

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo desta dissertação será
disponibilizado somente a partir de
16/01/2028.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Faculdade de Medicina Veterinária - Campus de Araçatuba

MAYLA ABBAS GUIMARÃES

**MICRORNAS URINÁRIOS COMO BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL
PRECOCE EM CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL**

Araçatuba
2026



MAYLA ABBAS GUIMARÃES

**MICRORNAS URINÁRIOS COMO BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL
PRECOCE EM CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba, para obtenção do título de Mestra em Ciência Animal. Área de Concentração: Medicina Preventiva e Produção Animal.

Orientadora: Profa. Titular Valéria Marçal Felix de Lima

Araçatuba

2026

G963m Guimarães, Mayla Abbas
MicroRNAs urinários como biomarcadores de lesão renal precoce em cães com leishmaniose visceral / Mayla Abbas Guimarães. --
Araçatuba, 2026
73 f. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba
Orientadora: Valéria Marçal Felix de Lima

1. MicroRNA urinário. 2. Nefropatia. 3. Zoonose. 4.
Biomarcadores. 5. Expressão gênica. I. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE MAYLA ABBAS GUIMARÃES, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL, DA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA - CÂMPUS DE ARAÇATUBA.

Aos 16 de janeiro de 2026, às 14h30min, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de MAYLA ABBAS GUIMARÃES, intitulada "MICRORNAS URINÁRIOS COMO BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL PRECOCE EM CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL". A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Titular VALERIA MARÇAL FELIX DE LIMA (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba / UNESP, Pesquisadora FLÁVIA LOMBARDI LOPES (Participação Presencial) do(a) Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba / UNESP, Profa. Dra. SANDRA REGINA COSTA MARUYAMA (Participação Virtual) do(a) Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Câmpus de Ribeirão Preto / USP, Após a exposição pela mestrande e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovada. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.



Profa. Titular VALERIA MARÇAL FELIX DE LIMA

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, concedido por meio do processo nº 2024/03164-9 vinculado ao processo 2023/04301-7.

As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do(s) autor(es) e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

Gostaria de expressar minha sincera gratidão à equipe do Laboratório de Imunologia, em especial ao Lucas, Gisele e Gabriela, pelo apoio constante ao longo deste trabalho.

Agradeço também aos residentes Juliana e Ricardo, e à professora Luciana, da área de Diagnóstico por Imagem, pela colaboração com os exames ultrassonográficos.

Aos alunos da pós-graduação do Laboratório de Epigenética e à professora responsável Flávia, minha admiração e reconhecimento pelo suporte técnico e científico.

Ao Hospital Veterinário da FMVA e à professora Suely, agradeço pelo auxílio na realização dos exames laboratoriais.

Ao Centro de Controle de Zoonoses de Araçatuba, minha gratidão pela parceria na condução dos estudos com cães diagnosticados com leishmaniose.

Aos meus amigos e familiares, agradeço por todo o carinho e incentivo.

Aos tutores e animais que participaram desse projeto.

E, por fim, à minha orientadora Valéria, minha profunda gratidão pela orientação dedicada e inspiradora.

RESUMO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma zoonose sistêmica causada por *Leishmania infantum*, cujo principal reservatório urbano é o cão. Os cães infectados podem apresentar sinais clínicos inespecíficos e, em casos avançados, evoluir para óbito por doença renal crônica. Este estudo investigou o perfil de microRNAs (miRNAs) urinários como potenciais biomarcadores precoces de lesão renal em cães naturalmente infectados por *L. infantum*. Foram avaliados 15 cães: machos de 1 a 7 anos, cinco controles saudáveis e dez infectados em estágio moderado da doença, segundo o *LeishVet*, sem tratamento prévio. Todos os animais foram submetidos a exames clínicos, laboratoriais, ultrassonografia renal e diagnóstico sorológico e molecular da LVC. Os cães infectados apresentaram sinais clínicos típicos, como onicogribose, linfadenomegalia, caquexia e lesões cutâneas, além de alterações laboratoriais compatíveis com a doença, incluindo hipoalbuminemia e hiperglobulinemia. A ultrassonografia abdominal revelou aumento da ecogenicidade renal e elevação do pico sistólico do rim esquerdo. As vesículas extracelulares urinárias foram isoladas para extração de RNA e sequenciamento de miRNAs (RNA-Seq), seguido de análise bioinformática. Foram identificados 23 miRNAs diferencialmente expressos nos cães doentes, sendo três com expressão fisiológica renal: *miR-486* e *miR-378* (up-regulados) e *let-7f* (down-regulado). Esses miRNAs apresentaram correlação significativa com parâmetros Doppler renais, sugerindo papel na modulação de vias relacionadas à hemodinâmica e integridade glomerular. Adicionalmente, outros miRNAs, como *miR-320*, *miR-126*, *miR-151* e *miR-423*, também se associaram a alterações funcionais e estruturais, refletindo respostas inflamatórias, endoteliais e fibróticas renais. Esses achados indicam que os miRNAs urinários, especialmente o *miR-486*, *miR-378* e *let-7f*, podem atuar como biomarcadores sensíveis e não invasivos de lesão renal inicial em cães com LVC, antecipando alterações detectáveis por métodos convencionais, enquanto o conjunto de miRNAs diferencialmente expressos fornece uma visão integrada da regulação molecular envolvida na progressão da nefropatia. Esses resultados contribuem para o avanço no diagnóstico precoce e na compreensão da fisiopatologia renal associada à LVC.

