniosis. *Vet. Parasitol.* [Internet]. [accedido em 2023 Jan 19]; 137(3-4):214-21. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.01.011.
- Fujimori M, de Almeida ADBPF, Barrouin-Melo SM, Cortez LRPB, Duthie MS, Hiramoto RM, de Pinho FA, Reed SG, Sousa VRF, Souza NF, Soares RM, Tolezano JE, Sanchez MCA, Goto H. 2021. Validation of ELISA with recombinant antigens in serological diagnosis of canine *Leishmania infantum* infection. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* [Internet]. [accedido em 2021 Nov 3]; 116:e200428. doi: 10.1590/0074-02760200428.
- Gaglio G, Brianti E, Napoli E, Falsone L, Dantas-Torres F, Tarallo VD, Otranto D, Giannetto S. 2014. Effect of night time-intervals, height of traps and lunar phases on sand fly collection in a highly endemic area for canine leishmaniasis. *Acta Trop.* [Internet]. [accedido em 2022 Out 17]; 133:73-7. doi: 10.1016/j.actatropica.2014.02.008.
- Gálvez R, Montoya A, Fontal F, Martínez De Murguía L, Miró G. 2018. Controlling phlebotomine sand flies to prevent canine *Leishmania infantum* infection: a case of knowing your enemy. *Res. Vet. Sci.* [Internet]. [accedido em 2022 Out 17]; 121:94-103. doi: 10.1016/j.rvsc.2018.10.008.
- Gálvez R, Montoya A, Cruz I, Fernández C, Martín O, Checa R, Chicharro C, Migueláñez S, Marino V, Miró G. 2020. Latest trends in *Leishmania infantum* infection in dogs in Spain, Part I: mapped seroprevalence and sand fly distributions. *Parasites Vectors.* [Internet]. [accedido em 2021 Nov 3]; 13, 204. doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04081-7>
- Geisweid K, Mueller R, Sauter-Louis C, Hartmann K. 2012. Prognostic analytes in dogs with *Leishmania infantum* infection living in a non-endemic area. *Vet. Rec.* [Internet]. [accedido em 2023 Jun 7]; 171(16):399. doi: 10.1136/vr.100637.
- Gharbi M, Mhadhbi M, Rejeb A, Jaouadi K, Rouatbi M, Darghouth MA. 2015. Leishmaniosis (*Leishmania infantum* infection) in dogs. *Rev. Sci. Tech.* [Internet]. [accedido em 2021 Set 12]; 34(2):613-26. doi: 10.20506/rst.34.2.2384.
- Giorgi F, Lionello P. 2008. Climate change projections for the Mediterranean region. *Glob. Planet. Change.* [Internet]. [accedido em 2023 Abr 12]; 63(2-3):90-104. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2007.09.005>.
- Gómez-Ochoa P, Castillo JA, Gascón M, Zarate JJ, Alvarez F, Couto CG. 2009. Use of domperidone in the treatment of canine visceral leishmaniasis: a clinical trial. *Vet. J.* [Internet]. [accedido em 2022 Nov 7]; 179(2):259-63. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.09.014.
- Harrus S, Waner T, Avidar Y, Bogin E, Peh H, Bark H. 1996. Serum protein alterations in canine ehrlichiosis. *Vet. Parasitol.* [Internet]. [accedido em 2023 Mai 28]; 66(3-4):241-9. doi: 10.1016/s0304-4017(96)01013-8.
- Hess JR, Greenberg NA. 2012. The role of nucleotides in the immune and gastrointestinal systems: potential clinical applications. *Nutr. Clin. Pract.* [Internet]. [accedido em 2022 Nov 12]; 27(2):281-94. doi: 10.1177/0884533611434933.
- Hosein S, Blake DP, Solano-Gallego L. 2017. Insights on adaptive and innate immunity in canine leishmaniosis. *Parasitol.* [Internet]. [accedido em 2021 Out 17]; 144(1):95-115. doi: 10.1017/S003118201600055X.

