

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

ATUALIZAÇÕES NA NEUROPATHOGENIA DA CINOMOSE

LUANDA FERREIRA CIPRIANO

BOTUCATU, SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

ATUALIZAÇÕES NA NEUROPATOGENIA DA CINOMOSE

LUANDA FERREIRA CIPRIANO

Dissertação apresentada junto ao programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Campus de Botucatu, para obtenção de título de Mestre.

Área: Enfermidades infecciosas dos animais

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Paes

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Cipriano, Luanda Ferreira.

Atualizações na neuropatogenia da cinomose / Luanda
Ferreira Cipriano. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Antônio Carlos Paes

Capes: 50502034

1. Cinomose. 2. Encefalite. 3. Desmielinização.
4. Morbillivírus.

Palavras-chave: Desmielinização; Encefalite;
Morbillivirus.

Nome da Autora: Luanda Ferreira Cipriano

Título: Atualizações na neuropatogenia da cinomose

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Carlos Paes

Presidente e orientador

Higiene e saúde pública/

FMVZ – UNESP - Botucatu

Prof^ª Dr^ª Noeme Sousa Rocha

Membro

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP - Botucatu

Prof^ª Dr^ª Leila Sabrina Ullmann

Membro

Instituto de Biotecnologia - IBTEC

UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Rogério Martins Amorim

Membro Suplente

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP - Botucatu

Prof^ª Dr^ª Tatianna Frate Schwardt De Nardo

Membro Suplente

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade Qualittas

Data da defesa: 05/07/2021

Dedicatória

Aos meus pais Luiz e Iolanda, aos meus irmãos Sandro Luiz e Flávia e ao meu sobrinho Davi, pelo apoio, paciência, amor e por não medirem esforços para que eu alcance a minha vocação.

A Nossa Senhora, por tudo que tenho, tudo que sou, tudo que fiz e farei.

"Totus tuus ego sum Mariae et omnia mea tua sunt. "

Agradecimentos Oficiais

Ao meu orientador, professor Dr. Antônio Carlos Paes, pela orientação, ajuda, apoio, incentivo e paciência para que eu pudesse “salvar o meu mestrado”. Sinto-me honrada e grata ao senhor pela oportunidade de ser sua orientanda na pós-graduação.

Aos professores da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária (FMVZ) da Unesp, que foram mestres excepcionais na arte de ensinar e conduzir. Cresci muito sendo aluna de vocês!

À banca de qualificação, professores Dr. Cassiano e Dr. Márcio pelas contribuições a este trabalho.

À banca de defesa, professores Dra. Noeme, Dra. Leila, Dr. Rogério e Dra. Tatianna pela disponibilidade em me avaliar e contribuir para o aprimoramento desta dissertação.

Ao Colegiado da Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Unesp- Botucatu, em especial à coordenadora professora Dra. Renée e aos representantes de discentes André e Lohaine, pelo apoio e acolhimento durante o mestrado.

Ao Carlos Roberto da Seção Técnica de Pós-Graduação, pela atenção e trabalho de excelência na orientação ao pós-graduando.

À professora Noeme, por ajudar na seleção e laudo das imagens de histopatologia.

Ao CNPQ, pela bolsa de mestrado que foi essencial para a minha permanência em Botucatu.

À CAPES, pela assistência financeira. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001”

Agradecimentos pessoais

A Deus, pelo amor incondicional, cuidado e por possibilitar que tudo seja possível na minha vida.

Aos meus pais, pelo apoio, carinho, cuidado e dedicação para que este mestrado se tornasse possível.

Aos meus irmãos, pela alegria de tê-los por perto, pela parceria, amizade e apoio de sempre.

Ao meu sobrinho lindo, Davi, pela alegria e amor que ele me trouxe desde que nasceu.

Ao meu namorado, Demétrius, pela parceria, amizade e companheirismo que tornaram mais agradável esse tempo em Botucatu.

Aos meus amigos da Pós-Graduação, Ísis, Rodrigo, Ana Paula da Biotecnologia, Ana Paula da Medicina Veterinária, Arthur, Ana Carolina, Viviane, João Baqui e Raíssa que me incentivaram, me ouviram, me apoiaram e fizeram deste período de mestrado um tempo especial.