Palavras-chave: microRNA urinário; nefropatia; zoonose; biomarcadores; expressão gênica.

ABSTRACT

Canine visceral leishmaniasis (CVL) is a systemic zoonosis caused by *Leishmania infantum*, whose main urban reservoir is the dog. Infected dogs may present non-specific clinical signs and, in advanced cases, progress to death due to chronic kidney disease. This study investigated the profile of urinary microRNAs (miRNAs) as potential early biomarkers of kidney injury in dogs naturally infected with *L. infantum*. Fifteen dogs were evaluated: males aged 1 to 7 years, five healthy controls and ten infected dogs in a moderate stage of the disease, according to LeishVet, without prior treatment. All animals underwent clinical, laboratory, and renal ultrasonography examinations, as well as serological and molecular diagnosis of CVL. Infected dogs showed typical clinical signs, such as onychogryphosis, lymphadenomegaly, cachexia, and skin lesions, in addition to compatible laboratory alterations, including hypoalbuminemia and hyperglobulinemia. Abdominal ultrasonography revealed increased renal echogenicity and an elevation of the systolic peak of the left kidney. Urinary extracellular vesicles were isolated for RNA extraction and miRNA sequencing (RNA-Seq), followed by bioinformatic analysis. Twenty-three miRNAs were identified as differentially expressed in the diseased dogs, three of which showed renal physiological expression: miR-486 and miR-378 (up-regulated) and let-7f (down-regulated). These miRNAs showed a significant correlation with renal Doppler parameters, suggesting a role in modulating pathways related to hemodynamics and glomerular integrity. Additionally, other miRNAs, such as miR-320, miR-126, miR-151, and miR-423, were also associated with functional and structural alterations, reflecting inflammatory, endothelial, and fibrotic renal responses. These findings indicate that urinary miRNAs, especially miR-486, miR-378, and let-7f, can serve as sensitive and non-invasive biomarkers of initial kidney injury in dogs with CVL, anticipating alterations detectable by conventional methods, while the set of differentially expressed miRNAs provides an integrated view of the molecular regulation involved in the progression of nephropathy. These results contribute to the advancement in early diagnosis and the understanding of the renal pathophysiology associated with CVL.

Keywords: urinary microRNA; nephropathy; zoonosis; biomarkers; gene expression.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	11
1.1	EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE	11
1.2	LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA.....	12
1.3	DOENÇA RENAL E BIOMARCADORES	14
2	CAPÍTULO 1 - MICRORNAS MIR-486, MIR-378, AND LET-7F ARE POTENTIAL EARLY BIOMARKERS OF KIDNEY INJURY IN DOGS WITH CANINE VISCERAL LEISHMANIASIS	18
2.1	ABSTRACT	19
2.2	INTRODUCTION	20
2.3	MATERIALS AND METHODS	22
2.3.1	<i>Ethical considerations</i>	22
2.3.2	<i>Animal screening</i>	22
2.3.3	<i>Renal ultrasonography</i>	23
2.3.4	<i>Sample collection and storage (blood, conjunctival, and urine)</i>	23
2.3.5	<i>Diagnosis of canine leishmaniasis using the immunochromatographic test and indirect ELISA</i>	24
2.3.6	<i>Determination of Leishmania species in infected dogs</i>	24
2.3.7	<i>Extraction of urinary MiRNAs and sample storage</i>	24
2.3.8	<i>Urinary MiRNA sequencing and bioinformatic analysis</i>	25
2.3.9	<i>Statistical analysis</i>	25
2.4	RESULTS	26
2.4.1	<i>Clinical and laboratory findings</i>	26
2.4.2	<i>Determination of Leishmania species in infected dogs</i>	27
2.4.3	<i>Ultrasonographic renal parameters</i>	28
2.4.4	<i>Differentially expressed miRNAs</i>	28
2.4.5	<i>Association between miRNAs with renal expression and ultrasonography findings</i>	30
2.4.6	<i>Association between miR-378 and let-7f and UPCR</i>	32
2.4.7	<i>Association between MiRNAs with no renal expression and ultrasonographic findings</i>	34
2.4.8	<i>Association between MiRNAs without Renal Expression and UPCR</i>	34
2.5	DISCUSSION	35

