

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/01/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus Araçatuba

EDENILSON DONÁ FRIGERIO

**Alterações histopatológicas em hipófise de cães
naturalmente infectados por *Leishmania infantum* –
Imunomarcacão de amastigotas e de linfócitos TCD3**

Araçatuba

2023

EDENILSON DONÁ FRIGERIO

**Alterações histopatológicas em hipófise de cães
naturalmente infectados por *Leishmania infantum* –
Imunomarcacão de amastigotas e linfócitos TCD3**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica).

Orientadora: Prof.^a Adjunto Gisele Fabrino Machado

Araçatuba

2023

F912a	Frigerio, Edenilson Doná Alterações histopatológicas em hipófise de cães naturalmente infectados por <i>Leishmania infantum</i> – Imunomarcação de amastigotas e linfócitos TCD3 / Edenilson Doná Frigerio. -- Araçatuba, 2023 91 f. : il., tabs., fotos Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba Orientadora: Gisele Fabrino Machado 1. Glândula pituitária. 2. Leishmaniose Visceral. 3. Histopatologia. 4. Inflamação. 5. Imuno-histoquímica. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Alterações Histopatológicas em Hipófise de Cães Naturalmente Infectados por *Leishmania infantum* -
Imunomarcagem de Amastigotas e de Linfócitos TCD3

AUTOR: EDENILSON DONÁ FRIGERIO

ORIENTADORA: GISELE FABRINO MACHADO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal,
área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. GISELE FABRINO MACHADO (Participação Presencial)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de
Araçatuba/UNESP


Profa. Dra. DANIELA BERNADETE ROZZA (Participação Presencial)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de
Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. CLAUDIA MOMO (Participação Virtual)
Departamento de Patologia / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP

Araçatuba, 24 de janeiro de 2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Alterações Histopatológicas em Hipófise de Cães Naturalmente Infectados por *Leishmania infantum* -
Imunomarcção de Amastigotas e de Linfócitos TCD3

AUTOR: EDENILSON DONÁ FRIGERIO

ORIENTADORA: GISELE FABRINO MACHADO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal,
área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. GISELE FABRINO MACHADO (Participação Presencial)

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de
Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. DANIELA BERNADETE ROZZA (Participação Presencial)

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de
Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. CLAUDIA MOMO (Participação Virtual)

Departamento de Patologia / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP

Araçatuba, 24 de janeiro de 2023.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela vida que me proporcionou e colocou em meu caminho pessoas maravilhosas que sempre estiveram ao meu lado me apoiando nessa caminhada.

Aos meus pais Ednilson e Tânia, a minha irmã Jéssica, aos meus avós e tios, que diretamente interferiram nessa jornada, nos momentos bons e nos ruins, dando conselhos e ajuda.

Á todos meus amigos que conviveram ao meu lado nesses últimos anos, trocando conhecimento, apoio e amizade; a minha equipe e time de trabalho do Lapap e CPAV, em especial a Cecilia de Castro Guizelini, minha dupla, aluna e amiga que tive a honra de poder orientar.

Á Profa. Gisele Fabrino Machado, por aceitar em ser minha orientadora em mais uma etapa da minha formação profissional, a qual tenho como exemplo de pessoal e profissional, e pela forma de acolhimento durante essa caminhada.

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

“A percepção do desconhecido é a mais fascinante das experiências. O homem que não tem os olhos abertos para o misterioso passará a vida sem ver nada”

(Albert Einstein)

FRIGERIO, E. D. **Alterações histopatológicas em hipófise de cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* – Imunomarcacão de amastigotas e linfócitos TCD3**. 2023. 91 f. Dissertacão (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

RESUMO

A hipófise, ou glândula pituitária, é composta pela neuro-hipófise e adeno-hipófise, envolvidas pelo círculo arterial cerebral, é classificada como um órgão endócrino responsável por controlar as funções fisiológicas metabólicas, reprodutoras e de crescimento, auxiliando na manutenção da homeostase. A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, normalmente observados no interior das células do sistema mononuclear fagocitário e disseminado no organismo do hospedeiro. Ocasionalmente são observados sinais clínicos neurológicos, lesões inflamatórias e complicações vasculares no sistema nervoso central (SNC) de cães infectados, cuja patogênese não é totalmente compreendida. Esta revisão tem como objetivo descrever as características morfológicas e funções da hipófise, e os efeitos da leishmaniose visceral e de outras doenças sistêmicas que podem causar disfunção da glândula. Para isso foi realizada a análise e comparação de livros e artigos científicos sobre as infecções de *Leishmania infantum* (*Chagasi*), alterações hipofisárias e endócrinas, publicados nas bases de dados informatizadas PubMed, LILACS, SciELO, Google Scholar e no Portal de Periódicos da CAPES em língua inglesa no período de 1976 a 2022. A hipófise apresenta função chave para a homeostase do organismo, e alterações inflamatórias nesta glândula podem influenciar em sua atividade endócrina. Conclui-se que a presença de inflamação na hipófise pode levar a uma disfunção, acarretando em distúrbios fisiológicos, e que isso precisa ser melhor investigado em cães infectados por *Leishmania* spp., uma vez que já foram observadas mudança nas concentrações de hormônios e suas interferências no organismo, em paciente humano e em hamster como modelo experimental.

Palavras-chave: Glândula pituitária. Leishmaniose Visceral. Histopatologia. Inflamação. Imuno-histoquímica.

FRIGERIO, E. D. **Histopathological changes in pituitary glands of dogs naturally infected by *Leishmania infantum* - Immunolabeling of amastigotes and TCD3 lymphocytes.** 2023. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

ABSTRACT

The hypophysis, or pituitary gland, is composed of the neurohypophysis and the adenohypophysis, surrounded by the cerebral arterial circle, and is classified as an endocrine organ responsible for controlling the physiological metabolic, reproductive, and growth functions, helping to maintain homeostasis. Canine Visceral Leishmaniasis (CanL) is caused by the protozoan *Leishmania infantum*, normally observed within the cells of the mononuclear phagocytic system and disseminated in the host organism. Occasionally neurological clinical signs, inflammatory lesions, and vascular complications are observed in the central nervous system (CNS) of infected dogs, the pathogenesis of which is not totally understood. This review aims to describe the morphological characteristics and functions of the pituitary gland, and the effects of visceral leishmaniasis and other systemic diseases that can cause dysfunction of the gland. This was done by analyzing and comparing books and scientific articles about *Leishmania infantum* (*Chagasi*) infections, pituitary and endocrine changes, published in the computerized databases PubMed, LILACS, SciELO, Google Scholar, and the CAPES Periodical Portal in English from 1976 to 2022. The pituitary gland has a key function for the homeostasis of the organism, and inflammatory alterations in this gland may influence its endocrine activity. We conclude that the presence of inflammation in the pituitary gland may lead to dysfunction, resulting in physiological disorders, and that it needs to be better investigated in dogs infected by *Leishmania* spp., since changes in the concentrations of hormones and their interference in the body have already been observed in human patients and in hamsters as experimental models.

Keywords: Pituitary gland. Visceral leishmaniasis. Histopathology. Inflammation. Immunohistochemistry.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	hormônio adrenocorticotrófico
ADH	hormônio antidiurético
AP	área postrema
BHE	barreira hematoencefálica
CRH	hormônio liberador de corticotrofina
CVO	órgão circunventricular
CVOs	órgãos circunventriculares
EM	eminência mediana
FSH	hormônio estimulador de folículos
GFAP	proteína ácida fibrilar glial
GH	hormônio do crescimento
GnRH	hormônio liberador de gonadotrofina
GRF	fator de liberação de somatotrofina
HE	hematoxilina e eosina
HPF	high-power field
IFN- γ	interferon gama
IHQ	imuno-histoquímica
IL-10	interleucina 10
IL-12	interleucina 12
IL-2	interleucina 2
IL-6	interleucina 6
LCR	líquido cefalorraquidiano
LH	hormônio luteinizante
LV	leishmaniose visceral
LVC	leishmaniose visceral canina
MSH	hormônio estimulador de melanócitos
MSHRF	fator de liberação de melanocortina
NO	óxido nítrico
OVLT	organum vasculosum da lâmina terminal
PBA	punção biopsia aspirativa
PBS	tampão fosfato-salino

PIF	fator de inibição de prolactina
ROS	espécies reativas de oxigênio
SCO	órgão subcomisural
SFO	órgão subfornical
SNC	sistema nervoso central
SST	somatostatina
T ₃	triiodotironina
T ₄	tiroxina
TGF-β	fator de crescimento transformador beta
Th1	linfócitos T auxiliar (<i>helper</i>) tipo 1
Th2	linfócitos T auxiliar (<i>helper</i>) tipo 2
TNF-α	fator de necrose tumoral alfa
TRH	hormônio liberador de tireotrofina
TSH	hormônio tireoestimulante

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1 Características hipofisárias gerais.....	13
1.2 Estrutura histológica hipofisária.....	16
1.3 Vascularização da hipófise	17
1.4 Papel dos órgãos Circunventriculares (CVOs)	20
1.5 Fisiologia hipofisária	22
1.5.1 Adeno-hipófise	22
1.5.2 Neuro-hipófise	23
1.6 Leishmaniose Visceral	24
1.6.1 Manifestações clínicas	26
1.6.2 Alterações no sistema nervoso central.....	27
1.6.3 Patogenia das lesões no encéfalo e permeabilidade das barreiras encefálicas	28
1.7 Alterações na hipófise durante doenças sistêmicas.....	29
1.7.1 Alterações na hipófise durante a leishmaniose	31
1.8 Justificativa.....	33
1.9 Objetivos	33
2 CAPÍTULO 1- HIPOFISITE LINFOCÍTICA EM CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL.....	34
2.1 Resumo	34
2.2 Abstract	35
3 INTRODUÇÃO	36
3.1 Material e Métodos	38
3.1.1 Ética	38
3.1.2 Animais.....	38
3.1.3 Diagnóstico de Leishmaniose Visceral.....	39
3.1.4 Delineamento experimental.....	39
3.1.5 Colheita do material.....	39
3.1.6 Imuno-histoquímica	40
3.1.7 Análise histopatológica e imuno-histoquímica.....	41
3.1.8 Análise estatística	42
3.2 Resultados	43
3.2.1 Detecção imuno-histoquímica de <i>L. infantum</i>	43
3.2.2 Estadiamento clínico	44
3.2.3 Caracterização histopatológica	44
3.2.4 Imunomarcagem para linfócitos TCD3 ⁺	47

3.3 Discussão.....	51
3.4 Conclusão	54
3.5 Informações de Apoio.....	55
3.6 Referências	55
APÊNDICE A - REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	64
APÊNDICE B - FIGURAS E TABELA SUPLEMENTARES	74
ANEXO A - COMISSÃO DE ÉTICA	79
ANEXO B - NORMAS DE SUBMISSÃO	80

1 INTRODUÇÃO GERAL

A leishmaniose visceral é uma doença crônica e multissistêmica com apresentações clínicas variadas, cuja evolução depende diretamente da resposta imune desenvolvida pelo hospedeiro e dos órgãos acometidos (BANETH *et al.*, 2008). Em cães, o desenvolvimento de uma resposta imune celular Th1 é determinante para o controle e eliminação do parasita, enquanto que o desenvolvimento de resposta imune humoral Th2 é associado a suscetibilidade a infecção (HOSEIN *et al.*, 2017).

A etiopatogenia dos sinais clínicos está relacionada a formação e deposição de imunocomplexos, a presença do parasita associado à infiltrado inflamatório granulomatoso em diversos órgãos e ao desenvolvimento de autoanticorpos, o que explica a variabilidade de apresentações da doença (BANETH *et al.*, 2008). A ativação do sistema imune inato e adaptativo em resposta à infecção promove a produção de uma série de citocinas inflamatórias que refletem não só no tipo de resposta imune a ser desenvolvida, mas também na modulação de circuitos neuroendócrinos, que são diretamente relacionados a resposta imunológica (BOTASSO; MORALES-MONTOR, 2009).