Aos meus amigos de sempre, Mariana, Érica, Roberta, Letícia, Ana Keila, Christiane e tantos outros, pela companhia da caminhada e por tornarem a minha trajetória mais bonita.

Aos residentes do setor de Moléstias Infecciosas (MI), Beatriz, Gabrielly, Marcelo, Carolina, Carmem, Thaís, Thiago e Larissa, por encaminharem os casos de cães com cinomose que vieram a óbito para a coleta de encéfalo, e por ajudarem nos procedimentos ambulatoriais.

Ao laboratório Objetiva Vet, pela confecção das lâminas de histopatologia.

*"Nada te perturbe, Nada te espante,
Tudo passa, Deus não muda,
A paciência tudo alcança;
Quem a Deus tem, Nada lhe falta:
Só Deus basta" Santa Tereza D'Ávila*

"Não importa a cor do céu, quem faz o dia bonito é você!"

Autor Desconhecido

"Aliás, sabemos que todas as coisas concorrem para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são os eleitos, segundo os seus desígnios." Rm 8:28

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1: Representação da distribuição global aproximada de Morbillivirus ao longo da história.

- (a) *Morbillivirus* (azul) e Rinderpest morbillivirus (verde) são os mais antigos *Morbillivirus* que se espalharam ao longo de antigas rotas comerciais (setas vermelhas).....09
- (b) A Importação de *Morbillivirus* para o Novo Mundo e o vírus da cinomose canina (vermelho) para o Velho Mundo durante a Era da Exploração.....09
- (c) Propagação de Rinderpest morbillivirus para a África e Ásia devido ao movimento transfronteiriço de gado e estabelecimento do primeiro Morbillivirus distribuído globalmente. Descoberta da peste de ruminantes (laranja claro), peste bovina (laranja escuro) e Morbillivirus em cetáceos como as focas, respectivamente. O desenvolvimento de vacinas atenuadas contra o Morbillivirus em diferentes espécies trouxe um maior controle da doença em diversas partes do mundo.....09
- (d) A descoberta do Morbillivirus felino (roxo), um novo membro proposto do gênero na Ásia e nos Estados Unidos. Determinação da sequência do Morbillivirus de morcego (azul claro com linha tracejada) a partir de material clínico obtido no Brasil. O Morbillivirus expande o seu alcance geográfico na Ásia e África e é isolado na Turquia e na China. O ressurgimento de Morbillivirus (azul com linha vermelha) em regiões do mundo onde eram endêmicas. A detecção de Morbillivirus em cetáceos (amarelo) ocorreu em uma faixa mais ampla de mamíferos marinhos amplamente distribuídos. Após ocorrer a erradicação do Rinderpest morbillivirus, o uso da vacina em bovinos foi suspenso. O Morbillivirus permanece globalmente distribuído (NAMBULLI et al., 2016).10

Figura 2 (a): A figura mostra a partícula viral, com o envelope de lipoproteína, contendo o complexo de ribonucleoproteína, que consiste no nucleocapsídeo. No envelope, existem as proteínas M, a proteína de fusão F e a hemaglutinina (H). O RNA

polimerase	viral,	contém	as	proteínas	L	e	
P.....							11

(b): As duas glicoproteínas, a proteína hemaglutinina (H) (amarela) e a proteína de fusão (F) (verde), juntamente com a grande proteína L (roxo), consituem o complexo ribonucleoproteico (RNP) (Adaptado de SATO et al. 2012 e LOOTS et al., 2017).....	12
---	----

Figura 3: A cepa 5804PeH do VCC do tipo selvagem infecta células que expressam nectina-4 em humanos e em cães. Os membros dos grupos de VCC e vírus do sarampo compartilham tropismo e doenças comuns. O estudo sugere que a abundância de nectina-4 por ser um receptor de VCC, na superfície celular está relacionada à sua susceptibilidade à infecção pelo VCC. As imagens de fluorescência foram capturadas quatro dias após a infecção e sobrepostas com fases contrastantes; a nectina-4 na linha celular correspondente sombreado com IgG; anticorpo nectina-4, nectina-4-vermelho (NOYCE et al., 2013).....	14
---	----