2.6	CONCLUSIONS	41
2.7	FUNDING	41
2.8	REFERENCES	42
2.9	SUPPORTING INFORMATION	51
	REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	68
	ANEXO A - NORMAS DA REVISTA PLOS ONE	72

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE

As leishmanioses são causadas por mais de 20 espécies de protozoários do gênero *Leishmania* spp. e transmitidas por mais de 90 espécies de flebotomíneos fêmeas (1). Existem três formas principais de manifestação clínica da doença: leishmaniose visceral (LV), leishmaniose cutânea (LC) e leishmaniose mucocutânea (1).

A LV é uma zoonose de evolução crônica e acometimento sistêmico (2), sendo fatal em cerca de 95% dos casos não tratados. Os principais sinais clínicos no homem incluem perda de peso, febre prolongada, hepatoesplenomegalia e anemia (1,2). Estima-se que ocorram entre 50 e 90 mil novos casos de LV por ano em todo o mundo, concentrados principalmente no Brasil, no Leste da África e na Índia, embora apenas 25% a 45% sejam oficialmente notificados à Organização Mundial da Saúde (OMS) (1). É ocasionada pela *L. donovani* na região da Índia, Bangladesh, Sudão e Sudão do Sul, e pela *L. infantum* na China, sudoeste Europeu e América do Sul (3). No ano de 2023, no Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, a região Nordeste concentrou a maioria dos casos em 2023 (55,62%), seguida das regiões Norte (18,82%), Sudeste (16,61%), Centro-Oeste (7,92%) e Sul (1,02%) (2).

A LC é a forma mais comum da doença e geralmente causa úlceras cutâneas nas áreas expostas do corpo (1). Tem como agente etiológico a *L. tropica*, *L. aethiopica*, *L. major*, *L. infantum*, *L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. guyanensis* (3). Estima-se que ocorram entre 600 mil e 1 milhão de novos casos anuais, sendo aproximadamente 95% nas Américas, na Bacia do Mediterrâneo, no Oriente Médio e na Ásia Central, dos quais apenas 200 mil são notificados à OMS (1).

A leishmaniose mucocutânea, por sua vez, leva à destruição parcial ou total das mucosas do nariz, boca e garganta, e mais de 90% dos casos ocorrem na Bolívia, Brasil, Etiópia e Peru (1). Seu agente etiológico é a *L. braziliensis* e *L. guyanensis* (3).

Dentre os fatores de risco da leishmaniose destacam-se as condições socioeconômicas, pois condições precárias sanitárias e de moradia podem aumentar a proliferação dos flebotomíneos e seu acesso aos seres humanos (1, 2). Outros

fatores são a desnutrição e coinfeção da leishmaniose com vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), já que essas pessoas possuem maior predisposição a desenvolverem a forma clínica da doença e maior taxa de mortalidade, a mobilidade populacional, ou seja, quando grupos de pessoas não imunes se deslocam para locais com alta incidência do parasita, mudanças ambientais decorrentes da urbanização, desflorestamento e ocupação humana em áreas florestais colaborando para alteração de tamanho e distribuição geográfica dos mosquitos (1, 4).

O diagnóstico da LV é realizado através da interação dos sinais clínicos com testes parasitológicos e sorológicos, já nas outras manifestações, cutânea e mucocutânea, a sorologia tem valor limitado, portando o teste parasitológico junto com os sinais clínicos fecham o diagnóstico (1, 2). As leishmanioses são doenças tratáveis e curáveis em humanos e vão depender de um organismo imunocompetente além do tratamento medicamentoso, o qual deve levar em consideração alguns fatores como o tipo de leishmaniose diagnosticada, espécie do parasito e localização geográfica (1).

A prevenção e o controle das leishmanioses são de extrema importância e possuem alguns fatores-chave como diagnóstico precoce, protocolo de tratamento adequado para reduzir a prevalência da doença e reduzir o período de transmissão, controle dos vetores através do uso de inseticidas, manejo ambiental e proteção individual e controle dos reservatórios animais de acordo com o recomendado pelo país (1, 2).

1.2 LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma zoonose causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, transmitida principalmente pelo flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, considerado o principal vetor no Brasil (5). No ambiente urbano, o cão doméstico representa o principal reservatório do parasito, contribuindo significativamente para a manutenção do ciclo de transmissão, sobretudo devido ao estreito convívio com os seres humanos em áreas endêmicas (6).