A hipófise é um órgão neuroendócrino responsável pela interface na comunicação entre o hipotálamo e glândulas endócrinas periféricas, cuja regulação é essencial para a manutenção da homeostase dos organismos em situações fisiológicas e patológicas (PEREZ-CASTRO *et al.*, 2012). Não existem estudos avaliando alterações na hipófise durante a leishmaniose visceral canina, no entanto, existem evidências de que a doença pode promover distúrbios hormonais relacionados a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, resultando em um aumento do cortisol sérico em animais infectados, que pode estar associado a uma progressão desfavorável da doença (BARROS-GONÇALVES *et al.*, 2021).

1.1 Características hipofisárias gerais

A hipófise ou glândula pituitária é um órgão neuroendócrino, responsável pela produção e secreção de hormônios que atuam regulando o funcionamento de outras glândulas endócrinas, fundamentais para a homeostase do organismo (POLLEDO *et al.*, 2018).

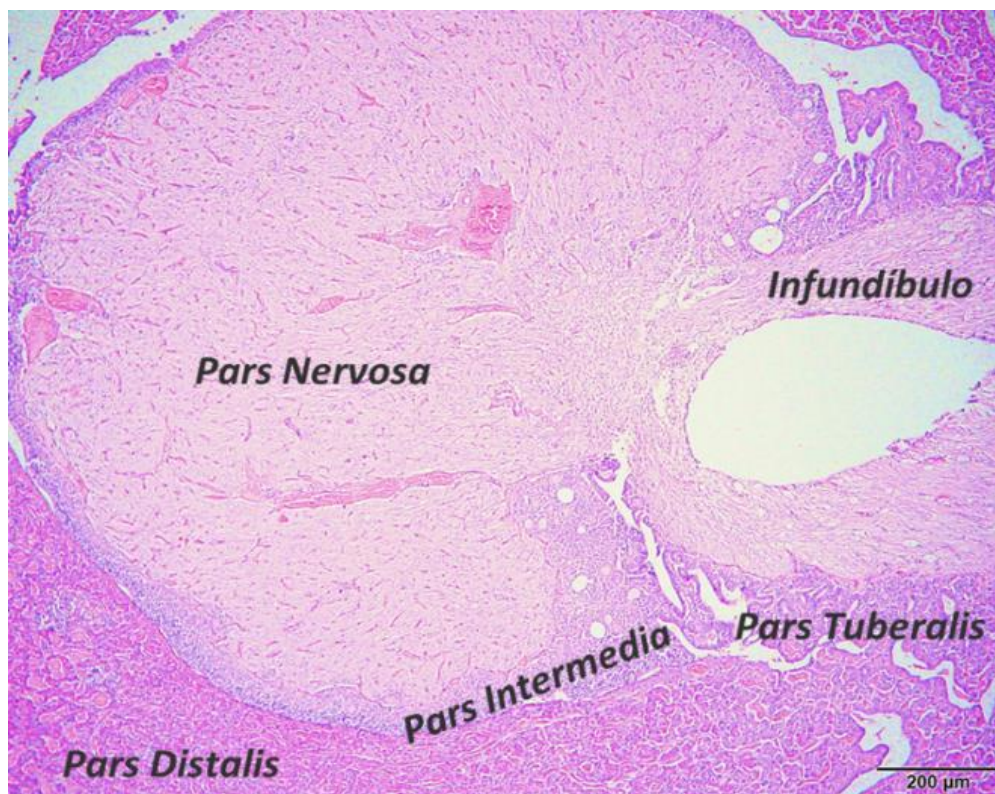
Localiza-se no processo ventral do assoalho do diencéfalo, na face superior do osso basisfenóide, em uma região chamada de fossa pituitária ou *sela túrcica*, logo abaixo do quiasma óptico e adjacente ao corpo mamilar (DANIEL, 1976; HONG; PAYNE; JANE JR, 2016). O teto e a base da fossa pituitária são delimitados por duas camadas de dura-máter, uma interna e outra externa, que formam o diafragma da *sela túrcica* e se conectam ao periósteo e a cápsula da glândula (VAN DER VLUGT-MEIJER; VOORHOUT; MEIJ, 2002). Na porção ventrolateral ao diafragma, circundando a hipófise, estão localizadas as veias dos seios cavernosos e a *rete mirabilis* carotídea (AIYAN *et al.*, 2019). O espaço subaracnóide recobre a parte dorsal da hipófise (VAN DER VLUGT-MEIJER; VOORHOUT; MEIJ, 2002).

Em cães adultos, a glândula pituitária é redonda, bilobada e seu tamanho varia individualmente e de acordo com a raça, sexo e peso do animal (KIPPENES *et al.*, 2001; VAN DER VLUGT-MEIJER; VOORHOUT; MEIJ, 2002).

A hipófise possui origem embriológica dupla, sendo subdividida em adeno-hipófise, de origem ectodermal, e em neuro-hipófise, originada do neuroectoderma, cada qual possuindo características histológicas e fisiológicas próprias e distintas (AMAR; WEISS, 2003).

A adeno-hipófise não tem conexão anatômica direta com o tecido nervoso e é subdividida em outras três porções: *pars distalis*, *pars tuberalis* e *pars intermedia* (HONG; PAYNE; JANE JR, 2016) (Figura 1). O lobo anterior da glândula hipófise é composto exclusivamente pela *pars distalis*, cuja origem embriológica remete ao tecido epitelial que compõe a orofaringe primitiva (Bolsa de Rathke).

Figura 1- Fotomicrografia da divisão histológica das regiões da hipófise. Bar= 200µm



Fonte: Elaborado pelo autor.

A neuro-hipófise é composta pela *pars nervosa* e se desenvolve a partir de um crescimento descendente da base do diencefalo, mantendo continuidade com o sistema nervoso através de um pedículo chamado *infundíbulo* (DANIEL, 1976), o qual conecta a neuro-hipófise ao hipotálamo, permitindo a passagem de hormônios hipotalâmicos através do sistema porta-hipofisário e/ou do trato hipotálamo-hipofisário (VAN DER VLUGT-MEIJER; VOORHOUT; MEIJ, 2002). Junto a *pars intermedia*, região intermediária entre adeno-hipófise e a neuro-hipófise, separadas por uma fissura na bolsa de Rathke, compõem o lobo posterior da glândula (AMAR; WEISS, 2003). Durante o desenvolvimento embriológico, a bolsa epitelial oral avança circundando a evaginação neural, formando uma dupla camada que dá origem a hipófise (AMAR; WEISS, 2003).

A haste hipofisária conecta os lobos anterior e posterior na região da eminência mediana do hipotálamo, sendo composta pelo *infundíbulo* e *pars tuberalis* da adeno-hipófise, que se localiza ao redor do mesmo (DANIEL, 1976).

1.2 Estrutura histológica hipofisária

Histologicamente a hipófise é revestida por uma cápsula fibrosa de tecido conjuntivo e preenchida por uma rede de fibras reticulares que oferece suporte as células da glândula. Como todos os tecidos endócrinos, possui estroma esparso e altamente vascularizado, visando sustentar a intensa atividade metabólica do parênquima (ALRAHMAN; SHEHAN; SAUD, 2022).

A *pars distalis* da adeno-hipófise é constituída por cordões e ilhas de células epiteliais secretoras cuboidais que produzem hormônios que são armazenados em grânulos de secreção, para posteriormente serem liberados no interstício (ALRAHMAN; SHEHAN; SAUD, 2022). As células epiteliais glândulares são permeadas pelas células folículo-estelares, cuja função não é bem determinada (HIGASHI *et al.*, 2021).

As células folículo-estelares têm morfologia em forma de estrela e são conectadas umas às outras, formando uma rede que recobre a superfície luminal da fenda intraglandular. Podem ainda se aglomerar através de desmossomos, formando folículos que contém colóide em seu interior (HIGASHI *et al.*, 2021). Acredita-se que as células folículo-estelares estejam envolvidas em diversos processos fisiológicos na hipófise, como na eliminação de resíduos, transporte de nutrientes, comunicação eletrofisiológica e suporte mecânico às células epiteliais secretoras (HIGASHI *et al.*, 2021).

Na coloração de hematoxilina-eosina, as células epiteliais secretoras podem ser classificadas em cromofóbas e cromófilas acidófilas ou basófilas, de acordo com sua afinidade com o corante (ALRAHMAN; SHEHAN; SAUD, 2022). As células acidófilas são as somatotrópicas e lactotrópicas, responsáveis por produzir o hormônio do crescimento (GH) e a prolactina, respectivamente. As células basófilas são as tireotróficas, corticotróficas e gonadotróficas, responsáveis pela produção dos hormônios adrenocorticotrófico (ACTH), tireotrofina (TSH), hormônio estimulador de folículos (FSH) e hormônio luteinizante (LH) (AMAR; WEISS, 2003). A determinação do tipo celular específico e seu produto de secreção não é possível através das colorações histológicas de rotina, sendo necessário a utilização de técnicas como a imuno-histoquímica para sua avaliação. As células cromofóbas não possuem

afinidade com corantes e podem ser células que degranularam ou células que ainda vão se diferenciar (VALA *et al.*, 2013).

A *pars intermedia* é caracterizada histologicamente por apresentar células epiteliais secretoras basófilas menores que as da *pars distalis*, difusamente distribuídas (ALRAHMAN; SHEHAN; SAUD, 2022) e que produzem o hormônio estimulador de melanócitos (MSH) e lipotropinas (VALA *et al.*, 2013).

A *pars tuberalis* é composta por células cuboidais fracamente basofílicas arranjadas em cordões, cuja função não é bem determinada (VALA *et al.*, 2013).

A neuro-hipófise é formada por axônios não mielinizados associados a pituícitos, um tipo específico de célula da glia que apresenta múltiplos prolongamentos, responsáveis por oferecer suporte às fibras nervosas. Os corpos celulares dos axônios localizados na neuro-hipófise têm origem nos núcleos supraópticos e paraventriculares do hipotálamo (AMAR; WEISS, 2003). O hipotálamo possui neurônios secretores caracterizados por possuírem corpos de Nissl muito desenvolvidos, resultando em habilidade secretora (PEREZ-CASTRO, 2012). A ocitocina é sintetizada pelos corpos celulares neuronais do núcleo paraventricular do hipotálamo, enquanto o hormônio antidiurético (ADH) é sintetizado nos corpos celulares neuronais do núcleo supraóptico. Ambos os hormônios são conjugados com sua proteína carreadora derivada de pró-hormônios (neurofisina) e são transportados em vesículas de secreção através dos axônios, passando pelo *infundíbulo* e acumulando-se na extremidade terminal axônica na *pars nervosa* (AMAR; WEISS, 2003). Os acúmulos intracelulares de secreção podem formar depósitos distinguíveis na histologia, denominados corpúsculos de Hering. Por fim, os hormônios são liberados por exocitose para adentrar nos capilares sanguíneos fenestrados abundantes na região, chegando à circulação sistêmica (AMAR; WEISS, 2003).