Figura 4: O CDV5804PeH de tipo selvagem infecta eficientemente células Vero que expressam a nectina-4 do cão. As células Vero caninas expressam o SLAM. As nectinas-4 das MDCK (células renais caninas) que expressam nectina-4 de cão e um plasmídeo no grupo controle, foram infectadas com a cepa de CDV5804PeH. Fase de contraste e fluorescência: As imagens foram capturadas e sobrepostas para visualizar a extensão da replicação do vírus, ocorrendo um aumento significativo no CDV5804PeH. (Adaptado de NOYCE et al., 2013).....	15
--	----

Figura 5: Os sistemas do prosencéfalo envolvidos no controle autônomo. O córtex cingulado anterior, amígdala e hipotálamo são os principais centros de controle do prosencéfalo (GIBBONS, 2019).....	20
---	----

Figura 6: Reconstrução da superfície do cérebro canino. A localização do giro proreano, sulco coronal (vermelho) e sulco ansate (azul) é indicado na vista dorsal. (B) Vistas lateral e medial do branco inflado, com sulcos e giros marcados. As estruturas cinza escuro são os sulcos e as regiões cinza claro são os giros. Nas superfícies rotuladas, os sulcos são coloridos em cores menos saturadas e os giros em cores saturadas (DATTA et al., 2012).....22

Figura 7: Esquema resumido do Sistema Nervoso Periférico, mostrando a integração de seus componentes com o SNC (JORTNER, 2010).24

Figura 8: A ilustração representa o VCC se disseminando dentro do SNC. A seção transversal do cerebelo indicada por setas azuis mostra a disseminação viral por meio de células meníngeas infectadas. Os círculos pretos mostram a disseminação viral via leucócitos infectados e células endoteliais. As setas amarelas apontam a disseminação viral via células epiteliais do plexo coróide infectadas e as setas vermelhas se referem à propagação viral via células endimárias infectadas (BEINEKE et al., 2009).....25

Figura 9: Representação da patogenia das lesões crônicas na leucoencefalite desmielinizante, após a infecção pelo VCC. A ilustração mostra a diminuição ou ausência da expressão viral e um aumento do influxo de células CD8 +, CD4 + e B na região perivascular. Além disso, as células cerebrais periféricas mostram um aumento de MHC de classe II e uma regulação positiva moderada a grave de IL-6, IL-8-, IL-12 e TNF- α (BEINEKE et al., 2009).....29

Figura 10: Alterações anatomopatológicas características dos diferentes subtipos de leucoencefalite causadas pelo VCC. Coloração: azul-cresil rápido Luxol. Barras de escala = 200 mm (ULRICH et al., 2014).....42

- a) O cerebelo dos cães não infectados, sem alterações histológicas.....42
- b) O cerebelo de cães afetados por leucoencefalite aguda por VCC. A figura apresenta alterações em astrócitos e microgliose focal (seta) e ocasionalmente poucas bainhas de mielina vacuoladas (ULRICH et al., 2014).....42
- c) O cerebelo de cães afetados por VCC na fase subaguda, apresentando leucoencefalite com desmielinização, mas sem inflamação. A substância branca está desmielinizada focalmente (asterisco) combinada com astro e microgliose (seta) (ULRICH et al., 2014).....42
- d) O cerebelo de cães afetados por leucoencefalite crônica por VCC com desmielinização e com inflamação apresentou substância branca desmielinizada focalmente (asterisco), combinada com astro- e microgliose (seta), bem como infiltrados inflamatórios perivascularres (ponta de seta) (ULRICH et al., 2014).....42

Figura 11: Fotomicrografias do cérebro de cães com cinomose. Coloração: Hematoxilina e Eosina (DE NARDO et al., 2020).....44

- a) A área de desmielinização na substância branca adjacente ao quarto ventrículo (*, bar = 200 μ m) DE NARDO et al., 2020).....44
- b) Presença de numerosas inclusões acidofílicas pleomórficas no citoplasma de astrócitos reativos (setas, barra = 20 μ m) DE NARDO et al., 2020).....44
- c) Área de necrose liquefativa rica em células Gitter (células fagocíticas derivadas de monócitos da circulação sanguínea, e em menor parte da micróglia residente) (setas, barra = 20 μ m) DE NARDO et al., 2020).....44

d) Manguitos perivasculares e hiperemia vascular em no neurópilo (setas, barra = 50 µm) DE NARDO et al., 2020).....	44
---	----