A transmissão ocorre durante o repasto sanguíneo da fêmea do flebotomíneo infectado, quando formas promastigotas são inoculadas no hospedeiro e, no interior de macrófagos, transformam-se em formas amastigotas, capazes de se

replicar e se disseminar pelo organismo (7, 3). A *Leishmania* spp. desenvolveu mecanismos de evasão da resposta imune, entre eles, a inibição da produção de óxido nítrico (NO) e de espécies reativas de oxigênio (ROS) para impedir a destruição do parasito pelos macrófagos (8).

Outro fator que determina se o organismo irá controlar a infecção, é a modulação da resposta imunológica. Se a resposta predominante for a Th1, haverá uma produção de IFN-gama e de TNF-alfa e conseqüente controle e maior resistência à infecção. Por outro lado, se a predominância for de resposta Th2, haverá maior produção de IL-4 e IL-10 e maior replicação do parasito e progressão da doença (8).

É estimado que cerca de 50% dos cães infectados permaneçam assintomáticos, mas ainda assim, esses cães podem atuar como fontes de infecção para o vetor (7). Quando presentes, os sinais clínicos são variados e inespecíficos, incluindo febre, mucosas hipocoradas, vômitos, diarreia, perda de peso, alterações oculares e lesões cutâneas (9). Outros sinais frequentemente observados são linfadenomegalia, hepatoesplenomegalia, hiperqueratose e lesões cutâneas (7). A progressão da doença pode levar ao acometimento renal, se manifestando inicialmente como proteinúria e podendo evoluir para síndrome nefrótica ou doença renal crônica (considerada a principal causa de óbito em cães com LVC) (5).

O diagnóstico da LVC é baseado na associação entre sinais clínicos, testes sorológicos e métodos parasitológicos ou moleculares. A identificação direta do parasito pode ser realizada por microscopia em raspados cutâneos, aspirados de baço, fígado, sangue ou medula óssea; porém, a sensibilidade é variável (7). Dentre os testes sorológicos mais utilizados estão a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ELISA e *western blot*, embora estes métodos apresentem limitações como necessidade de infraestrutura específica, falta de padronização entre laboratórios e persistência de anticorpos mesmo após a cura (7). Métodos moleculares, como a PCR, apresentam maior sensibilidade e especificidade, sendo frequentemente recomendados como complementares ao diagnóstico (5,7). Dessa forma, a combinação de diferentes métodos é considerada a abordagem mais adequada.

O controle da LVC deve ser baseado em estratégias integradas, envolvendo ações direcionadas ao hospedeiro, vetor e ambiente. Apesar de sua eficácia girar em torno de 70%, a vacinação tem sido considerada uma ferramenta importante para reduzir a susceptibilidade dos cães ao desenvolvimento da doença

(10). O uso de coleiras impregnadas com deltametrina demonstra eficácia significativa na redução das picadas de flebotômíneos e é recomendado como medida de proteção individual. O manejo ambiental, incluindo a remoção de matéria orgânica e a aplicação de inseticidas, contribui para a redução dos criadouros do vetor (5). No âmbito da Saúde Pública, o manejo do reservatório canino envolve vigilância epidemiológica e a tomada de decisão quanto ao tratamento ou eutanásia dos cães soropositivos, conforme as diretrizes estabelecidas pelo Ministério da Saúde (2).

1.3 DOENÇA RENAL E BIOMARCADORES

A lesão renal na leishmaniose ocorre principalmente por deposição de imunocomplexos na membrana basal glomerular, formados por antígenos do parasito e anticorpos do hospedeiro, nos glomérulos renais. Esse processo ativa o sistema complemento, desencadeia glomerulonefrite e leva ao aumento da permeabilidade glomerular, resultando em proteinúria persistente, um dos principais fatores de progressão para doença renal crônica (11–13). Um estudo encontrou predomínio de padrão histopatológico de glomerulonefrite membranosa e membranoproliferativa e envolvimento túbulo-intersticial em cães com LVC (14).

Os biomarcadores mais utilizados para avaliação de lesão e função renal são a presença de proteinúria por meio da relação proteína:creatinina urinária (UPC), creatinina sérica, e a dimetilarginina simétrica (SDMA). Porém, a UPC não é específica para proteinúria de origem glomerular, podendo ser influenciada por condições febris, convulsões ou doenças do trato urinário inferior (13, 15). A creatinina apenas se eleva quando há perda superior a 60–70% da função renal, além de sofrer interferências de fatores como dieta hiperproteica e massa muscular elevada (13, 15, 16). Já a SDMA apresenta maior sensibilidade para detectar redução precoce da taxa de filtração glomerular e não sofre as mesmas interferências da creatinina, entretanto, ainda são escassos os estudos que avaliem a correlação direta entre o aumento da SDMA e a glomerulonefrite induzida pela leishmaniose (17). Assim, sua interpretação deve sempre ser integrada ao exame clínico e aos demais achados laboratoriais.