- Idrissi H, Hakkour M, Duchateau L, Zanatta R, Kachani M, Azrib R, Daminet S, Kichou F, El Asatey S, Tazi N, Sahibi H, Khatat SEH. 2021. Canine Leishmaniasis in Morocco: a descriptive prospective clinical study. *Vet. Med. Int.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 18]; 2021:6304127. doi: 10.1155/2021/6304127.
- IPMA: normais climatológicas [IPMA]. 1971-2000. [acedido em 2023 Mai 22]. <https://www.ipma.pt/pt/oclima/normais.clima/?print=true>
- Jacinto AM, Mellanby RJ, Chandler M, Bommer NX, Carruthers H, Fairbanks LD, Gow AG. 2013. Urine concentrations of xanthine, hypoxanthine and uric acid in UK cavalier king charles spaniels. *J. Small Anim. Pract.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 5]; 54(8):395-8. doi: 10.1111/jsap.12106. Epub 2013 Jul 13.
- Jesus LCF. 2021. Xanthinuria secondary to allopurinol therapy in dogs with canine leishmaniosis: current perspectives of the iberian veterinary community [master's thesis]. Lisboa: FMV-Universidade de Lisboa.
- Kaymaz AA, Bakirel U, Gönül R, Vuruşaner C, Tan H. 1999. Serum protein electrophoresis in dogs with intestinal parasites. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 22]; 23(5). doi: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol23/iss5/9>.
- Kelley WN, Weiner IM, editors. 1978. *Handbook of experimental pharmacology*. 1st ed. New York (NY): Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Killick-Kendrick R, Killick-Kendrick M, Focheux C, Dereure J, Puech MP, Cadiergues MC. 1997. Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. *Med. Vet. Entomol.* [Internet]. [acedido em 2022 Out 17]; 11(2):105-11. doi: 10.1111/j.1365-2915.1997.tb00298.x.
- Koehler LA, Osborne CA, Buettner MT, Lulich JP, Behnke R. 2009. Canine uroliths: frequently asked questions and their answers. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 10]; 39(1):161-81. doi: 10.1016/j.cvsm.2008.09.007.
- Kopečný L, Palm CA, Segev G, Westropp JL. 2021. Urolithiasis in dogs: Evaluation of trends in urolith composition and risk factors (2006-2018). *J Vet. Intern. Med.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 10]; 35(3):1406-1415. doi: 10.1111/jvim.16114.
- Koutinas AF, Saridomichelakis MN, Mylonakis ME, Leontides L, Polizopoulou Z, Billinis C, Argyriadis D, Diakou N, Papadopoulos O. 2001. A randomised, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniosis. *Vet. Parasitol.* [Internet]. [acedido em 2023 Abr 6]; 98(4):247-61. doi: 10.1016/s0304-4017(01)00399-5.
- Koutinas AF, Koutinas CK. 2014. Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine leishmaniasis due to *Leishmania infantum/chagasi*. *Vet. Pathol.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 22]; 51(2):527-38. doi: 10.1177/0300985814521248.
- Kraševac MG, Tašner T. 2019. Clinical significance of serum protein electrophoresis. *Slov. Méd. J.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 12]; 88(11-12). doi: 10.6016/ZdravVestn.2899.
- Kucera J, Bulková T, Rychlá R, Jahn P. 1997. Bilateral xanthine nephrolithiasis in a dog. *J. Small Anim. Pract.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 5]; 38(7):302-5. doi: 10.1111/j.1748-5827.1997.tb03471.x.

- Laurenti MD, Rossi CN, da Matta VL, Tomokane TY, Corbett CE, Secundino NF, Pimenta PF, Marcondes M. 2013. Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum* chagasi to the natural vector. *Vet. Parasitol.* [Internet]. [acedido em 2022 Out 9]; 196(3-4):296-300. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.03.017.
- Lee WW, Lee N, Fujii H, Kang I. 2012. Active Hexose Correlated Compound promotes T helper (Th) 17 and 1 cell responses via inducing IL-1 β production from monocytes in humans. *Cell. Immunol.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 12]; 275(1-2):19-23. doi: 10.1016/j.cellimm.2012.04.001.
- Lees GE, Brown SA, Elliott J, Grauer GE, Vaden SL; American College of Veterinary Internal Medicine. 2005. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM forum consensus statement (small animal). *J. Vet. Intern. Med.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 18]; 19(3):377-85. doi: 10.1892/0891-6640(2005)19[377:aamopi]2.0.co;2.
- LeishVet. 2022. Canine and feline leishmaniosis [Internet]. 5th ed. Málaga; [acedido em 2022 Nov 12]. www.leishvet.org.
- Levinson DJ, Chalker D. 1980. Rat hepatic xanthine oxidase activity: age and sex specific differences. *Arthritis Rheum.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 10]; 23(1):77-82. doi: 10.1002/art.1780230113.
- Lulich JP, Osborne CA, Albasan H. 2014. Canine urate urolithiasis. In: Bonagura JD, Twedt DC, editors. *Kirk's Current Veterinary Therapy XV*. 15th ed. Missouri: Saunders Elsevier; p. 901–905.
- Lulich JP, Berent AC, Adams LG, Westropp JL, Bartges JW, Osborne CA. 2016. ACVIM small animal consensus recommendations on the treatment and prevention of uroliths in dogs and cats. *J. Vet Intern. Med.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 9]; 30(5):1564-1574. doi: 10.1111/jvim.14559.
- Luo Z, Lei H, Sun Y, Liu X, Su DF. 2015. Orosomucoid, an acute response protein with multiple modulating activities. *J. Physiol Biochem.* [Internet]. [acedido em 2023 Jul 24]; 71(2):329-40. doi: 10.1007/s13105-015-0389-9.
- Manna L, Reale S, Vitale F, Picillo E, Pavone LM, Gravino AE. 2008. Real-time PCR assay in *Leishmania*-infected dogs treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *Vet. J.* [Internet]. [acedido em 2023 Jan 3]; 177(2):279-82. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.04.013.
- Manna L, Corso R, Galiero G, Cerrone A, Muzj P, Gravino AE. 2015. Long-term follow-up of dogs with leishmaniosis treated with meglumine antimoniate plus allopurinol versus miltefosine plus allopurinol. *Parasit. Vectors.* [Internet]. [acedido em 2022 Fev 22]; 8:289. doi: 10.1186/s13071-015-0896-0.
- Maroco J. 2007. *Análise estatística com utilização do SPSS*. 3ª edição. Lisboa: Edições sílabo.
- Marques MILM. 2008. *Leishmaniose canina* [dissertação de mestrado]. Lisboa: FMV-Universidade Técnica de Lisboa.
- Martínez-Subiela S, Tecles F, Montes A, Gutiérrez C, Cerón JJ. 2002a. Effects of haemolysis, lipaemia, bilirubinaemia and fibrinogen on protein electropherogram of canine samples analysed by capillary zone electrophoresis. *Vet. J.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 20]; 164(3):261-8. doi: 10.1053/tvjl.2001.0672.