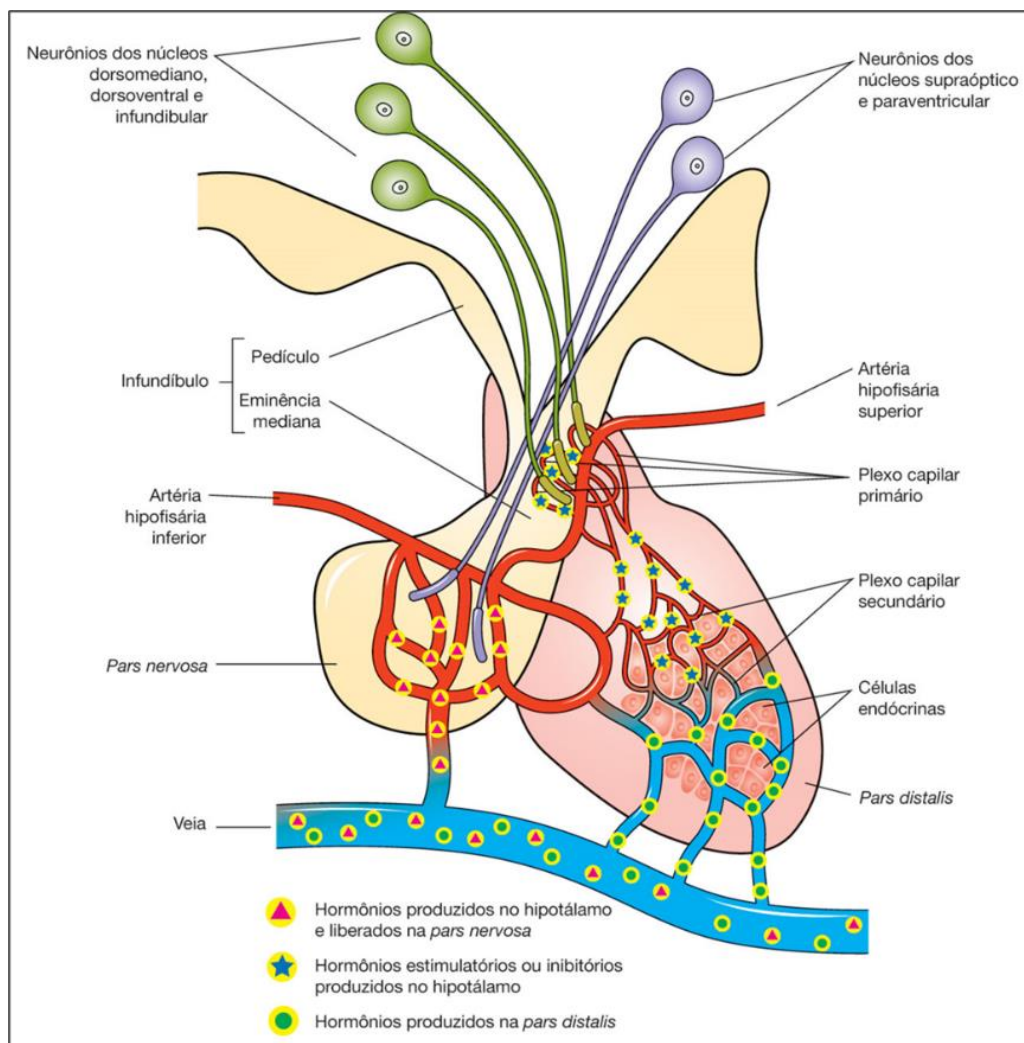
1.3 Vascularização da hipófise

O suprimento vascular da glândula pituitária ocorre a partir da artéria carótida interna caudal e rostral, que formam um círculo arterial ao redor da hipófise, localizado no espaço subaracnoide (EVANS, 1993; FLETCHER, 1993). No cão, este círculo é suprido por meio da artéria basilar e do sistema arterial carotídeo, que é formado por uma série de artérias aferentes anastomosadas que acumulam sangue em uma rede

denominada *rete mirabilis*, considerada a principal fornecedora de sangue ao círculo de Willis (AIYAN *et al.*, 2019; BAKER, 1979). A *rete mirabilis* é um sistema responsável pelo acúmulo e reserva de sangue, redução da pressão sanguínea encefálica nas artérias aferentes e redução da temperatura do sangue que atinge o encéfalo (BAKER, 1979; KIELTYKA-KURC; FRACKOWIAK; BRUDNICKI, 2015; ZGUIGAL, 1988).

A partir da artéria carótida interna caudal, ramifica-se a artéria hipofisária superior, responsável por suprir o lobo anterior da hipófise e o pedúnculo hipofisário (Figura 2) (VAN DER VLUGT-MEIJER; VOORHOUT; MEIJ, 2002). Da porção medial da artéria hipofisária superior saem múltiplas pequenas artérias, que se anastomosam e formam um plexo primário de capilares fenestrados, localizado na eminência mediana e porção superior do pedúnculo hipofisário (AMAR; WEISS, 2003). Este plexo primário é fundamental, pois a eminência mediana recebe as terminações das células hipotalâmicas, que produzem fatores envolvidos no controle da função adeno-hipofisária (PEREZ-CASTRO, 2012). Assim, os capilares do plexo convergem em vênulas, formando as veias hipofisárias portais, que percorrem do pedúnculo para a *pars distalis*, onde se origina um segundo plexo de capilares sinusóides, responsável pela difusão dos fatores reguladores hipotalâmicos. Os capilares se reconstituem em veias hipofisárias laterais eferentes, que drenam para os seios cavernosos (AMAR; WEISS, 2003). O fluxo pode ser inverso, de forma que os hormônios liberados pela adeno-hipófise refluem para a eminência mediana. Este sistema é chamado sistema porta-hipofisário e garante a modulação hipotalâmica da produção de hormônios pelas células epiteliais hipofisárias, por meio de feedback (PEREZ-CASTRO, 2012).

Figura 2- Vascularização do eixo hipotálamo-hipofisário, e locais de produção, transporte, armazenamento e liberação dos hormônios



Fonte: JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHAMSOHN, 2017

O lobo posterior é irrigado pela artéria hipofisária inferior, que se origina de um ramo cavernoso do tronco meningo-hipofisário, que é um ramo da artéria carótida interna rostral (AMAR; WEISS, 2003). A artéria hipofisária inferior se forma abaixo do diafragma da *sela túrcica*, fluindo para o sulco entre a *pars distalis* e *pars nervosa*, dividindo-se em ramos ascendentes e descendentes que suprem toda a *pars nervosa*, recebendo os hormônios liberados nos terminais axônicos. A drenagem venosa do lobo posterior também é feita para os seios cavernosos, culminando na veia jugular interna (PEREZ-CASTRO, 2012).

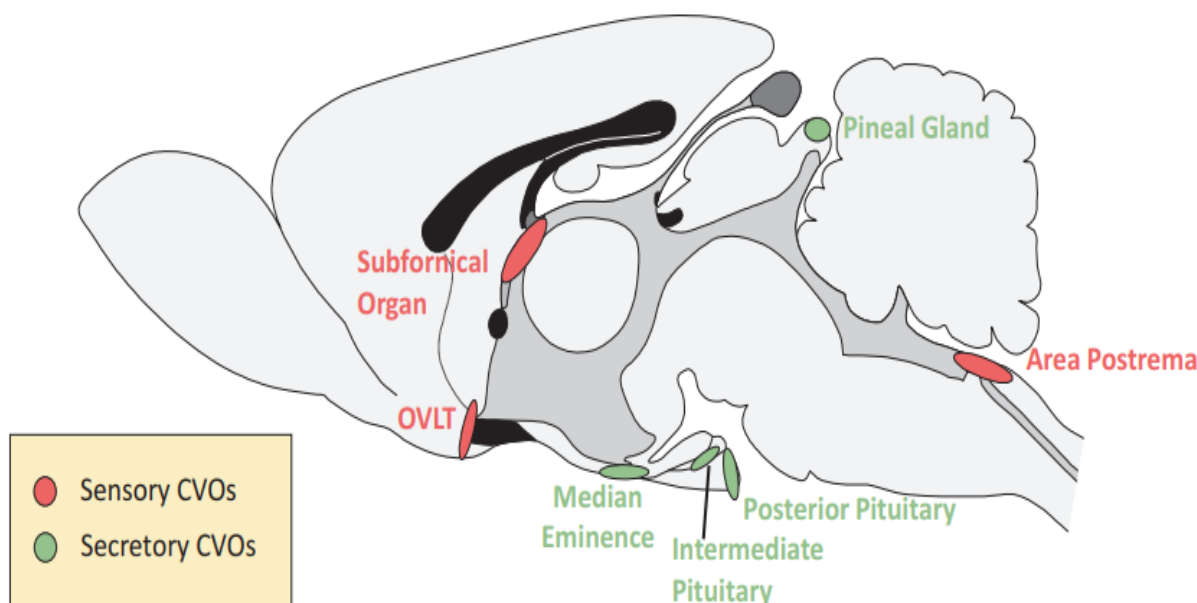
1.4 Papel dos órgãos Circunventriculares (CVOs)

Existem quatro formas principais pelas quais a comunicação entre o sistema imune e o SNC é possibilitada: pelo transporte por meio da BHE, pela síntese e secreção de substâncias por células endoteliais vasculares, pelos nervos vagal e simpático, e pela estimulação dos órgãos circunventriculares (CVOs) (KELLEY; SHIMADA, 2020), os quais são compartimentos do SNC posicionados próximos ao terceiro e quarto ventrículos, cuja presença é essencial para que haja comunicação entre este sistema e a circulação sanguínea. Os CVOs são estruturas intensamente vascularizadas, com funções homeostáticas e neurosecretoras, desprovidas de BHE, uma vez que possuem endotélio sem zônulas de oclusão e por isso, a vasculatura é fenestrada, e apresentam núcleos secretores e integrativos no hipotálamo e no tronco encefálico envolvidos na regulação imunológica (BLACK; CANCELLIERE; FERGUSON, 2017; JOHNSON; GROSS, 1993). Devido à sua estrutura, os CVOs são suscetíveis à exposição de componentes presentes na circulação, tais como citocinas, endotoxinas e patógenos, representando um ponto de acesso que influencia diretamente o SNC, sendo capazes de atuar na iniciação e modulação da inflamação local, com possível elevada vigilância de células T para manter tais compartimentos livres de infecções (BENTIVOGLIO; KRISTENSSON; ROTTENBERG, 2018; BLACK; CANCELLIERE; FERGUSON, 2017; MASTORAKOS; MCGAVERN, 2019).

Os CVOs possuem divisões e são classificados como sensoriais ou secretores (Figura 3). Os sensoriais compreendem o órgão subfornical (SFO), a área postrema (AP) e o organum vasculosum da lâmina terminal (OVLT), conhecidos por transmitirem informações sobre a circulação periférica ao SNC. Já os secretores compreendem a glândula pineal, o órgão subcomisural (SCO), a eminência mediana (EM) e a neuro-hipófise, os quais secretam substâncias diretamente na circulação (BLACK; CANCELLIERE; FERGUSON, 2017; MORITA *et al.*, 2016). Os CVOs sensoriais são compostos estruturalmente por neurônios, células da glia, células endoteliais, astrócitos, micróglia, macrófagos e oligodendrócitos (DELLMAN, 1998). Dentre esses, destaca-se a atuação de astrócitos GFAP positivos presentes no SFO, que expressam aquaporina-4 e endotelina, ambas envolvidas no processo de inflamação e disfunção da BHE, respectivamente (LI *et al.*, 2011; LO *et al.*, 2005; PÓCSAI; KÁLMÁN, 2015). Além disso, já foram relatadas conexões para o SNC por

meio de inervações do SFO e por entradas multissinápticas entre OVLT e AP (KROUT *et al.*, 2002).