Nos cães com leishmaniose visceral, a ultrassonografia abdominal é inespecífica no diagnóstico de doença renal, trazendo alterações como hepatoesplenomegalia, aumento bilateral da ecogenicidade renal, redução da definição corticomedular dos rins e linfadenomegalia (18). Outro parâmetro ultrassonográfico importante é o índice de resistividade (IR), que estava aumentado em cães com LVC e associado à diminuição da perfusão renal e alterações vasculares associadas à deposição de imunocomplexos, porém também são alterações inespecíficas e podem estar presentes em outras doenças (19).

Proteínas urinárias também podem ser indicadores de doença renal. A podocina e a nefrina são proteínas essenciais para a integridade da membrana de filtração glomerular, e sua detecção na urina está associada à lesão de podócitos e ao aumento da permeabilidade glomerular, respectivamente. Ambas têm sido investigadas como biomarcadores precoces de lesão renal em cães com leishmaniose visceral, uma vez que a podocitopatia é uma alteração importante na progressão da glomerulonefrite mediada por imunocomplexos. No entanto, apesar de serem mensuráveis, estudos demonstraram que a concentração urinária dessas proteínas pode ser menor em cães com doença mais avançada quando comparados a animais saudáveis, possivelmente devido à perda progressiva de podócitos e redução funcional do compartimento glomerular (20).

Outras proteínas que podem estar envolvidas na doença renal são a ferritina e a cistatina C urinárias. Ambas são proteínas filtradas em condições de dano glomerular, porém com comportamentos distintos. A ferritina urinária se mostrou mais sensível do que a creatinina sérica para detectar alterações renais iniciais, acompanhando a presença de proteinúria. Já a cistatina C urinária apresentou aumento apenas nos estágios mais avançados da doença renal, quando já havia elevação de creatinina, sugerindo menor sensibilidade como marcador de lesão inicial (21, 22).

Além dessas proteínas, a imunoglobulina G urinária (ulgG) e a proteína C reativa (PCR) apresentaram alta correlação com a UPC em cães com lesão glomerular decorrentes de diversas doenças e, no primeiro caso, de deposição de imunocomplexos associada à leishmaniose. Além disso, demonstraram maior especificidade para dano glomerular quando comparada à UPC, uma vez que seus níveis não sofrem interferência de lesões tubulares, refletindo de forma mais precisa o aumento da permeabilidade glomerular (23, 24).

Adicionalmente em cães, as enzimas gama-glutamilttransferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA) foram associadas à dano de túbulo renal proximal de diversas etiologias, entre elas, lesão tubular secundária a lesão glomerular causada por *Leishmania* spp. entretanto, não se pode excluir que esse aumento de GGT seja por extravasamento glomerular da enzima circulante, ou que a própria proteinúria esteja causando esse dano tubular secundário (23).

Outro biomarcador, é a proteína quimioatraente de monócitos-1 (MCP-1). Ela é um membro da família C-C das quimiocinas que servem como marcador para os monócitos saírem da medula óssea e irem ao local da inflamação. Os valores da MCP-1 em cães com leishmaniose se mostraram maiores do que nos cães saudáveis, confirmando o papel dessa proteína na patogênese da doença renal e na sua progressão (24).

Em humanos, os biomarcadores alfa-1-microglobulina (α 1M), beta-2-microglobulina (β 2M), quando há uma disfunção tubular, não são reabsorvidos pelos túbulos renais e KIM-1, *N-Acetyl-Beta-D-Glucosaminidase* (NAG) e lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL) são liberados pelas células danificadas quando há injúria tubular, foram associados ao diagnóstico de DRC e considerados marcadores de lesão tubular (25, 26).

O NGAL é uma proteína de fase aguda positiva que, em humanos, tem sua produção induzida por citocinas inflamatórias em neutrófilos, células epiteliais e hepatócitos. Além de ser reconhecido por aumentar significativamente em casos de injúria renal (tanto aguda quanto crônica), o NGAL desempenha papel em diversas condições sistêmicas. A elevação do NGAL reflete um estado inflamatório e seus níveis se elevam na sepse e em infecções virais e fúngicas, está associada à carcinogênese e processos cardiovasculares como aterosclerose, infarto agudo do miocárdio, falência cardíaca, arritmias, hipertensão e aneurisma da aorta abdominal, além de ser um biomarcador na síndrome cardiorenal. Além disso, níveis aumentados de NGAL são observados em condições metabólicas como a obesidade e o diabetes (27).