- Martínez-Subiela S, Tecles F, Eckersall PD, Cerón JJ. 2002b. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. *Vet. Rec.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 24]; 150(8):241-4. doi: 10.1136/vr.150.8.241.
- Martínez-Subiela S, Cerón JJ. 2005. Evaluation of acute phase protein indexes in dogs with leishmaniasis at diagnosis, during and after short-term treatment. *Vet. Med-Czech.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 24]; 50(1):39-46. doi: 10.17221/5595-VETMED.
- Martori C, Velez R, Gállego M, Mesa I, Ferreira R, Alberola J, Rodríguez-Cortés A. 2021. Vitamin d and leishmaniasis: Neither seasonal nor risk factor in canine host but potential adjuvant treatment through cbd103 expression. *PLoS Negl. Trop. Dis.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 9]; 15(8):e0009681. doi: 10.1371/journal.pntd.0009681.
- Mateo M, Maynard L, Vischer C, Bianciardi P, Miró G. 2009. Comparative study on the short term efficacy and adverse effects of miltefosine and meglumine antimoniate in dogs with natural leishmaniosis. *Parasitol Res.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 11]; 105(1):155-62. doi: 10.1007/s00436-009-1375-3.
- Maurelli MP, Bosco A, Foglia Manzillo V, Vitale F, Giaquinto D, Ciuca L, Molinaro G, Cringoli G, Oliva G, Rinaldi L, Gizzarelli M. 2020. Clinical, molecular and serological diagnosis of canine leishmaniosis: an integrated approach. *Vet. Sci.* [Internet]. [acedido em 2022 Fev 15]; 7(2):43. doi: 10.3390/vetsci7020043.
- McCue J, Langston C, Palma D, Gisselman K. 2009. Urate urolithiasis. *Compend. Contin. Educ. Vet.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 10]; 31(10):468-75; quiz 475. PMID: 20180216.
- Medkour H, Bitam I, Laidoudi Y, Lafri I, Lounas A, Hamidat HK, Mekroud A, Varloud M, Davoust B, Mediannikov O. 2020. Potential of Artesunate in the treatment of visceral leishmaniasis in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: efficacy evidence from a randomized field trial. *PLoS Negl. Trop. Dis.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 9]; 14(12):e0008947. doi: 10.1371/journal.pntd.0008947.
- Meindl AG, Lourenço BN, Coleman AE, Creevy KE. 2019. Relationships among urinary protein-to-creatinine ratio, urine specific gravity, and bacteriuria in canine urine samples. *J. Vet. Intern. Med.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 18]; 33(1):192-199. doi: 10.1111/jvim.15377.
- Mestrinho LA, Gonçalves T, Parreira PB, Niza MM, Hamaide AJ. 2013. Xanthine urolithiasis causing bilateral ureteral obstruction in a 10-month-old cat. *J. Feline Med. Surg.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 29]; 15(10):911-6. doi: 10.1177/1098612X13477413.
- Mhadhbi M, Chaabouni A, Bouabid C, Sassi A. 2021. Relationships between specific antibody responses and clinical signs of dogs living in Tunisian endemic areas of canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum*. *Acta Trop.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 15]; 218:105906. doi: 10.1016/j.actatropica.2021.105906.
- Miró G, Petersen C, Cardoso L, Bourdeau P, Baneth G, Solano-Gallego L, Pennisi MG, Ferrer L, Oliva G. 2017. Novel areas for prevention and control of canine leishmaniosis. *Trends Parasitol.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 3]; 33(9):718-730. doi: 10.1016/j.pt.2017.05.005.
- Miró G, López-Vélez R. 2018. Clinical management of canine leishmaniosis versus human leishmaniasis due to *Leishmania infantum*: putting “One Health”