Figura 3 - Localização anatômicas dos órgãos circunventriculares sensoriais (sensory CVOs) e secretórios (secretory CVOs), representado em corte médio-sagital do cérebro de rato



Legenda: Area prostema (área postrema), intermediate pituitary (*pars intermedia*), median eminence (eminência mediana), OVLT (organum vasculosum da lâmina terminal), pineal gland (glândula pineal), posterior pituitary (neuro-hipófise) e subfornical organ (órgão subfornical)

Fonte: BLACK; CANCELLIERE; FERGUSON, 2017

Todos os CVOs possuem micróglia e macrófagos no parênquima e nos espaços perivasculares, os quais são responsáveis pela expressão de MHC de classes I e II, sugerindo a capacidade destas células na apresentação de antígenos aos linfócitos T e servindo como primeira linha de defesa contra patógenos invasores (KAUR; LING, 2017). A EM é uma estrutura fundamental para a comunicação entre os sistemas neurais e endócrinos, localizada na base do hipotálamo, acima da haste hipofisária, e que através desta, faz conexão com a neuro-hipófise (KAUR; LING, 2017). A neuro-hipófise possui pericitos, fibroblastos e mastócitos nos espaços perivasculares (SEYAMA; PEARL; TAKEI, 1980), além de células semelhantes à glia chamadas pituícitos, as quais se localizam em contato íntimo com o espaço perivascular dos capilares e possui natureza astrocítica caracterizada pela expressão de marcadores específicos de astrócitos (GFAP) envolvidos no controle da secreção neuro-hipofisária (HATTON, 1988; REDECKER, 1987; WITTKOWSKI, 1998). Neste

CVO secretor também há micróglia e macrófagos próximos aos capilares, capazes de influenciar a vasculatura neuro-hipofisária (POW *et al.*, 1989).

Considerando que os CVOs não possuem barreiras efetivas e permitem o contato entre o sangue e o líquido cefalorraquidiano, facilitando a comunicação entre o sistema nervoso central, o sangue periférico e a resposta imune periférica, nossa hipótese é de que o acometimento destas regiões pode contribuir para os mecanismos desencadeantes das lesões observadas no encéfalo dos animais, quer pela ação direta do parasito ou pela produção local de mediadores inflamatórios.

1.5 Fisiologia hipofisária

1.5.1 Adeno-hipófise

A secreção hormonal pela adeno-hipófise é um processo regulado por mecanismos dinâmicos, que envolvem fatores estimulantes e inibitórios hipotalâmicos e sinais de feedback derivados de órgãos-alvo periféricos. Esses fatores ainda interagem com a regulação parácrina e autócrina da glândula, induzindo assim a resposta transcricional, tradução e secreção de hormônios (PEREZ-CASTRO, 2012).

Os hormônios produzidos pela adeno-hipófise são liberados para a circulação sistêmica e órgãos-alvo em “pulsos” a partir do estímulo hipotalâmico. A frequência dos pulsos associada a dificuldade da depuração metabólica determina a manutenção dos picos plasmáticos (AMAR; WEISS, 2003).

Os fatores de regulação produzidos pelo hipotálamo chegam na adeno-hipófise através do sistema porta-hipofisário, controlando a produção de hormônios pelas células epiteliais secretoras especializadas (HONG; PAYNE; JANE JR, 2016). Entre os fatores de regulação hipotalâmicos, incluem-se: o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH); hormônio liberador de tireotrofina (TRH); hormônio liberador de corticotrofina (CRH); fator de liberação de somatotrofina (GRF); somatostatina (SST); fator de inibição de prolactina (PIF); fator de liberação de melanocortina (MSHRF), entre muitos outros peptídeos (AMAR; WEISS, 2003; PEREZ-CASTRO, 2012).

Em síntese, as células somatróficas constituem de 40% a 50% da população de células secretoras da adeno-hipófise, sendo responsáveis pela produção de GH,

hormônio relacionado principalmente ao estímulo do crescimento das epífises ósseas (VALA *et al.*, 2003). Reguladores da síntese de GH incluem múltiplos fatores que interagem com a produção de GnRH, incluindo as concentrações de hormônios tireoidianos, glicocorticóides, grelina e insulina na circulação sistêmica (PEREZ-CASTRO, 2012).

As células tireotróficas são responsáveis pela produção de TSH, uma glicoproteína cuja ligação em seu receptor nas células da tireoide promove a síntese de triiodotironina (T₃) e tiroxina (T₄) (VALA *et al.*, 2003). Mecanismos inibidores da produção de TSH incluem as somatostatinas e principalmente a relação de feedback com os hormônios tireoidianos (AMAR; WEISS, 2003).

As células corticotróficas são responsáveis pela produção de corticotropina (ACTH), que age regulando a liberação de glicocorticóides e aldosterona pela glândula adrenal (AMAR; WEISS, 2003). Alterações fisiológicas como o estresse e injúria produzem impulsos aferentes que estimulam a produção de CRH e ACTH, enquanto o aumento de glicocorticóides na circulação promove o bloqueio da sua produção em nível hipotalâmico e hipofisário (PEREZ-CASTRO, 2012).

As células lactotróficas são responsáveis pela produção de prolactina, hormônio relacionado principalmente ao desenvolvimento da glândula mamária e lactação. Sua regulação envolve múltiplos fatores, incluindo uma íntima relação com as células gonadotróficas, que produzem LH e FSH, visto que estas estão associadas a hormônios gonadais como estradiol, testosterona, progesterona e inibina (PEREZ-CASTRO, 2012).

1.5.2 Neuro-hipófise

A neuro-hipófise tem como principal função o armazenamento e secreção de ocitocina e hormônio antidiurético (ADH), que são sintetizados nos corpos celulares neuronais dos núcleos paraventricular e supraóptico do hipotálamo, respectivamente (AMAR; WEISS, 2003). Este sistema de integração neuroendócrino é denominado eixo hipotalâmico-hipofisário.

A ocitocina e o ADH são liberados no hipotálamo como pró-hormônios, sendo dependentes de proteínas carreadoras co-secretadas denominadas neurofisinas. As

neurofisinas atuam no processamento pós-traducional dos hormônios e no seu transporte em vesículas através dos axônios (AMAR; WEISS, 2003).

Os hormônios são liberados nos terminais axônicos através de exocitose, em resposta a potenciais de ação dependentes de cálcio que atingem suas terminações nervosas (AMAR; WEISS, 2003). Os terminais axônicos da neuro-hipófise estão intimamente relacionados a capilares sanguíneos fenestrados, facilitando a difusão dos mesmos para circulação sistêmica (HONG; PAYNE; JANE JR, 2016).

A ocitocina é um hormônio cujos principais alvos de ação são a glândula mamária e o útero, nos quais promove estímulos contráteis nas células mioepiteliais e musculatura lisa uterina (PEREZ-CASTRO, 2012). A vasopressina ou hormônio antidiurético (ADH) atua em receptores acoplados à proteína G que promovem a formação de segundos mensageiros em resposta à ligação. Esses receptores estão localizados nas células dos ductos coletores renais, endotélio e musculatura lisa vascular, principalmente (HONG; PAYNE; JANE JR, 2016).

Nos túbulos renais, o ADH atua aumentando a permeabilidade dos ductos, de forma a permitir que a água penetre no interstício hipertônico da pirâmide renal, diminuindo o volume final de urina e consequentemente aumentando sua concentração. Esse mecanismo é ativado e útil em uma série de situações relacionadas a diminuição do volume plasmático circulante e/ou aumento da pressão osmótica, afetando diretamente a pressão arterial sistêmica, na qual também atua através da promoção da vasoconstrição (AMAR; WEISS, 2003). A vasopressina também atua de forma parácrina em receptores específicos localizados na hipófise anterior, que promovem o aumento da produção de corticotropina (PEREZ-CASTRO, 2012).

1.6 Leishmaniose Visceral

As leishmanioses são doenças de caráter zoonótico, amplamente distribuídas pelos continentes, cujos transmissores apresentam vasta disseminação em regiões tropicais e em zonas temperadas, afetando humanos e animais domésticos e silvestres (DESJEUX, 1992). Tem como agente etiológico os protozoários pertencentes à ordem *Kinetoplastidae*, família *Trypanosomatidae* e ao gênero *Leishmania* (LAINSON; SHAW, 1987), os quais são transmitidos por fêmeas de

dípteros do gênero *Lutzomyia*, popularmente conhecidos como “mosquito-palha” (DESJEUX, 1992; GRIMALDI; TESH; McMAHON-PRATT, 1989) que albergam a forma promastigota de *Leishmania* spp. em seu organismo. A transmissão das formas promastigotas no hospedeiro vertebrado ocorre durante o repasto sanguíneo do vetor infectado (LAINSON; SHAW, 1987).

Conforme dados emitidos pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS, 2020), em 2019 o Brasil se enquadrrou como o país com a maior taxa de letalidade dentre os cinco países que apresentaram os maiores números de casos de leishmaniose em humanos, demonstrando o impacto desta doença na saúde pública. Por este aspecto, levando em consideração os reservatórios naturais da mesma, os cães têm a maior importância epidemiológica no âmbito doméstico, pois atuam como a fonte de infecção que apresenta maior proximidade com humanos (BRASIL, 2002).

O agente causador da leishmaniose visceral canina (LVC) no Brasil, listada como uma das doenças tropicais mais letais e negligenciadas do mundo (OMS, 2010), é o protozoário *Leishmania infantum*, anteriormente denominado *Leishmania chagasi* (MAURÍCIO; STOTHARD; MILES, 2000). O acompanhamento da infecção causada por este protozoário nas populações canina e humana é dificultado devido subnotificação da doença e de casos subclínicos (SHIMOZAKO; WU; MASSAD, 2017), os quais podem chegar à margem de 40 a 60% dos cães infectados (BRASIL, 2014). Em um estudo realizado a partir de dados do município de Araçatuba, estado de São Paulo, foi demonstrado que a introdução e manutenção da LVC estão interligadas aos flebotomíneos presentes na região e aos cães latentes e clinicamente enfermos, com destaque para os primeiros, uma vez que por estarem aparentemente saudáveis, atuam como fonte de infecção contribuindo para o aumento de animais e humanos infectados (SHIMOZAKO; WU; MASSAD, 2017).

Os flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* sp, ao picarem um hospedeiro vertebrado infectado por *L. infantum*, ingerem macrófagos parasitados pelo protozoário na forma amastigota, a qual é transformada em promastigota no tubo digestivo destes vetores, possibilitando a transmissão para outros hospedeiros suscetíveis (NOLI, 1999). As formas promastigotas são inoculadas na pele do hospedeiro vertebrado durante o repasto sanguíneo, sendo fagocitadas pelas células do sistema mononuclear fagocitário, onde perdem o flagelo e se transformam em amastigotas, que por sua vez iniciam um processo intenso de divisão binária com posterior ruptura dessas células e liberação dos protozoários na circulação, os quais

serão fagocitados novamente ou ingeridos pelo vetor (LAINSON; SHAW, 1987). Dessa forma, as amastigotas são capazes de infectar sistemicamente o organismo do hospedeiro, sendo encontrados nos macrófagos e em outras células do sistema mononuclear fagocitário, principalmente dos órgãos hemolinfáticos, como medula óssea, linfonodos e baço (TAYLOR; COOP; WALL, 2007).

1.6.1 Manifestações clínicas

É reconhecida a diversidade de tropismo de *L. infantum*, o qual permite o desenvolvimento de diversas manifestações clínicas nos hospedeiros (DEDET; PRATLONG, 2009), uma vez que a gravidade de tais sinais está diretamente relacionada com a resposta imunológica do animal. Animais resistentes desencadeiam respostas imunes eficazes por células Th1 pró-inflamatórias, com produção de interleucina-12 (IL-12) e interferon-gama (IFN- γ), além de promover a ativação de óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio (ROS) por meio dos macrófagos. Os cães suscetíveis, por sua vez, produzem resposta Th2, com alta produção de anticorpos e de IgG, associados à superprodução de interleucina-10 (IL-10), em detrimento da produção de IFN- γ e da resposta de células T CD4+, o que leva à progressão da doença (BOGGIATTO *et al.*, 2010; MÜLLER *et al.*, 1989; TIZARD, 2014).