Outros biomarcadores peptídicos urinários apresentam relevância no manejo da DRC. Tanto a proteína 3 relacionada a Dickkopf (DKK3) quanto a metaloproteinase de matriz (MMP-7) são considerados potenciais biomarcadores de progressão de lesão tubular, estando envolvidos na via de sinalização WNT-beta-Catenina, que é ligada à fibrose renal. O Fator de Crescimento Epidérmico (EGF) é

mais presente na urina do que no plasma e seus níveis mais baixos são correlacionados com diversas patologias renais e sua progressão, particularmente na Doença Renal Diabética (DRD). A Proteína Quimiotática de Monócitos-1 (MCP-1) atua como marcador de inflamação renal ativa, sendo associada à progressão da doença renal em contextos como a Nefrite Lúpica (LN) e a DRD (28).

A CD80, por sua vez, demonstra potencial na diferenciação entre a doença de alterações mínimas e outras etiologias de síndromes nefróticas e a uromodulina (ou Proteína de Tamm-Horsfall), produzida nos rins e excretada na urina, exerce um papel protetivo, ela possui uma correlação negativa com a creatinina (indicando que baixas concentrações se correlacionam com maior azotemia) e com o grau de fibrose renal, sinalizando adequada função tubular (28, 29).

Além de proteínas urinárias, os microRNAs (miRNAs) também podem atuar como biomarcadores de doença renal. Eles são pequenas moléculas de RNA não codificante, com cerca de 18 a 25 nucleotídeos, que regulam a expressão gênica ao inibir a tradução proteica ou promover a degradação do RNA mensageiro (30). Nos últimos anos, os miRNAs têm sido reconhecidos como potenciais biomarcadores de lesão e função em diversos órgãos, incluindo os rins, devido sua estabilidade em fluidos biológicos como plasma, urina e sangue, pois estão encapsulados em vesículas extracelulares (31). Em cães com DRC, por exemplo, os miR-26a e miR-10a/b apresentaram redução, enquanto o miR-21a mostrou aumento nos exossomos urinários, indicando perda da função renal (32)

As vesículas extracelulares (VEs) são importantes marcadores em patologias que afetam os podócitos presentes nos glomérulos. O aumento do WT-1 na glomerulosclerose segmentar e focal (FSGS) e na nefropatia diabética (DN), muitas vezes é observado antes da própria albuminúria. O FSP-1 correlaciona positivamente com injúria glomerular ativa e a podocalixina é vista em diversas glomerulopatias. Além disso, são biomarcadores de doenças específicas, como o receptor da fosfolipase A2 (PLA2R) para a nefropatia membranosa (NM) e o HMGB1 para a nefrite lúpica (NL) (33). Já, em um modelo canino de lesão renal por isquemia e reperfusão, a administração de VEs-CEM no córtex renal após a lesão diminuiu os níveis de creatinina e nitrogênio ureico sérico em comparação com o controle (34).

Apesar disso, ainda não há estudos que investiguem o uso de miRNAs como biomarcadores de lesão renal especificamente em cães com leishmaniose.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- 1 WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**. Geneva: WHO, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 22 jul. 2025.
- 2 BRASIL. Ministério da Saúde. **Leishmaniose visceral**. Brasília-DF: Ministério da Saúde, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral>. Acesso em: 22 jul. 2025.
- 3 BURZA, S.; CROFT, S. L.; BOELAERT, M. Leishmaniasis. **The Lancet**, New York, v. 392, n. 10151, p. 951-970, 2018. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31204-2.
- 4 CRUZ, C. S. S.; BARBOSA, D. S.; OLIVEIRA, V. C.; CARDOSO, D. T.; GUIMARÃES, N. S.; CARNEIRO, M. Factors associated with human visceral leishmaniasis cases during urban epidemics in Brazil: a systematic review. **Parasitology**, London, v. 148, n. 6, p. 639-647, 2021. DOI: 10.1017/S0031182021000019.
- 5 SILVA, R. R.; SILVA, A. S.; SANTOS, P. L.; CAMPOS, R. N. S. Leishmaniose visceral em cães no Brasil: revisão de literatura. **Science and Animal Health**, Capão do Leão, v. 9, n. 1, p. 54-75, 2021. DOI: 10.15210/sah.v9i1.21441.
- 6 LIMA, C. C.; GRISOTTI, M. Human-animal relationship and leishmaniasis: repercussions in the daily routine of individuals inserted in an endemic region. **Saúde e Sociedade**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 1261-1269, 2018. DOI: 10.1590/S0104-12902018170934.
- 7 SOLANO-GALLEGO, L.; MIRÓ, G.; KOUTINAS, A.; CARDOSO, L.; PENNISI, M. G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G.; THE LEISHVET GROUP. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasites and Vectors**, London, v. 4, art. 86, p. 1-16, 2011. DOI: 10.1186/1756-3305-4-86.
- 8 MACHADO, M. E. J.; WIELEWICKI, A. P.; SILVEIRA, A. G.; VIEIRA, C. A. S.; SILVA, I. T.; RAYA, G. R.; TRAMONTINI, I. L.; NUNES, J. R.; PINTO, J. V.; PASETTI, L. W.; SCHIROKY, L. S.; MACÊDO NETO, M. P.; RAMOS, R. P.; PAZ, R. S.; SOARES, T. L. O. F. Leishmaniose: resposta imune e evasão parasitária. *In*: FREITAS, G. B. L.; ALMEIDA, C. C. (orgs.). **Imunologia e doenças infecciosas e parasitárias**. 4. ed. Porto Alegre: Pasteur, 2024. Cap. 7. DOI: 10.59290/978-65-6029-219-2.7.
- 9 CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO (CRMV-SP). **Leishmaniose visceral**. São Paulo: CRMV-SP, 2025. Disponível em: <https://crmvsp.gov.br/leishmaniose-visceral/>. Acesso em: 22 jul. 2025.
- 10 READY, P. D. Epidemiology of visceral leishmaniasis. **Clinical Epidemiology**, Auckland, v. 6, p. 147-154, 2014. DOI: 10.2147/CLEP.S44267.