- principles into practice. *Vet. Parasitol.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 1]; 254:151–159. doi:10.1016/j.vetpar.2018.03.002.
- Monteiro M, Prata S, Cardoso L, Pereira da Fonseca I, Leal RO. 2021. Diagnosis and clinical management of canine leishmaniosis by general veterinary practitioners: a questionnaire-based survey in Portugal. *Parasites Vectors.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 3]; 14(1):306. doi: 10.1186/s13071-021-04799-y.
- Monteiro PM. 2014. Alterações de proteinograma em canídeos com leishmaniose antes e após tratamento [dissertação de mestrado]. Lisboa: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Morales-Yuste M, Martín-Sánchez J, Corpas-Lopez V. 2022. Canine Leishmaniasis: update on epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Vet. Sci.* [Internet]. [acedido em 2022 Set 22]; 9(8):387. doi: 10.3390/vetsci9080387.
- MSD Manual [Internet]. 2022. University of California San Diego: Skaggs School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences; [acedido em 2023 Jul 23]. <https://www.msdmanuals.com/professional/clinical-pharmacology/pharmacokinetics/drug-distribution-to-tissues>.
- Müller KE, Solberg CT, Aoki JI, Floeter-Winter LM, Nerland AH. 2017. Developing a vaccine for leishmaniasis: how biology shapes policy. *Tidsskr. Nor. Laegeforen.* [Internet]. [acedido em 2022 Out 20]; 137(3). doi: 10.4045/tidsskr.17.0620.
- Müller A, Montoya A, Escacena C, de la Cruz M, Junco A, Iriso A, Marino E, Fúster F, Miró G. 2022. *Leishmania infantum* infection serosurveillance in stray dogs inhabiting the Madrid community: 2007-2018. *Parasites Vectors.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 4]; 15(1):96. doi: 10.1186/s13071-022-05226-6.
- Nascimento LFM, Miranda DFH, Moura LD, Pinho FA, Werneck GL, Khouri R, Reed SG, Duthie MS, Barral A, Barral-Netto M, Cruz MSP. 2019. Allopurinol therapy provides long term clinical improvement, but additional immunotherapy is required for sustained parasite clearance, in *L. infantum*-infected dogs. *Vaccine X.* [Internet]. [acedido em 2022 Dez 13]; 4:100048. doi: 10.1016/j.jvaxx.2019.100048.
- Nelson DJ, Bugge CJ, Elion GB, Berens RL, Marr JJ. 1979. Metabolism of pyrazolo(3,4-d)pyrimidines in *Leishmania braziliensis* and *Leishmania donovani*. Allopurinol, oxipurinol, and 4-aminopyrazolo(3,4-d)pyrimidine. *J. Biol. Chem.* [Internet]. [acedido em 2023 Abr 11]; 254(10):3959-64. PMID: 438170.
- Nicolato RC, de Abreu RT, Roatt BM, Aguiar-Soares RD, Reis LE, Carvalho Md, Carneiro CM, Giunchetti RC, Bouillet LE, Lemos DS, Coura-Vital W, Reis AB. 2013. Clinical forms of canine visceral Leishmaniasis in naturally *Leishmania infantum*-infected dogs and related myelogram and hemogram changes. *PLoS One.* [Internet]. [acedido em 2022 Out 17]; 8(12):e82947. doi: 10.1371/journal.pone.0082947.
- Noli C, Saridomichelakis MN. 2014. An update on the diagnosis and treatment of canine leishmaniosis caused by *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*). *Vet. J.* [Internet]. [acedido em 2022 Out 28]; 202(3):425-35. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.09.002.
- Olías-Molero AI, Fontán-Matilla E, Cuquerella M, Alunda JM. 2021. Scientometric analysis of chemotherapy of canine leishmaniasis (2000-2020). *Parasites Vectors.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 3]; 14(1):36. doi: 10.1186/s13071-020-04544-x.

- Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®). 2019. Xanthinuria, type I. [Internet]. <https://www.omim.org/>.
- Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®). 2022. Xanthinuria, type I. [Internet]. <https://www.omim.org/>.
- Osborne CA, Lulich JP, Swanson LL, Albasan H. 2009. Drug-induced urolithiasis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 10]; 39(1):55-63. doi: 10.1016/j.cvsm.2008.09.004.
- Osborne CA, Bartges GW, Lulich JP, Albasan H, Weiss C. 2010. Canine purine urolithiasis: causes, detection, management and prevention. In: Hand MS editors. *Small animal clinical nutrition*. 5th ed. United States (US): Mark Morris Institute; p. 833–853.
- Otranto D, Dantas-Torres F. 2013. The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. *Trends Parasitol.* [Internet]. [acedido em 2022 Out 17]; 29(7):339-45. doi: 10.1016/j.pt.2013.05.003.
- Pacher P, Nivorozhkin A, Szabó C. 2006. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacol. Rev.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 11]; 58(1):87-114. doi: 10.1124/pr.58.1.6.
- Paltrinieri S, Gradoni L, Roura X, Zatelli A, Zini E. 2016. Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. *Vet. Clin. Pathol.* [Internet]. [acedido em 2022 Set 22]; 45(4):552-578. doi: 10.1111/vcp.12413.
- Pennisi MG. 2015. Leishmaniosis of companion animals in Europe: an update. *Vet. Parasitol.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 11]; 208(1-2):35-47. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.12.023.
- Pereira MA, Santos R, Oliveira R, Costa L, Prata A, Gonçalves V, Roquette M, Vala H, Santos-Gomes G. 2020. Prognostic factors and life expectancy in canine Leishmaniosis. *Vet. Sci.* [Internet]. [acedido em 2021 Out 17]; 7(3):128. doi: 10.3390/vetsci7030128.
- Pereira MA, Santos R, Nóbrega C, Mega C, Cruz R, Esteves F, Santos C, Coelho C, Mesquita JR, Vala H, Santos-Gomes G. 2022. A Questionnaire-Based Survey on the Long-Term Management of Canine Leishmaniosis by Veterinary Practitioners. *Anim.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 7]; 12(6):731. doi: 10.3390/ani12060731.
- Proverbio D, Spada E, Bagnagatti de Giorgi G, Perego R, Valena E. 2014. Relationship between leishmania IFAT titer and clinicopathological manifestations (clinical score) in dogs. *Biomed. Res. Int.* [Internet]. [acedido em 2023 Jan 3]; 2014:412808. doi: 10.1155/2014/412808.
- Queau Y. 2018. Nutritional management of urolithiasis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim.* [Internet]. [acedido em 2021 Dez 1]; 49(2):175-186. doi: 10.1016/j.cvsm.2018.10.004.
- Ramos RAN, Giannelli A, Ubirajara-Filho CRC, Ramos CADN, Betbder D, Bezerra-Santos MA, Dantas-Torres F, Alves LC, Otranto D. 2022. Vector-borne pathogens in dogs from areas where leishmaniosis is endemic. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* [Internet]. [acedido em 2022 Jul 30]; 32:100746. doi: 10.1016/j.vprsr.2022.100746.
- Rashotte ME, Smith JC, Austin T, Pollitz C, Castonguay TW, Jonsson L. 1984. Twenty-four-hour free-feeding patterns of dogs eating dry food. *Neurosci. Biobehav.*