A princípio, a infecção é inaparente; à medida que evolui, podem ser observados sinais clínicos que incluem febre, perda de peso, anemia, poliúria, polidipsia, vômito, hepatomegalia, atrofia muscular generalizada, dermatopatias, como ulceração nas pinas e no nariz, epistaxe e onicogribose. Além disso, a proliferação celular de linfócitos B, citada anteriormente, resulta em linfadenomegalia, esplenomegalia e hiperglobulinemia, levando à formação e deposição de imunocomplexos nas paredes dos vasos sanguíneos, os quais podem acarretar em vasculite, poliartrite, uveíte, glomerulonefrite e no acometimento do sistema nervoso (BANETH, 2006).

Ocasionalmente, manifestações clínicas neurológicas e lesões no sistema nervoso central (SNC) são observadas em cães com LVC. Em estudos, foram relatadas alterações que demonstraram envolvimento do SNC, como telencéfalo, tronco encefálico, cerebelo e nervos cranianos, em cães positivos para a doença, os

quais apresentaram sinais clínicos de alterações no movimento, como incoordenação motora, hipermetria, quedas, tremores de intenção, mioclonia, andar em círculos, episódios de perseguição à cauda, monoparesia, paraparesia, tetraparesia e tetraplegia, além de alterações oculares, incluindo cegueira, anisocoria, midríase bilateral, estrabismo e nistagmo, e outros, como convulsão, ptose facial, disfagia, cabeça inclinada lateralmente, vocalização, déficit proprioceptivo, depressão leve a severa, hipertonicidade dos músculos extensores e dor na região cervical (GIANNUZZI *et al.*, 2017; IKEDA *et al.*, 2007).

1.6.2 Alterações no sistema nervoso central

Estudos sobre a patogênese das manifestações clínico-patológicas neurológicas causadas por *L. infantum* ainda são escassos. Os principais achados patológicos neurológicos são as lesões inflamatórias e complicações vasculares (GIANNUZZI *et al.*, 2017). Em cães naturalmente infectados que apresentavam ou não sinais clínicos neurológicos, foram descritas alterações histológicas, como degeneração neuronal, neuronofagia, meningoencefalite, congestão vascular, infiltrado inflamatório linfoplasmocítico perivascular, focos de micro-hemorragia, radiculoneurite, mielite, plexo coróide, depósitos amiloides e depósitos de imunocomplexos nos vasos sanguíneos do plexo coróide (GARCIA-ALONSO *et al.*, 1996; IKEDA *et al.*, 2007; MACAU *et al.*, 2017; MÁRQUEZ *et al.*, 2012). As alterações foram mais intensas e frequentes nos cães que manifestaram sinais clínicos neurológicos (IKEDA *et al.*, 2007).

Há poucos relatos da identificação de formas amastigotas de *L. infantum* no SNC, embora tenham sido detectadas no tronco encefálico (OLIVEIRA, 2016) e plexo coróide (GRANO *et al.*, 2019). Tal identificação também ocorreram nos espaços extra e intracelular do parênquima da medula espinhal, no telencéfalo, tálamo, plexo coróide, vasos sanguíneos das leptomeninges e em nervos espinhais de um cão naturalmente infectado que recebia glicocorticóides, sugerindo ruptura da barreira sangue-líquido cefalorraquidiano (LCR) e da barreira hematoencefálica (BHE), devido à possível exacerbação da infecção pelo uso deste fármaco (MÁRQUEZ *et al.*, 2012). Entretanto, em cães infectados sem histórico de uso de medicamentos corticosteróides ou anti-*Leishmania* também foram visualizadas formas viáveis do

parasito no citoplasma de macrófagos localizados no espaço perivascular da substância cinzenta do tronco encefálico, na substância branca da medula espinhal cervical e no LCR, corroborando o fato de que *L. infantum* é capaz de penetrar a BHE, disseminar por meio do LCR e infectar o encéfalo e a medula espinhal de cães (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Por outro lado, a presença de DNA do parasita no SNC e LCR usando qPCR é mais frequentemente reportada (CARDINOT *et al.*, 2016; GRANO *et al.*, 2014; MELO *et al.*, 2015).

1.6.3 Patogenia das lesões no encéfalo e permeabilidade das barreiras encefálicas

As alterações histopatológicas descritas no SNC na leishmaniose visceral podem ser decorrentes do efeito direto de *L. infantum* no mesmo, de lesões imunomediadas, de complicações vasculares induzidas por efeitos indiretos, da imunossupressão induzida pelo parasito ou do tratamento farmacológico (GIANNUZZI *et al.*, 2017). Sabe-se que durante uma infecção ativa, células do sistema imunológico são mobilizadas por tecidos linfóides periféricos; para que estas adentrem o parênquima do SNC, são selecionadas e reguladas por barreiras existentes (MASTORAKOS; MCGAVERN, 2019), como a BHE, que protege o SNC de forma anatômica e fisiológica e é constituída por membrana basal, células endoteliais, pericitos, glia limitante e micróglia. Além disso, possui zônulas de oclusão (“*tight junctions*”) entre as células, que não possuem fenestrações (MARCHETTI; ENGELHARDT, 2020).

Devido a estas características, a BHE foi por muito tempo considerada impermeável. No entanto, seu papel na comunicação entre o corpo e o encéfalo durante eventos fisiológicos ou patológicos demonstra que a BHE atua como unidade funcional neurovascular, uma vez que sua composição de células interage em consonância com os neurônios, sendo capazes de responder a estímulos inflamatórios e transmitir esses sinais entre a periferia e o SNC, atuando mais como “interface” entre os sistemas, do que como “barreira” (BANKS, 2016). As células TCD4+ e TCD8+ ativadas possuem passagem limitada através da BHE: entram no espaço perivascular, porém são incapazes de penetrar a membrana basal astrocítica e a glia limitans (ENGELHARDT; SOROKIN, 2009). Alguns fatores astrocíticos já são

conhecidos por promoverem permeabilidade da BHE, entre eles NO, IFN- γ e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (CHEN *et al.*, 2000; LAU; YU, 2001). Além disso, já foi demonstrado que a ação crônica do IFN- γ inibe a via que mantém a integridade estrutural dos pericitos, células envolvidas na formação e manutenção da BHE, o que acarreta em disfunção da mesma, sinalizando um possível mecanismo que correlaciona a inflamação crônica à disfunção da BHE (JANSSON *et al.*, 2016).

1.7 Alterações na hipófise durante doenças sistêmicas

A glândula pituitária tem um papel central na manutenção da homeostase corporal, respondendo a diversos sinais complexos derivados de sistemas centrais e periféricos. Dessa forma, alterações patológicas sistêmicas podem levar a sua desregulação e disfunções no sistema neuro-endócrino (PEREZ-CASTRO *et al.*, 2012). As principais desordens pituitárias são de origem proliferativa (MILLER *et al.*, 2018), porém alterações inflamatórias também são reportadas, sendo a hipofisite linfocítica a mais comum (BELLASTELA *et al.*, 2003).

A hipofisite é uma desordem inflamatória crônica que ocorre na glândula pituitária, de origem primária ou secundária. A hipofisite primária é um distúrbio autoimune de etiologia desconhecida, caracterizado por uma inflamação restrita a glândula pituitária, que não pode ser associada a outros distúrbios inflamatórios sistêmicos (BELLASTELA *et al.*, 2003). Uma série de auto anticorpos contra células hipofisárias já foram descritos na literatura, no entanto, mais pesquisas são necessárias para compreensão dos mecanismos patogênicos na hipofisite primária (LANGLOIS; VARLAMOV; FLESERIU, 2022).

A hipofisite secundária é relacionada a processos inflamatórios locais, induzidos por tumores ou cistos, ou sistêmicos, como outras endocrinopatias autoimunes, utilização de medicamentos, doenças infecciosas, entre outras condições (BELLASTELA *et al.*, 2003; LANGLOIS; VARLAMOV; FLESERIU, 2022).

A inflamação pode acometer todas as porções da hipófise e se estender ao hipotálamo, sendo que a adeno-hipófise é a porção mais frequentemente envolvida e/ou que concentra maior presença de células inflamatórias (LANGLOIS; VARLAMOV; FLESERIU, 2022). Quanto às manifestações clínicas, as hipofisites podem ser subclínicas ou causar disfunções neurológicas e/ou endócrinas,

envolvendo hipofunção ou hiperfunção das células acometidas, devido a compressão ou destruição do tecido adjacente ao infiltrado inflamatório (CATUREGLI *et al.*, 2005; RAO *et al.*, 2016).

Dentre os padrões histopatológicos de hipofisite reconhecidos na literatura, incluem-se: a hipofisite linfocítica, a granulomatosa, a xantomatosa, a relacionada a IgG-4, a necrotizante e as formas mistas, que podem ocorrer tanto na hipofisite primária como secundária, embora o padrão linfocítico seja o mais relatado (LANGLOIS; VARLAMOV; FLESERIU, 2022).

A hipofisite granulomatosa é caracterizada pela presença de granulomas necrosantes formados por histiócitos e plasmócitos que circundam áreas de necrose no parênquima da glândula pituitária (BELLASTELA *et al.*, 2003). Na hipofisite xantomatosa, há infiltrado de histiócitos contendo lipídios em seu citoplasma, associados a moderada quantidade de linfócitos dispersos (BELLASTELA *et al.*, 2003). A hipofisite linfocítica é caracterizada por um infiltrado predominante de linfócitos difusos no interstício da glândula pituitária e/ou multifocal na região dos ácinos da adeno-hipófise (RAO *et al.*, 2016). Os linfócitos ainda podem se apresentar agregados em folículos linfóides com centros germinativos e estarem acompanhados de plasmócitos, macrófagos, eosinófilos e neutrófilos em discreta quantidade (GUBBI *et al.*, 2019). Os linfócitos T CD3⁺ são o principal tipo celular envolvido (RAO *et al.*, 2016) seguidos pelos linfócitos B CD20⁺ (GUBBI *et al.*, 2019). Na hipofisite relacionada a IgG-4 há predomínio de linfócitos B, sendo considerada uma condição rara (BAPTISTA *et al.*, 2017). Com a evolução da inflamação, todos os padrões histológicos podem promover a fibrose da glândula pituitária (GUBBI *et al.*, 2019).

Existem alguns relatos de hipofisite primária ou secundária promovendo ou não distúrbios endócrinos ou neurológicos em cães, no entanto, por ser considerado um quadro esporádico, há muitas limitações e divergências nos relatos (ADISSU; HAMEL-JOLETTE; FOSTER, 2010; BLOMQVIST *et al.*, 2020; MEIJI *et al.*, 2012; MILLER *et al.*, 2018; POLLEDO *et al.*, 2018; WOLFESBERGER *et al.*, 2011).

Em estudos avaliando alterações histopatológicas na glândula pituitária de cães, a prevalência de alterações inflamatórias foi baixa em detrimento de alterações proliferativas (MILLER *et al.*, 2018; POLLEDO *et al.*, 2018). São citadas hipofisites linfocíticas de provável origem autoimune primária (ADISSU; HAMEL-JOLETTE; FOSTER, 2010; MILLER *et al.*, 2018; POLLEDO *et al.*, 2018), bem como hipofisites secundárias a processos infecciosos que podem cursar com meningoencefalite, como

na infecção pelo vírus da cinomose (POLLEDO *et al.*, 2018) e na blastomicose sistêmica (MILLER *et al.*, 2018). A hipofisite em cães é descrita associada a quadros de hipo e hiperadrenocorticismo (ADISSU; HAMEL-JOLETTE; FOSTER, 2010; WOLFESBERGER *et al.*, 2011), hipotireoidismo (ADISSU; HAMEL-JOLETTE; FOSTER, 2010) e diabetes insipidus (MEIJI *et al.*, 2012), demonstrando que, assim como nos humanos, a infiltração linfocítica acentuada afeta a arquitetura hipofisária, podendo levar a sua insuficiência (MEIJI *et al.*, 2012). O eixo hipófise-adrenal parece ser o mais sensível à infiltração inflamatória, estando relacionado a maioria das alterações clínicas observadas em cães (ADISSU; HAMEL-JOLETTE; FOSTER, 2010; BLOMQVIST *et al.*, 2020; MEIJI *et al.*, 2012; WOLFESBERGER *et al.*, 2011).