- 11 CORTADELLAS, O.; FERNÁNDEZ DEL PALACIO, M. J.; TALAVERA, J.; BAYÓN, A. Glomerular filtration rate in dogs with leishmaniasis and chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 22, n. 2, p. 293-300, 2008. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2008.0062.x.
- 12 PALTRINIERI, S.; SOLANO-GALLEGO, L.; FONDATI, A.; LUBAS, G.; GRADONI, L.; CASTAGNARO, M.; CROTTI, A.; MAROLI, M.; OLIVA, G.; ROURA, X.; ZATELLI, A.; ZINI, E. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 236, n. 11, p. 1184-1191, 2010. DOI: 10.2460/javma.236.11.1184.
- 13 STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Sistema urinário. *In*: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. (orgs.). **Fundamentos de patologia clínica veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2020. p. 415-494.
- 14 RIGO, R. S.; CARVALHO, C. M. E.; HONER, M. R.; ANDRADE, G. B.; SILVA, I. S.; RIGO, L.; FIGUEIREDO, H. R.; BARRETO, W. T. G. Renal histopathological findings in dogs with visceral leishmaniasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 55, n. 2, p. 93-98, 2013. DOI: 10.1590/S0036-46652013000200008.
- 15 THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. Avaliação e interpretação laboratorial do sistema urinário. *In*: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (orgs.). **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca; 2015. p. 278-305.
- 16 COTTAM, D.; AZZOPARDI, G.; FORNI, L. G. Biomarkers for early detection and predicting outcomes in acute kidney injury. **British Journal of Hospital Medicine**, London, v. 83, n. 8, p. 1-11, 2022. DOI: 10.12968/hmed.2022.0032.
- 17 TORRENT, E.; PLANELLAS, M.; ORDEIX, L.; PASTOR, J.; RODON, J.; SOLANO-GALLEGO, L. Serum symmetric dimethylarginine as an early marker of excretory dysfunction in canine leishmaniosis (*L. infantum*) induced nephropathy. **Veterinary Medicine International**, Cairo, v. 2018, art. 7517359, p. 1-8, 2018. DOI: 10.1155/2018/7517359.
- 18 PARADIES, P.; CIPONE, M.; MELE, I.; GRECO, B.; ROMANO, D.; SASANELLI, M. Abdominal ultrasound findings associated with canine visceral leishmaniasis in endemic areas. **Annals of Clinical Cytology and Pathology**, Henderson, v. 4, n. 1, art. 1093, p. 1-7, 2018. DOI: 10.47739/2475-9430/1093.
- 19 BALTAZAR, P. I.; MOURA, L. S.; PESSOA, G. T.; RODRIGUES, R. P. S.; SANCHES, M. P.; DINIZ, A. N.; SOUSA, F. C. A.; GUERRA, P. C.; NEVES, W. C.; GIGLIO, R. F.; ALVES, J. J. R. P.; SOUZA, F. A. L.; BRAGA, J. F. V.; ALVES, F. R. Comparative B-mode and Doppler renal ultrasonography with histopathological findings in dogs positive for canine visceral leishmaniasis. **Microscopy Research and Technique**, New York, v. 79, n. 7, p. 637-645, 2016. DOI: 10.1002/jemt.22677.