- Rev. [Internet]. [acedido em 2023 Mai 18]; 8(2):205-10. doi: 10.1016/0149-7634(84)90042-3.
- Ready PD. 2010. Leishmaniasis emergence in Europe. *Euro Surveill.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 3]; 15(10):19505. PMID: 20403308.
- Ribeiro RR, Michalick MSM, da Silva ME, Dos Santos CCP, Frézard FJG, da Silva SM. 2018. Canine Leishmaniasis: an overview of the current status and strategies for control. *Biomed. Res. Int.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 3]; 2018:3296893. doi: 10.1155/2018/3296893.
- Rivara CM, Johnson CR, Lulich JP, Osborne CA, Murtaugh M. 2013. The effect of disease on the urinary purine metabolite concentrations in dogs. *Vet. Rec.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 9]; 173(9):219. doi: 10.1136/vr.101237.
- Roatt BM, Aguiar-Soares RD, Coura-Vital W, Ker HG, Moreira Nd, Vitoriano-Souza J, Giunchetti RC, Carneiro CM, Reis AB. 2014. Immunotherapy and immunochemotherapy in visceral Leishmaniasis: promising treatments for this neglected disease. *Front. Immunol.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 11]; 5:272. doi: 10.3389/fimmu.2014.00272.
- Rodriguez-Cortes A, Martori C, Martinez-Florez A, Clop A, Amills M, Kubejko J, Llull J, Nadal JM, Alberola J. 2017. Canine Leishmaniasis progression is associated with vitamin D deficiency. *Sci. Rep.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 9]; 7(1):3346. doi: 10.1038/s41598-017-03662-4.
- Rombolà P, Barlozzari G, Carvelli A, Scarpulla M, Iacoponi F, Macrì G. 2021. Seroprevalence and risk factors associated with exposure to *Leishmania infantum* in dogs, in an endemic Mediterranean region. *PLoS One.* [Internet]. [acedido em 2022 Out 9]; 16(1):e0244923. doi: 10.1371/journal.pone.0244923.
- Roura X, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Maroli M, Oliva G, Paltrinieri S, Zatelli A, Zini E. 2013. Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: a working group report. *Vet. J.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 26]; 198(1):43-7. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.04.001.
- Roura X, Cortadellas O, Day MJ, Benali SL, Zatelli A. 2021. Canine leishmaniosis and kidney disease: Q&A for an overall management in clinical practice. *J. Small Anim. Pract.* [Internet]. [acedido em 2022 Fev 15]; 62(1):3. doi: 10.1111/jsap.13249.
- Sabaté D, Llinás J, Homedes J, Sust M, Ferrer L. 2014. A single-centre, open-label, controlled, randomized clinical trial to assess the preventive efficacy of a domperidone-based treatment programme against clinical canine leishmaniasis in a high prevalence area. *Prev. Vet Med.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 7]; 115(1-2):56-63. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.03.010.
- Salant H, Nachum-Biala Y, Feinmesser B, Perelmutter M, Baneth G. 2021. Early onset of clinical leishmaniosis in a litter of pups with evidence of in utero transmission. *Parasites Vectors.* [Internet]. [acedido em 2022 Fev 21]; 14(1):326. doi: 10.1186/s13071-021-04824-0.
- Sanchez-Robert E, Altet L, Sanchez A, Francino O. 2005. Polymorphism of *Slc11a1* (*Nramp1*) gene and canine leishmaniasis in a case-control study. *J. Hered.* [Internet]. [acedido em 2022 Fev 21]; 96(7):755-8. doi: 10.1093/jhered/esi111.
- Sanchez-Robert E, Altet L, Utzet-Sadurni M, Giger U, Sanchez A, Francino O. 2008. *Slc11a1* (formerly *Nramp1*) and susceptibility to canine visceral leishmaniasis.