As hipofisites relacionadas a processos infecciosos bacterianos, fúngicos, virais ou por protozoários são pouco estudadas, mas há relatos em cães (MILLER *et al.*, 2018; POLLEDO *et al.*, 2018), humanos (BEN ABID *et al.*, 2017) e outros animais (ANYOUGU; SHOYINKA; IHEDIOHA, 2022).

Em humanos, há relatos de hipofisite granulomatosa associados a tuberculose, com ou sem envolvimento de outros órgãos e promovendo alterações endócrinas significativas, como diabetes insipidus e hiperprolactinemia (BEN ABID *et al.*, 2017). A tuberculose na glândula pituitária é considerada uma condição extremamente rara e de difícil diagnóstico, que costuma ser identificada através do aumento da hipófise visualizado através de ressonância magnética (BEN ABID *et al.*, 2017). Os protozoários *Trypanosoma brucei* e *T. congolense* também já foram detectados por análise molecular no cérebro e glândula pituitária de ovelhas durante infecção experimental, sendo associados a aumento de cortisol plasmático e hiperplasia da glândula adrenal (ANYOUGU; SHOYINKA; IHEDIOHA, 2022).

1.7.1 Alterações na hipófise durante a leishmaniose

Até o momento, a literatura é inexistente a respeito alterações histopatológicas hipofisárias na leishmaniose, no entanto, a presença de distúrbios endócrinos de origem primária hipofisária já foi relatada em humanos (VERDE *et al.*, 2011) e modelos experimentais (BARROS-GONÇALVES *et al.*, 2021).

É sabido que a resposta imune através da produção de diversas citocinas interage na ativação e inibição de eixos hipofisários (PEREZ-CASTRO *et al.*, 2012;

VERDE *et al.*, 2011). O aumento da produção de corticoides em resposta ao estresse crônico, por exemplo, ocorre a partir da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal por citocinas pró-inflamatórias como interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), interleucina-6 (IL-6) e TNF- α , que também são responsáveis pela inibição da liberação de tireotropina e gonadotrofinas nessas condições (HELMREICH *et al.*, 2005). As infecções crônicas sistêmicas, portanto, como causas de estresse crônico, têm potencial para promover distúrbios na produção hormonal da hipófise e consequentemente de todos os seus órgãos-alvo.

Estudos em pacientes humanos com leishmaniose crônica identificaram sinais de disfunção hipofisária relacionada à produção de ADH, ACTH, TSH e hormônios sexuais (VERDE *et al.*, 2011). A secreção inapropriada de ADH foi relacionada à ocorrência de hiponatremia, considerado um distúrbio eletrolítico associado a mortalidade na leishmaniose humana (DAHER *et al.*, 2017).

Em estudo conduzido com hamsters infectados com *Leishmania infantum*, foi observado aumento significativo de cortisol sérico pós-infecção, que foi ainda correlacionado positivamente ao aumento da expressão gênica de transcritos pró-inflamatórios, como IL-10, fator de crescimento transformador beta (TGF- β) e IL-6 (BARROS-GONÇALVES *et al.*, 2021).

Considerando a suscetibilidade e exposição da hipófise à componentes presentes na circulação, tais como citocinas e agentes infecciosos, a investigação de alterações morfológicas e funcionais na glândula durante a leishmaniose é relevante, visto o tropismo do agente por diversos tecidos e sua capacidade de promover uma resposta imune órgão-específica.

1.8 Justificativa

O desenvolvimento de doença clínica progressiva na Leishmaniose Visceral (LV), por acometer vários tecidos, acarreta em desordem da homeostasia local ou sistêmica. A hipófise é uma glândula responsável pela produção e liberação dos principais hormônios que controlam as demais glândulas do sistema endócrino, e semelhante a outros tecidos pode ser acometida. Portanto, a ausência de literatura sobre alterações hipofisárias durante a LV em cães, reforçam a importância deste estudo.

1.9 Objetivos

Investigar a presença de amastigotas de *Leishmania* spp. e caracterizar alterações inflamatórias destacando o envolvimento de linfócitos T CD3⁺ em diferentes regiões da hipófise de cães.

APÊNDICE A - REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ADISSU, H. A.; HAMEL-JOLETTE, A.; FOSTER, R. A. Lymphocytic adenohypophysitis and adrenalitis in a dog with adrenal and thyroid atrophy. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 47, n. 6, p. 1082-1085, 2010. DOI: 10.1177/0300985810382520. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985810382520>. Acesso em: 3 fev. 2022.

AIYAN, A. A.; MENON, P.; ALDARWICH, A.; ALMUHAIRI, F.; ALNUAIMI, S.; BULSHAWAREB, A.; QABLAN, M.; SHEHAB, S. Descriptive analysis of cerebral arterial vascular architecture in dromedary camel (*Camelus dromedarius*). **Frontiers in Neuroanatomy**, Lausanne, v. 13, artigo 67, 13 p., 2019. DOI: 10.3389/fnana.2019.00067. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnana.2019.00067/full>. Acesso em: 24 fev. 2022.

ALRAHMAN, H. M. A.; SHEHAN, N. A.; SAUD, Z. A. H. Anatomical and histological characteristics of pituitary gland in domestic animals. **Multidisciplinary Reviews**, Mossoró, v. 5, n. 2, artigo e2022010, 6 p., 2022. DOI: 10.31893/multirev.2022010. Disponível em: <https://malque.pub/ojs/index.php/mr/article/view/299>. Acesso em: 24 fev. 2022.

AMAR, A. P.; WEISS, M. H. Pituitary anatomy and physiology. **Neurosurgery Clinics of North America**, Philadelphia, v. 14, n. 1, p. 11-23, 2003. DOI: 10.1016/s1042-3680(02)00017-7. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12690976/>. Acesso em: 5 jan. 2021.

ANYOGU, D. C.; SHOYINKA, S. V. O.; IHEDIOHA, J. I. Brain and pituitary-adrenal lesions of *Trypanosoma brucei brucei* and *Trypanosoma congolense* infections in the West African Dwarf rams: Is trypanotolerance overrated? **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 59, n. 5, p. 773-781, 2022. DOI: 10.1177/03009858221100432. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/03009858221100432>. Acesso em: 7 set. 2022.

BAKER, M. A. A brain-cooling system in mammals. **Scientific American**, New York, v. 240, n. 5, p. 130-139, 1979. DOI: 10.1038/scientificamerican0579-130. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/451531/>. Acesso em: 23 abr. 2021.

BANETH, G.; KOUTINAS, A. F.; SOLANO-GALLEGO, L.; BORDEAU, P.; FERRER, L. Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 24, n. 7, p. 324-330, 2008. DOI: 10.1016/j.pt.2008.04.001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18514028/>. Acesso em: 2 fev. 2021.

BANETH, G. Leishmaniasis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3. ed. Philadelphia: Saunders, 2006. Cap. 73, p. 686-698.

BANKS, W. A. From blood-brain barrier to blood-brain interface: new opportunities for CNS drug delivery. **Nature Reviews Drug Discovery**, London, v. 15, n. 4, p. 275-292, 2016. DOI: 10.1038/nrd.2015.21. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrd.2015.21>. Acesso em: 23 abr. 2021.

BAPTISTA, B.; CASIAN, A.; GUNAWARDENA, H.; D'CRUZ, D.; RICE, CM. Neurological manifestations of IgG4-related disease. **Current Treatment Options in Neurology**, Philadelphia, v. 19, n. 4, artigo 14, 25 p., 2017. DOI: 10.1007/s11940-017-0450-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28374231/>. Acesso em: 20 set. 2022.

BARROS-GONÇALVES, T. D.; SAAVEDRA, A. F.; SILVA-COUTO, L.; RIBEIRO-ROMÃO, R. P.; BEZERRA-PAIVA, M.; GOMES-SILVA, A.; CARVALHO, V. F.; CRUZ, A. M.; PINTO, E. F. Increased levels of cortisol are associated with the severity of experimental visceral leishmaniasis in a leishmania (L.) infantum hamster model. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 15, n. 11, artigo e0009987, 17 p., 2021. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009987. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0009987>. Acesso em: 23 abr. 2021.

BELLASTELLA, A.; BIZARRO, A.; CORONELLA, C.; BELLASTELLA, G.; SINISI, A. A.; BELLIS, A. Lymphocytic hypophysitis: a rare or underestimated disease? **European Journal of Endocrinology**, Oslo, v. 149, n. 5, p. 363-376, 2003. DOI: 10.1530/eje.0.1490363. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14585081/>. Acesso em: 15 ago. 2021.

BEN ABID, F.; ABUKHATTAB, M.; KARIM, H.; AGAB, M.; AL-BOZOM, I.; IBRAHIM, W. H. Primary pituitary tuberculosis revisited. **American Journal of Case Reports**, Smithtown, v. 18, p. 391-394, 2017. DOI: 10.12659/ajcr.903233. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28400550/>. Acesso em: 20 set. 2020.

BENTIVOGLIO, M.; KRISTENSSON, K.; ROTTENBERG, M. E. Circumventricular organs and parasite neurotropism: neglected gates to the brain? **Frontiers in Immunology**, Lasanne, v. 9, artigo 2877, 9 p., 2018. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02877. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30619260/>. Acesso em: 10 out. 2020.

BLACK, E. A. E.; CANCELLIERE, N. M.; FERGUSON, A. V. Regulation of nervous system function by circumventricular organs. In: IKEZU, T.; GENDELMAN, H. E. (Eds.). **Neuroimmune pharmacology**. 2. ed. [Heidelberg]: Springer, 2017. p. 25-37. DOI: 10.1007/978-3-319-44022-4_3. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/311857873_Regulation_of_Nervous_System_Function_by_Circumventricular_Organs. Acesso em: 15 nov. 2022.

BLOMQVIST, M. A.; LEY, C.; KARLSSON, H. K.; HANSON, J. M. Presence of CD3+ and CD79a+ lymphocytes in the pituitary gland of dogs at post-mortem examination. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 176, p. 116-121, 2020. DOI: 10.1016/j.jcpa.2020.02.010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32359623/>. Acesso em: 3 out. 2021.

BOGGIATTO, P. M.; RAMER-TAIT, A. E.; METZ, K.; KRAMER, E. E.; GIBSON-CORLEY, K.; MULLIN, K.; HOSTETTER, J. M.; GALLUP, J. M.; JONES, D. E.; PETERSEN, C. A. Immunologic indicators of clinical progression during Canine *Leishmania infantum* Infection. **Clinical and Vaccine Immunology**, Washington, DC, v. 17, n. 2, p. 267-273, 2010. DOI: 10.1128/CVI.00456-09. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20032217/>. Acesso em: 15 out. 2020.

BOTTASSO, O.; MORALES-MONTOR, J. Neuroimmunomodulation during infectious diseases: Mechanisms, causes and consequences for the host. **NeuroImmunoModulation**, Basel, v. 16, n. 2, p. 65–67, 2009. DOI: 10.1159/000180260. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19212125/>. Acesso em: 18 set. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Boletim eletrônico Epidemiológico: Leishmanioses**, Brasília-DF, v. 2, n. 6, 13 dez. 2002. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/periodicos/boletim_eletronico_epi_ano02_n06.pdf. Acesso em: 28 nov. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília, DF, 2014.