- 20 PANTALEO, V.; FURLANELLO, T.; CARLI, E.; VENTURA, L.; SOLANO-GALLEGO, L. Evaluation of urinary podocin and nephrin as markers of podocyturia in dogs with leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, London, v. 17, n. 1, art. 423, p. 1-16, 2024. DOI: 10.1186/s13071-024-06510-3.
- 21 GARCÍA-MARTÍNEZ, J. D.; MARTINEZ-SUBIELA, S.; TVARIJONAVICIUTE, A.; CALDIN, M.; CERON, J. J. Urinary ferritin and cystatin C concentrations at different stages of kidney disease in leishmaniotic dogs. **Research in Veterinary Science**, London, v. 99, p. 121-126, 2015. DOI: 10.1016/j.rvsc.2015.01.002.
- 22 NABITY, M.; HOKAMP, J. Urinary biomarkers of kidney disease in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 53, n. 1, p. 53-71, 2023. DOI: 10.1016/j.cvsm.2022.07.006.
- 23 PARDO-MARÍN, L.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; PASTOR, J.; TVARIJONAVICIUTE, A.; GARCIA-MARTINEZ, J. D.; SEGARRA, S.; CERÓN, J. J. Evaluation of various biomarkers for kidney monitoring during canine leishmaniosis treatment. **BMC Veterinary Research**, London, v. 13, art. 31, p. 1-7, 2017. DOI: 10.1186/s12917-017-0956-0.
- 24 PANTALEO, V.; FURLANELLO, T.; VENTURA, L.; SOLANO-GALLEGO, L. Serum and urinary monocyte chemoattractant protein-1 as markers of inflammation and renal damage in dogs with naturally occurring leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, London, v. 17, n. 1, art. 366, p. 1-14, 2024. DOI: 10.1186/s13071-024-06432-0.
- 25 CANKI, E.; KHO, E.; HOENDEROP, J. G. J. Urinary biomarkers in kidney disease. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 555, art. 117798, p. 1-12, 2024. DOI: 10.1016/j.cca.2024.117798.
- 26 IX, J. H.; SHLIPAK, M. G. The promise of tubule biomarkers in kidney disease: a review. **American Journal of Kidney Diseases**, New York, v. 78, n. 5, p. 719-727, 2021. DOI: 10.1053/j.ajkd.2021.03.026.
- 27 ROMEJKO, K.; MARKOWSKA, M.; NIEMCZYK, S. The review of current knowledge on neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 24, n. 13, art. 10470, p. 1-23, 2023. DOI: 10.3390/ijms241310470.
- 28 CATANESE, L.; SIWY, J.; MISCHAK, H.; WENDT, R.; BEIGE, J.; RUPPRECHT, H. recent advances in urinary peptide and proteomic biomarkers in chronic kidney disease: a systematic review. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 24, n. 11, art. 9156, p. 1-25, 2023. DOI: 10.3390/ijms24119156.
- 29 CHEBOTAREVA, N.; VINOGRADOV, A.; MCDONNELL, V.; ZAKHAROVA, N. V.; INDEYKINA, M. I.; MOISEEV, S.; NIKOLAEV, E. N.; KONONIKHIN, A. S. Urinary protein and peptide markers in chronic kidney disease. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 22, n. 22, art. 12123, p. 1-20, 2021. DOI: 10.3390/ijms222212123.

30 LI, J. Y.; YONG, T. Y.; MICHAEL, M. Z.; GLEADLE, J. M. Review: the role of microRNAs in kidney disease. **Nephrology**, Carlton, v. 15, n. 6, p. 599-608, 2010. DOI: 10.1111/j.1440-1797.2010.01363.x.

31 CERQUEIRA, D. M.; TAYEB, M.; HO, J. MicroRNAs in kidney development and disease. **Journal of Clinical Investigation Insight**, Ann Arbor, v. 7, n. 9, art. e158277, p. 1-15, 2022. DOI: 10.1172/jci.insight.158277.

32 ICHII, O.; OHTA, H.; NAKAMURA, T.; HOSOTANI, M.; MIZOGUCHI, T.; MORISHITA, K.; NAKAMURA, K.; HOSHINO, Y.; TAKAGI, S.; SASAKI, N.; TAKIGUCHI, M.; SATO, R.; OYAMA, K.; KON, Y. Urinary exosome-derived microRNAs reflecting the changes of renal function and histopathology in dogs. **Scientific Reports**, London, v. 7, art. 40340, p. 1-11, 2017. DOI:10.1038/srep40340.

33 BRUSCHI, M.; CANDIANO, G.; ANGELETTI, A.; LUGANI, F.; PANFOLI, I. Extracellular vesicles as source of biomarkers in glomerulonephritis. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 24, n. 18, art. 13894, p. 1-13, 2023. DOI: 10.3390/ijms241813894.

34 LIU, H.; HUANG, L.; CHEN, F.; ZHONG, Z.; MA, X.; ZHOU, Z.; CAO, S.; SHEN, L.; PENG, G. Adipose-derived mesenchymal stem cells secrete extracellular vesicles: A potential cell-free therapy for canine renal ischaemia-reperfusion injury. **Veterinary Medicine and Science**, Oxford, v. 9, n. 3, p. 1134-1142, 2023. DOI: 10.1002/vms3.1105.