- Vet. Res. [Internet]. [acedido em 2022 Fev 21]; 39(3):36. doi: 10.1051/vetres:2008013.
- Schaible RH. 1986. Genetic predisposition to purine uroliths in dalmatian dogs. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. [Internet]. [acedido em 2023 Jan 29]; 16(1):127-31. doi: 10.1016/s0195-5616(86)50007-3.
- Segarra S, Miró G, Montoya A, Pardo-Marín L, Boqué N, Ferrer L, Cerón J. 2017. Randomized, allopurinol-controlled trial of the effects of dietary nucleotides and active hexose correlated compound in the treatment of canine leishmaniosis. Vet. Parasitol. [Internet]. [acedido em 2022 Nov 15]; 239:50-56. doi: 10.1016/j.vetpar.2017.04.014.
- Silvestrini P. 2019. Leishmaniosis in dogs and cats. In Pract. [Internet]. [acedido em 2021 Set 12]; 41(1): 5-14. <https://doi.org/10.1136/inp.k5122>.
- Simmonds HA. 2003. Hereditary xanthinuria. Orphanet Encycl. [Internet]. [acedido em 2023 Abr 3]; doi: <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-XDH.pdf>.
- Solano-Gallego L, Morell P, Arboix M, Alberola J, Ferrer L. 2001. Prevalence of Leishmania infantum infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. J. Clin. Microbiol. [Internet]. [acedido em 2022 Fev 25]; 39(2):560-3. doi: 10.1128/JCM.39.2.560-563.2001.
- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. 2009. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. Vet. Parasitol. [Internet]. [acedido em 2023 Abr 14]; 165(1-2):1-18. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.05.022.
- Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. 2011. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. Parasites Vectors [Internet]. [acedido em 2021 Nov 3]; 4(1):1–16. doi:10.1186/1756-3305-4-86.
- Solano-Gallego L, Roura X, Baneth G. 2016. Leishmaniosis. In: Day MJ, editors. Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat. 2nd ed. New York (NY): Taylor & Francis Group; p. 125-140.
- Solano-Gallego L, Cardoso L, Pennisi MG, Petersen C, Bourdeau P, Oliva G, Miró G, Ferrer L, Baneth G. 2017. Diagnostic challenges in the era of canine leishmania infantum vaccines. Trends Parasitol. [Internet]. [acedido em 2022 Fev 25]; 33(9):706-717. doi: 10.1016/j.pt.2017.06.004.
- Stevenson AE, Wrigglesworth DJ, Smith BH, Markwell PJ. 2000. Effects of dietary potassium citrate supplementation on urine pH and urinary relative supersaturation of calcium oxalate and struvite in healthy dogs. Am. J. Vet. Res. [Internet]. [acedido em 2023 Abr 2]; 61(4):430-5. doi: 10.2460/ajvr.2000.61.430.
- Symeonidou I, Angelou A, Theodoridis A, Sioutas G, Papadopoulos E. 2021. Canine Leishmaniosis in Greece: an updated countrywide serological study and associated risk factors. Pathogens. [Internet]. [acedido em 2021 Nov 3]; 10(9):1129. doi: 10.3390/pathogens10091129.
- Tamponi C, Scarpa F, Carta S, Knoll S, Sanna D, Gai C, Pipia AP, Dessì G, Casu M, Varcasia A, Scala A. 2021. Seroprevalence and risk factors associated with Leishmania infantum in dogs in Sardinia (Italy), an endemic island for leishmaniasis. Parasitol. Res. [Internet]. [acedido em 2021 Nov 3]; 120(1):289-300. doi: 10.1007/s00436-020-06973-0.

- Torres M, Bardagí M, Roura X, Zanna G, Ravera I, Ferrer L. 2011. Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniosis (clinical stage II) and treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *Vet. J.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 22]; 188(3):346-51. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.05.025.
- Torres M, Pastor J, Roura X, Tabar MD, Espada Y, Font A, Balasch J, Planellas M. 2016. Adverse urinary effects of allopurinol in dogs with leishmaniasis. *J. Small Anim. Pract.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 12]; 57(6):299-304. doi: 10.1111/jsap.12484.
- Tothova C, Nagy O, Kovac G. 2016. Serum proteins and their diagnostic utility in veterinary medicine: a review. *CAAS Agric. Journals.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 20]; 61(9):475-496. doi: 10.17221/19/2016-VETMED.
- van Zuilen CD, Nickel RF, van Dijk TH, Reijngoud DJ. 1997. Xanthinuria in a family of cavalier king charles spaniels. *Vet. Q.* [Internet]. [acedido em 2021 Nov 5]; 19(4):172-4. doi: 10.1080/01652176.1997.9694766.
- Velez R, Ballart C, Domenech E, Abras A, Fernández-Arévalo A, Gómez SA, Tebar S, Muñoz C, Cairó J, Gállego M. 2019. Seroprevalence of canine *Leishmania infantum* infection in the Mediterranean region and identification of risk factors: the example of North-Eastern and Pyrenean areas of Spain. *Prev. Vet. Med.* [Internet]. [acedido em 2022 Out 9]; 162:67-75. doi: 10.1016/j.prevetmed.2018.10.015.
- Vida C, Corpas I, De la Fuente M, González EM. 2011a. Age-related changes in xanthine oxidase activity and lipid peroxidation, as well as in the correlation between both parameters, in plasma and several organs from female mice. *J. Physiol Biochem.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 8]; 67(4):551-8. doi: 10.1007/s13105-011-0100-8.
- Vida C, Rodríguez-Terés S, Heras V, Corpas I, De la Fuente M, González E. 2011b. The aged-related increase in xanthine oxidase expression and activity in several tissues from mice is not shown in long-lived animals. *Biogerontology.* [Internet]. [acedido em 2023 Mai 10]; 12(6):551-64. doi: 10.1007/s10522-011-9351-6.
- Wakshlag JJ, Barr SC, Ordway GA, Kallfelz FA, Flaherty CE, Christensen BW, Shepard LA, Nydam DV, Davenport GM. 2003. Effect of dietary protein on lean body wasting in dogs: correlation between loss of lean mass and markers of proteasome-dependent proteolysis. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* [Internet]. [acedido em 2021 Dez 1]; 87(11-12):408-20. doi: 10.1046/j.0931-2439.2003.00452.x.
- Woerly V, Maynard L, Sanquer A, Eun HM. 2009. Clinical efficacy and tolerance of miltefosine in the treatment of canine leishmaniosis. *Parasitol. Res.* [Internet]. [acedido em 2022 Nov 11]; 105(2):463-9. doi: 10.1007/s00436-009-1404-2.
- Yasur-Landau D, Jaffe CL, David L, Baneth G. 2016. Allopurinol resistance in *Leishmania infantum* from dogs with disease relapse. *PLoS Negl. Trop. Dis.* [Internet]. [acedido em 2022 Out 30]; 10(1):e0004341. doi: 10.1371/journal.pntd.0004341.