CARDINOT, C. B.; SILVA, J. E. S.; YAMATOGLI, R. S.; NUNES, C. M.; BIONDO, A. W.; VIEIRA, R. F. C.; ARAUJO JUNIOR, J. P. A.; MARCONDES, M. Detection of Ehrlichia canis, Babesia vogeli, and Toxoplasma gondii DNA in the brain of dogs naturally infected with Leishmania infantum. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 102, n. 2, p. 275-279, 2016. DOI: 10.1645/15-821. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26765523/>. Acesso em: 5 set. 2020.

CATUREGLI, P.; NEWSCHAFER, C.; OLIVI, A.; POMPER, M. G.; BURGER, P. C.; ROSE, N. R. Autoimmune hypophysitis. **Endocrine Reviews**, Chevy Chase, v. 26, n. 5, p. 599-614, 2005. DOI: 10.1210/er.2004-0011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15634713/>. Acesso em: 10 set. 2021.

CHEN, Y.; McCARRON, R. M.; AZZAM, N.; BEMBRY, J.; REUTZLER, C.; LENZ, F. A.; SPATZ, M. Endothelin-1 and nitric oxide affect human cerebrovascular endothelial responses and signal transduction. **Acta Neurochirurgica. Supplementum**, Wien, v. 76, p. 131-135, 2000. DOI: 10.1007/978-3-7091-6346-7_27. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11449992/>. Acesso em: 13 set. 2022.

DAHER, E. F.; SOARES, D. S.; PARENTE FILHO, S. L. A.; MENESES, G. C.; FREITAS, T. V. S.; LEITE, T. T.; SILVA JUNIOR, G. B. S. Hyponatremia and risk factors for death in human visceral leishmaniasis: New insights from a cross-sectional study in Brazil. **BMC Infectious Diseases**, London, v. 17, n. 1, artigo 168, 8 p., 2017. DOI: 10.1186/s12879-017-2257-4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28231825/>. Acesso em: 20 set. 2021.

DANIEL, P. M. Anatomy of the hypothalamus and pituitary gland. **Journal of Clinical Pathology. Supplement (Association of Clinical Pathologists)**, London, v. 7, 7 p.,

1976. DOI: 10.1136/jcp.s1-7.1.1. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1073162/>. Acesso em: 15 ago. 2022.

DEDET, J. P.; PRATLONG, F. Protozoan infections: Leishmaniasis. In: COOK, G. C; ZUMLA, A. I. **Manson's tropical diseases**. 22. ed. Amsterdam: Elsevier, 2009. Cap. 77, p. 1341-1366.

DELLMAN, H. D. Structure of the subfornical organ: a review. **Miscroscopy Research and Technique**, New York, v. 41, n. 2877, p. 85-97, 1998. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0029(19980415)41:2<85::AID-JEMT1>3.0.CO;2-P. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9579597/>. Acesso em: 15 ago. 2022.

DESJEUX, P. Human leishmaniasis: epidemiology and public health aspects. **World Health Statistics Quarterly**, Genève, v. 45, n. 2-3, p. 267-275, 1992.

ENGELHARDT, B.; SOROKIN, L. The blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: function and dysfunction. **Seminars in Immunopathology**, Berlin, v. 31, n. 4, p. 497-511, 2009. DOI: 10.1007/s00281-009-0177-0. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19779720/>. Acesso em: 15 ago. 2022.

EVANS, H. E. The heart and arteries. In: EVANS, H. E. **Miller's anatomy of the dog**. 3. ed. Philadelphia: Saunders, 1993. p. 586-682.

FLETCHER, T. F. Spinal cord and meninges. In: EVANS, H. E. **Miller's anatomy of the dog**. 3. ed. Philadelphia: Saunders, 1993. p. 559-585.

GARCIA-ALONSO, M.; NIETO, C. G.; BLANCO, A.; REQUENA, J. M.; ALONSO, C.; NAVARRETE, I. Presence of antibodies in the aqueous humour and cerebrospinal fluid during *Leishmania* infections in dogs. Pathological features at the central nervous system. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 18, n. 11, p. 539-546, 1996. DOI: 10.1046/j.1365-3024.1996.d01-28.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-3024.1996.d01-28.x>. Acesso em: 18 set. 2021.

GIANNUZZI, A. P.; RICCIARDI, M.; SIMONE, A.; GERNONE, F. Neurological manifestations in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: descriptions of 10 cases and a review of the literature. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 58, n. 3, p. 125-138, 2017. DOI: doi: 10.1111/jsap.12650. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jsap.12650>. Acesso em: 18 set. 2021.

GRANO, F. G.; SILVA, J. E. S.; MELO, G. D.; MACHADO, G. F. Leishmania hide-and-seek: parasite amastigotes in the choroid plexus of a dog with neurological signs in an endemic municipality in Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, Amsterdam, v. 17, artigo 100291, 4 p., ago. 2019. DOI: 10.1016/j.vprsr.2019.100291. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405939019300383>. Acesso em: 18 set. 2021.

GRANO, F. G.; MELO, G. D.; BELINCHÓN-LORENZO, S.; GÓMEZ-NIETO, L. C.; MACHADO, G. F. First detection of *Leishmania infantum* DNA within the brain of

naturally infected dogs. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 204, n. 3-4, p.376-380, 2014. DOI: 10.1016/j.vetpar.2014.05.015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401714002945>. Acesso em: 15 set. 2021.

GRIMALDI, J. R.; TESH, R. B.; McMAHON-PRATT, D. A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the new world. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 41, n. 6, p. 687-725, 1989. DOI: 10.4269/ajtmh.1989.41.687. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2701633/>. Acesso em: 2 fev. 2021.

GUBBI, S.; HANNAH-SHMOUNI, F.; VERBALIS, J. G.; KOCH, C. A. Hypophysitis: an update on the novel forms, diagnosis and management of disorders of pituitary inflammation. **Best Practice and Research. Clinical Endocrinology and Metabolism**, Amsterdam, v. 33, n. 6, artigo 101371, 26 p., 2019. DOI: 10.1016/j.beem.2019.101371. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31866206/>. Acesso em: 2 nov. 2021.

HATTON, G. I. Pituicytes, glia and control of terminal secretion. **Journal of Experimental Biology**, London, v. 139, p. 67-79, 1988. DOI: 10.1242/jeb.139.1.67. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3062122/>. Acesso em: 2 nov. 2021.

HELMREICH, D. L.; PARFITT, D. B.; LU, X.-Y.; AKIL, H.; WATSON, S. J. Relation between the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid (HPT) axis and the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal (HPA) axis during repeated stress. **Neuroendocrinology**, Basel, v. 81, n. 3, p. 183-192, 2005. DOI: 10.1159/000087001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16020927/>. Acesso em: 2 nov. 2021.

HIGASHI, A. Y.; HIGASHI, T.; FURUSE, K.; OZEKI, K.; FURUSE, M.; CHIBA, H. Claudin-9 constitutes tight junctions of folliculo-stellate cells in the anterior pituitary gland. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, artigo 21642, 14 p., 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-01004-z. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-01004-z>. Acesso em: 2 nov. 2021.

HONG, G. K.; PAYNE, S. C.; JANE JR, J. A. Anatomy, physiology, and laboratory evaluation of the pituitary gland. **Otolaryngologic Clinics of North America**, Philadelphia, v. 49, n. 1, p. 21-32, 2016. DOI: 10.1016/j.otc.2015.09.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26614827/>. Acesso em: 15 ago. 2022.

HOSEIN, S.; BLAKE, D. P.; SOLANO-GALLEGU, L. Insights on adaptive and innate immunity in canine leishmaniasis. **Parasitology**, London, v. 144, n. 1, p. 95-115, 2017. DOI: 10.1017/S003118201600055X. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27094260/>. Acesso em: 28 jul. 2021.

IKEDA, F. A.; LAURENTI, M. D.; CORBETT, C. E.; FEITOSA, M. M.; MACHADO, G. F.; PERRI, S. H. V. Histological and immunohistochemical study of the central nervous system of dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 5-11, 2007. DOI: 10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2007.26653. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26653>. Acesso em: 15 set. 2021.

JANSSON, D.; SCOTTER, E. L.; RUSTENHOVEN, J.; COPPIETERS, N.; SMYTH, L. C. D.; OLDFIELD, R. L.; BERGIN, P. S.; MEE, E. W.; GRAHAM, E. S.; FAULL, R. L. M.; DRAGUNOW, M. Interferon- γ blocks signalling through PDGFR β in human brain pericytes. **Journal of Neuroinflammation**, London, v. 13, artigo 249, 19 p., 2016. DOI: 10.1186/s12974-016-0722-4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27654972/>. Acesso em: 15 set. 2022.

JOHNSON, A. K.; GROSS, P. M. Sensory circumventricular organs and brain homeostatic pathways. **FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, Bethesda, v. 7, n. 8, p. 678-686, 1993. DOI: 10.1096/fasebj.7.8.8500693. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8500693/>. Acesso em 15 set. 2022.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. **Histologia básica: texto e atlas**. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

KAUR, C.; LING, E.-A. The circumventricular organs. **Histology and Histopathology**, Murcia, v. 32, n. 9, p. 879-892, 2017. DOI: 10.14670/HH-11-881. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28177105/>. Acesso em: 15 set. 2022.

KELLEY, K. W.; SHIMADA, A. Neuroinflammation and the blood-brain interface: new findings in brain pathology. **Clinical and Experimental Neuroimmunology**, Richmond, v. 11, n. 1, p. 16-20, 2020. DOI: 10.1111/cen3.12558. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cen3.12558>. Acesso em: 22 set. 2022.

KIELTYKA-KURC, A.; FRACKOWIAK, H.; BRUDNICKI, W. The arteries of brain base in species of the cervid family. **Anatomical Record**, Hoboken, v. 298, n. 4, p. 735-740, 2015. DOI: 10.1002/ar.23096. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25399744/>. Acesso em: 15 set. 2022.

KIPPENES, H.; GAVIN, P. R.; KRAFT, S. L.; SANDE, R. D.; TUCKER, R. L. Mensuration of the normal pituitary gland from magnetic resonance images in 96 dogs. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, Oxford, v. 42, n. 2, p. 130-133, 2001. DOI: 10.1111/j.1740-8261.2001.tb00915.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1740-8261.2001.tb00915.x>. Acesso em: 20 set. 2022.

KROUT, K. E.; KAWANO, J.; METTENLEITER, T. C.; LOEWY, A. D. CNS inputs to the suprachiasmatic nucleus of the rat. **Neuroscience**, Oxford, v. 110, n. 1, p. 73-92, 2002. DOI: 10.1016/s0306-4522(01)00551-6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11882374/>. Acesso em: 20 set. 2022.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R. **The leishmaniasis in biology and medicine**. London: Academic Press, 1987. Cap. 1, p. 2-104.

LANGLOIS, F.; VARLAMOV, E. V.; FLESERIU, M. Hypophysitis, the growing spectrum of a rare pituitary disease. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Cary,

v. 107, n. 1, p. 10-28, 2022. DOI: 10.1210/clinem/dgab672. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34528683/>. Acesso em: 15 set. 2022.

LAU, L. T.; YU, A. CH. Astrocytes produce and release interleukin-1, interleukin-6, tumor necrosis factor alpha and interferon-gamma following traumatic and metabolic injury. **Journal of Neurotrauma**, Larchmont, v. 18, n. 3, p. 351-359, 2001. DOI: 10.1089/08977150151071035. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11284554/>. Acesso em: 14 jul. 2022.

LI, L.; ZHANG, H.; VARRIN-DOYER, M.; ZAMVIL, S. S.; VERKMAN, A. S. Proinflammatory role of aquaporin-4 in autoimmune neuroinflammation. **FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, Bethesda, v. 25, n. 5, p. 1556-1566, 2011. DOI: 10.1096/fj.10-177279. Disponível em: <https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1096/fj.10-177279>. Acesso em: 15 jul. 2022.

LO, A. C.; CHEN, A. Y. S.; HUNG, V. K. L.; YAW, L. P.; FUNG, M. K. L.; HO, M. C. Y.; TSANG, M. C. S.; CHUNG, S. S. M.; CHUNG, S. K. Endothelin-1 overexpression leads to further water accumulation and brain edema after middle cerebral artery occlusion via aquaporin 4 expression in astrocytic end-feet. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, New York, v. 25, n. 8, p. 998-1011, 2005. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600108. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15815585/>. Acesso em: 15 jul. 2022.

MACAU, W. L.; SÁ, J. C.; SILVA, A. P. C.; ROCHA, A. L.; MONDÊGO-OLIVEIRA, R.; ANDRADE, F. H. E.; CUNHA, C. M.; CALABRESE, K. S.; ABREU-SILVA, A. L. Main lesions in the central nervous system of dogs due to *Leishmania infantum* infection. **BMC Veterinary Research**, London, v. 13, artigo 255, 4 p., 2017. DOI: 10.1186/s12917-017-1174-5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28821261/>. Acesso em: 20 set. 2021.

MARCHETTI, L.; ENGERLHARDT, B. Immune cell trafficking across the blood-brain barrier in the absence and presence of neuroinflammation. **Vascular Biology**, Bristol, v. 2, n. 1, p. H1-H18, 2020. DOI: 10.1530/VB-19-0033. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32923970/>. Acesso em: 15 jun. 2022.

MÁRQUEZ, M.; PEDREGOSA, J. R.; LÓPEZ, J.; MARCO-SALAZAR, P.; FONDEVILA, D.; PUMAROLA, M. *Leishmania* amastigotes in the central nervous system of a naturally infected dog. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Thousand Oaks, v. 25, n. 1, p. 142-146, 2012. DOI: 10.1177/1040638712466728. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23166183/>. Acesso em: 2 set. 2021.

MASTORAKOS, P.; MCGAVERN, D. The anatomy and immunology of vasculature in the central nervous system. **Science Immunology**, Washington, DC, v. 4, n. 37, artigo eaav0492, 29 p., 2019. DOI: 10.1126/sciimmunol.aav0492. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31300479/>. Acesso em: 15 set. 2022.

MAURÍCIO, I. L.; STOTHARD, J. R.; MILES, M. A. The strange case of *Leishmania chagasi*. **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 16, n. 5, p. 188-189, 2000. DOI:

10.1016/s0169-4758(00)01637-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10782075/>. Acesso em: 23 mar. 2021.

MEIJ, B. P.; VOORHOUT, G.; GERRITSEN, R. J.; GRINWIS, G. C. M.; IJZER, J. Lymphocytic hypophysitis in a dog with diabetes insipidus. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 147, n. 4, p. 503-507, 2012. DOI: 10.1016/j.jcpa.2012.04.006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22789859/>. Acesso em: 2 abr. 2022.

MELO, G. D.; SILVA, J. E.; GRANO, F. G.; SOUZA, M. S.; MACHADO, G. F. Leishmania infection and neuroinflammation: specific chemokine profile and absence of parasites in the brain of naturally- infected dogs. **Journal of Neuroimmunology**, Amsterdam, v. 289, p. 21-29, 2015. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2015.10.004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26616868/>. Acesso em: 2 abr. 2022.

MILLER, M. A.; BRUYETTE, D. S.; SCOTT-MONCRIEFF, J. C.; OWEN, T. J.; RAMOS-VARA, J. A.; WENG, H.-Y.; VANDERPOOL, A. L.; CHEN, A. V.; MARTIN, L. G.; DUSOLD, D. M.; JAHAN, S. Histopathologic findings in canine pituitary glands. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 55, n. 6, p. 871-879, 2018. DOI: 10.1177/0300985818766211. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985818766211>. Acesso em: 14 nov. 2021.

MORITA, S.; FURUBE, E.; MANNARI, T.; OKUDA, H.; TATSUMI, K.; WANAKA, A.; MIYATA, S. Heterogeneous vascular permeability and alternative diffusion barrier in sensory circumventricular organs of adult mouse brain. **Cell and Tissue Research**, Berlin, v. 363, n. 2, p. 497-511, 2016. DOI: 10.1007/s00441-015-2207-7. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26048259/>. Acesso em: 19 nov. 2021.

MÜLLER, I.; PEDRAZZINI, T.; FARRELL, J. P.; LOUIS, J. T-Cell responses and immunity to experimental infection with *Leishmania major*. **Annual Review of Immunology**, Palo Alto, v. 7, p. 561-578, 1989. DOI: 10.1146/annurev.iy.07.040189.003021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2653376/>. Acesso em: 19 nov. 2021.

NOLI, C. Canine leishmaniasis. **Waltham Focus**, Puteaux, v. 9, n. 2, p. 16-24, 1999.

OLIVEIRA, V. C.; BOECHAT, V. C.; MENDES JUNIOR, A. A. V.; MADEIRA, M. F.; FERREIRA, L. C.; FIGUEIREDO, F. B.; CAMPOS, M. P.; RODRIGUES, F. C. C.; OLIVEIRA, R. V. C.; AMENDOEIRA, M. R. R.; MENEZES, R. C. Occurrence of *Leishmania infantum* in the central nervous system of naturally infected dogs: parasite load, viability, co-infections and histological alterations. **Plos One**, San Francisco, v. 12, n. 4, artigo e0175588, 15 p. 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0175588. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28419136/>. Acesso em: 2 nov. 2021.

OLIVEIRA, V. C. **Ocorrência de *Leishmania infantum* em sistema nervoso central de cães naturalmente infectados**: lesões associadas e isolamento parasitológico de tecidos e líquido. 2016. 99 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Control of the leishmaniasis**. Geneva: OMS, 2010. (WHO Technical Report Series).

OPAS - ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Leishmanioses: informe epidemiológico nas Américas. **Leishmaniasis Report**, n. 9, dez. 2020. Washington, D.C.: OPAS, 2020.

PEREZ-CASTRO, C.; RENNER, U.; HAEDO, M. R.; STALLA, G. K.; ARZT, E. Cellular and molecular specificity of pituitary gland physiology. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 92, n. 1, p. 1-38, 2012. DOI: 10.1152/physrev.00003.2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22298650/>. Acesso em: 15 set. 2022.

PÓCSAI, K.; KÁLMÁN, M. Glial and perivascular structures in the subfornical organ: distinguishing the shell and core. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, Thousand Oaks, v. 63, n. 5, p. 367-383, 2015. DOI: 10.1369/0022155415575027. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25673286/>. Acesso em: 15 set. 2022.

POLLEDO, L.; GRINWIS, G. C. M.; GRAHAM, P.; DUNNING, M.; BAIKER, K. Pathological findings in the pituitary glands of dogs and cats. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 55, n. 6, p. 880-888, 2018. DOI: 10.1177/0300985818784162. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29929454/>. Acesso em: 19 set. 2022.

POW, D. V.; PERRY, V. H.; MORRIS, J. F.; GORDON, S. Microglia in the neurohypophysis associate with and endocytose terminal portions of neurosecretory neurons. **Neuroscience**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 567-578, 1989. DOI: 10.1016/0306-4522(89)90409-0. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0306452289904090>. Acesso em: 2 nov. 2022.

RAO, S.; MAHADEVAN, A.; MAITI, T.; RANJAN, M.; SHWETHA, S. D.; ARIVAZHAGAN, A.; SAINI, J. Granulomatous and lymphocytic hypophysitis – are they immunologically distinct? **Apmis: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica**, Copenhagen, v. 124, n. 12, p. 1072-1077, 2016. DOI: 10.1111/apm.12603. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27704605/>. Acesso em: 15 abr. 2022.

REDECKER, P. Golgi-like immunostaining of pituicytes and tanocytes positive for glial fibrillary acidic protein in the neurohypophysis of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). **Histochemistry**, Berlim, v. 87, n. 6, p. 585-595, 1987. DOI: 10.1007/BF00492475. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3692925/>. Acesso em: 18 jun. 2022.

SEYAMA, S.; PEARL, G. S.; TAKEI, Y. Ultrastructural study of the human neurohypophysis. III. Vascular and perivascular structures. **Cell and Tissue Research**, Berlin, v. 206, n. 2, p. 291-302, 1980. DOI: 10.1007/BF00232773. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7388893/>. Acesso em: 19 set. 2022.

SHIMOZAKO, H. J.; WU, J.; MASSAD, E. Mathematical modelling for Zoonotic Visceral Leishmaniasis dynamics: a new analysis considering update parameters and notified human Brazilian data. **Infectious Disease Modelling**, Beijing, v. 2, n. 2, p.

143-160, 2017. DOI: 10.1016/j.idm.2017.03.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29928734/>. Acesso em: 15 set. 2022.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. Parasites of dogs and cats: parasites of the liver. *In*: TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Veterinary parasitology**. 3. ed. Oxford: Blackwell, 2007. Cap. 6, p. 980-983.

TIZARD, I. R. Imunidade a parasitas: imunidade a protozoários. *In*: TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 9 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. cap. 27, p. 672-673.

VALA, H.; MESQUITA, J. R.; ESTEVES, F.; SANTOS, C.; CRUZ, R.; MEGA, C.; NÓBREGA, C. The endocrine glands in the dog: from the cell to hormone. *In*: PAYAN-CARREIRA, R. (Ed.). **Insights from veterinary medicine**. London: IntechOpen, 2013. DOI: 10.5772/53577. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/43183>. Acesso em: 15 set. 2022.

VAN DER VLUGT-MEIJER, R.H.; VOORHOUT, G.; MEIJ, B. P. Imaging of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Molecular and Cellular Endocrinology**, Amsterdam, v. 197, n. 1-2, p. 81-87, 2002. DOI: 10.1016/s0303-7207(02)00282-4. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/12431800>. Acesso em: 03 abr. 2022.

VERDE, F. A. L.; VERDE, F. A. A. L.; SABOIA NETO, A.; ALMEIDA, P. C.; VERDE, E. M. L. Hormonal disturbances in visceral leishmaniasis (kala-azar). **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 84, n. 5, p. 668-673, 2011. DOI: 10.4269/ajtmh.2011.09-0171. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21540373/>. Acesso em: 17 nov. 2021.

WITTKOWSKI, W. Tanycytes and pituicytes: morphological and functional aspects of neuroglial interaction. **Microscopy Research and Technique**, Hoboken, v. 41, n. 1, p. 29-42, 1998. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0029(19980401)41:1<29::AID-JEMT4>3.0.CO;2-P. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9550135/>. Acesso em: 16 set. 2022.

WOLFESBERGER, B.; FUCHS-BAUMGARTINGER, A.; SCHWENDENWEIN, I.; ZEUGSWETTER, F.; SHIBLY, S. Sudden death in a dog with lymphoplasmacytic hypophysitis. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 145, n. 2-3, p. 231-234, 2011. DOI: 10.1016/j.jcpa.2011.01.004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21392780/>. Acesso em: 3 abr. 2022.

ZGUIGAL, H. Angioarchitecture of the nasal cavity and the carotid rete-cavernous sinus complex and their functional significance in the camel (*Camelus dromedarius*). 197 f. Dissertação (Doutorado em Filosofia) - Iowa State University, Iowa, 1988.