9. Anexos

Anexo 1. Caracterização e valor de p das variáveis qualitativas sexo, raça, estatuto reprodutivo, alteração da dieta e dieta com baixo teor de purinas, serologia, estadiamento LeishVet, RPCU, administração e tipo de imunomodulador.

Variáveis Qualitativas	GrupoX		GrupoC		Valor de p
	Frequência relativa	%	Frequência relativa	%	
Sexo					
Fêmeas	16/45	35,6	16/45	35,6	1
Machos	29/45	64,4	29/45	64,4	
Raça					
Indeterminada	13/45	28,9	14/45	31,1	0.8181
Com raça definida	32/45	71,1	31/45	68,9	
Estatuto reprodutivo					
Fértil	25/45	55,6	26/45	57,8	0.9669
Esterilizado	20/45	44,4	19/45	42,2	
Alteração da dieta					
Sim	9/38	23,7	7/45	15,6	0.3496
Dieta com baixo teor de purinas					
Sim	5/37	13,5	2/44	4,5	0.2371
Serologia					
Duvidoso	3/42	7,1	1/43	2,3	0.2933
Positivo baixo	7/42	16,7	5/43	11,6	
Positivo alto	9/42	21,4	17/43	39,5	
Positivo muito alto	23/42	54,8	20/43	46,5	
Estadiamento					
Estádio I	3/44	6,8	1/43	2,3	0.8521
Estádio IIa	21/44	47,7	24/43	55,8	
Estádio IIb	12/44	27,3	12/43	27,9	
Estádio III	5/44	11,4	4/43	9,3	
Estádio IV	3/44	6,8	2/43	4,7	
RPCU					
<0,2 Proteinúria negativa	13/33	39,4	11/30	36,7	0.9378
0,2 - 0,5 Proteinúria incipiente	4/33	12,1	3/30	10,0	
>0,5 Proteinúria significativa	16/33	48,5	16/30	53,3	
Administração de imunomodulador					
Sim	15/45	33,3	21/45	46,7	0.1967
Se sim, qual					
Impromune	4/15	26,7	0/21	0,0	0.0535
Leisguard	7/15	46,7	13/21	61,9	
Omnifect	4/15	26,7	8/21	38,1	

Anexo 2. Caracterização e valor de p das variáveis qualitativas referentes ao hemograma, análises bioquímicas e ionograma.

Variáveis Qualitativas	GrupoX		GrupoC		Valor de p
	Frequência relativa	%	Frequência relativa	%	
Hemograma					
Anemia	22/41	53,7	21/44	47,7	0.5847
Trombocitopénia	12/41	29,3	11/44	25,0	0.658
Leucocitose	4/41	9,8	6/44	13,6	0.7399
Neutrofilia	2/41	4,9	6/44	13,6	0.2675
Sem alterações	15/29	36,6	9/44	20,5	0.09876
Análises bioquímicas					
Hipoalbuminémia	9/40	22,5	11/44	25,0	0.7882
Hiperproteinémia	8/40	20,0	10/44	22,7	0.7609
↑Ureia	8/40	20,0	5/44	11,4	0.2744
↑Creatinina	7/40	17,5	3/44	6,8	0.1817
↑FAS	1/40	2,5	4/44	9,1	0.3626
↑AST	2/40	5,0	4/44	9,1	0.6781
Hiperglobulinémia	9/40	22,5	6/44	13,6	0.2894
Sem alterações	14/40	35,0	17/44	38,6	0.7301
Ionograma					
Hipocaliémia	3/27	11,1	0/21	0,0	0.246
Hiponatrémia	2/27	7,4	1/21	4,8	1
Hipoclorémia	2/27	7,4	0/21	0,0	0.4973
Sem alterações	19/27	70,4	19/21	90,5	0.1518

Legenda: FAS - Fosfatase alcalina sérica; AST - Aspartato aminotransferase;

Anexo 3. Caracterização e valor de p das variáveis qualitativas referentes à análise de urina tipo II e proteinograma.

Variáveis qualitativas	GrupoX		GrupoC		Valor de p
	Frequência relativa	%	Frequência relativa	%	
Urina tipo II					
pH					
Aumentado (pH>7,5)	5/22	22,7	5/30	16,7	0.7206
Normal (5,5≤pH≤7,5)	16/22	72,7	22/30	73,3	
Diminuído (pH≤5,5)	1/22	4,5	3/30	10,0	
Densidade urinária					
Hiperestenúria	10/29	34,5	6/30	20,0	0.3962
Normal	9/29	31,0	12/30	40,0	
Inapropriadamente concentrada	1/29	3,4	0/30	0,0	
Isostenúria	0/29	0,0	2/30	6,7	0.5895
Hipostenúria	9/29	31,0	10/30	33,3	
Proteinúria	23/29	79,3	22/30	73,3	0.5895
Hematúria	5/29	17,2	2/30	6,7	0.2542
Piúria	4/29	13,8	0/30	0,0	0.0521
Cristalúria*	1/29	3,4	1/30	3,3	1
Lipúria	2/29	6,9	3/30	10,0	1
Proteinograma					
Hipergamaglobulinémia	13/30	43,3	17/36	47,2	0.7521
Hipoalbuminémia	5/30	16,7	11/36	30,6	0.1899
↓Alfa-1	4/30	13,3	14/36	38,9	0.02028
Hiperproteinémia	4/30	13,3	8/36	22,2	0.3512
↓Rel. Alb/Glob	3/30	10,0	9/36	25,0	0.1157
↑Alfa-2	3/30	10,0	11/36	30,6	0.08
Sem alterações	11/30	36,7	6/36	16,7	0.0643

Legenda: *cristalúria exceto cristais de xantina; ↓Rel. Alb/Glob - Diminuição da relação albumina / globulinas; ↓Alfa-1 - Diminuição da concentração das globulinas alfa-1; ↑Alfa-2 – Aumento da concentração das globulinas alfa-2.

Anexo 4. Caracterização e valor de p dos tratamentos com alopurinol e antimoniato de meglumina.

Variáveis Qualitativas	GrupoX		GrupoC		Valor de p
	Frequência relativa	%	Frequência relativa	%	
Tratamento com Alopurinol					
<10 mg/kg BID	4/43	9,3	3/45	6,7	0.5983
10 mg/kg BID	35/43	81,4	39/45	86,7	
10 - 20 mg/kg BID	0/43	0,0	1/45	2,2	
>20 mg/kg BID	2/43	4,7	0/45	0,0	
<10 mg/kg SID	0/43	0,0	0/45	0,0	
10 mg/kg SID	1/43	2,3	1/45	2,2	
10 - 20 mg/kg SID	0/43	0,0	1/45	2,2	
>20 mg/kg SID	1/43	2,3	0/45	0,0	
Tratamento com alopurinol >1ano					
Sim	11/44	25,0	17/45	37,8	0.1943
Tratamento com Antimoniato de Meglumina					
<50 mg/kg BID	3/34	8,8	0/38	0,0	0.364
50 mg/kg BID	20/34	58,8	22/38	57,9	
>50 mg/kg BID	0/34	0,0	0/38	0,0	
<100 mg/kg SID	3/34	8,8	4/38	10,5	
100 mg/kg SID	8/34	23,5	12/38	31,6	
>100 mg/kg SID	0/34	0,0	0/38	0,0	

Legenda: BID – Duas vezes ao dia; SID - Uma vez ao dia

Can we predict xanthinuria in dogs with leishmaniosis undergoing allopurinol treatment? – a retrospective study

Oliveira S¹, Dias MJ^{1,2}, Arenas C³, Prosper E³, Dominguez-Ruiz M⁴, Leal R^{1,2}

¹HEV –Hospital Escolar Veterinário, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477, Lisboa, Portugal

²Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, ULisboa, Lisboa, Portugal

³Anicura Hospital Veterinario Valencia Sur, Avenida de Picassent, 28 - 46460 Silla, Valencia, España

⁴Hospital Clinico Veterinario, Universidad Alfonso X El Sabio, Avenida Universidad, 1, 28691 Villanueva de la Cañada, Madrid, España

Background: Xanthinuria is a common but inconsistent side-effect in dogs with leishmaniosis undergoing allopurinol treatment.

Hypothesis/Objectives: To evaluate potential predisposing factors to the development of xanthinuria in dogs with leishmaniosis treated with allopurinol.

Animals: Ninety dogs with leishmaniosis undergoing allopurinol treatment, recruited from three referral hospitals (one in Portugal and two in Spain) between 2011 and 2022.

Methods: A multicentric, retrospective, case-control study was conducted. Dogs with leishmaniosis that developed xanthinuria (crystals and/or uroliths) undergoing allopurinol treatment were selected and grouped (Xgroup). A control group consisting of dogs with leishmaniosis without xanthinuria after at least five months of allopurinol treatment was concurrently recruited (NXgroup). Medical records were reviewed, and clinical and laboratorial variables were compared between groups. Descriptive and non-parametric tests were used ($p < 0.05$).

Results: Forty-five dogs were included in each group. Groups were homogeneous for gender, weight, and reproductive status. Only age and serum alpha-1 globulins concentration were significantly different between groups. Dogs from Xgroup were younger than those from the NXgroup (median 4 years (range 1-10) versus 6 years (range 1-14), respectively; $p = 0.002$). Before allopurinol onset, a higher percentage of dogs from the NXgroup had decreased serum alpha-1 globulin levels (38.9% versus 13.3% in the Xgroup, respectively; $p = 0.02028$). In Xgroup, median time to xanthinuria development after starting allopurinol was 150 days (range 4-2190).

Conclusions and clinical importance: This study highlights that young-adult age and normal serum alpha-1 globulin levels (before treatment) might be contributing factors for the development of xanthinuria in dogs with leishmaniosis undergoing allopurinol treatment.