Figura 12: A figura mostra a apresentação histológica da substância branca cerebelar de cães do grupo controle e com cães com cinomose. Coloração: hematoxilina e eosina (HE) A – A ' ' ') e violeta azul-cresil rápido de luxol

(LFB / KEV) (B – B ' ').....	45
-------------------------------	----

Grupo 1: O animal do grupo controle apresenta a substância branca intacta.....

Grupo 2: Lesão aguda com hiper celularidade e vacuolização. (A ' , B ').....	45
--	----

Grupo3: Lesão desmielinizada subaguda com hiper celularidade, astrócitos gemistocíticos (seta), células gitter (cabeça de seta) e a coloração LFB / KEV intralesional

diminuída.....	45
----------------	----

Grupo 4: Lesão subaguda a crônica com cuffs perivasculares marcados, astrócitos gemistocíticos (setas) e desmielinização da substância branca. Asterisco: vaso sanguíneo (A – A ' ' ') Barra de escala = 50 µm. (B – B ' ' '), barra de escala = 200 µm. (KLEMENS et al., 2019).....

Figura 13: O fragmento do lobo parietal direito de um cão, macho, SRD, adulto. A seta azul aponta um infiltrado de células inflamatórias mononucleares, sugestivas de linfócitos, na região encefálica.....	45
--	----

Figura 14: Imagem de um cão, macho, SRD, adulto. O fragmento do lobo parietal esquerdo mostra perda de substância branca, neurônios vermelhos por isquemia e degeneração neuronal. (Paciente do setor MI, FMVZ-Unesp, Botucatu, 2021).....	46
---	----

Figura 15: Imagem de um cão, macho, SRD, adulto. O fragmento do lobo parietal esquerdo apresentando	
--	--

astrócitos em desmielinização intensa e infiltrado linfocitário no lobo parietal. Coloração H.E. (Paciente do setor MI, FMVZ-Unesp, Botucatu, 2021). (Arquivo pessoal, 2021).....47

Figura 16: Imagem de um cão, macho, SRD, adulto. O fragmento do lobo parietal esquerdo apresenta infiltrado linfocitário de células mononucleares dentro do vaso, lesão neuronal por hipóxia (neurônio vermelho). Coloração H.E. (Paciente do setor MI, FMVZ-Unesp, Botucatu, 2021).....47

Figura 16: Imagem de um cão, macho, raça SRD, adulto. A figura mostra o Tálamo/ córtex temporal com vacúolos devido a perda de mielina na substância branca e intenso infiltrado linfocitário. Presença de vacúolos e infiltrado inflamatório. Coloração HE. (Arquivo pessoal, 2021).....47

Figura 17: Alterações patológicas no cérebro de um paciente com esclerose múltipla (EM) secundária progressiva. As lesões desmielinizadas focais estão presentes na substância branca (A). Há extensa desmielinização subapical cortical. (B). Em contraste com o padrão normal de mielina no córtex cerebral, como mostrado em C, a perda completa de mielina nas lesões subpiais (D) Placas desmielinizadas na substância branca podem aparecer como lesões desmielinizantes com uma baixa densidade de bainhas finas de mielina, visível por imunocitoquímica para proteínas de mielina ou como placas de sombra remielinizadas (G e H) (LASSMANN, 2018).....49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: A epidemia generalizada de sarampo nas Américas precedeu as primeiras epizootias de cinomose entre os séculos XVI a XVII.....	06
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

- BHE** - Barreira Hematoencefálica
BHM - Barreira Hemato-Meníngea
DRC- Doença Renal Crônica
EUA - Estados Unidos
TNF - Fator de Necrose Tumoral
EM- Esclerose Múltipla
F - Proteína de fusão
FAT- Teste de Anticorpo Fluorescente Direto
FMVZ- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
GFAP- Proteína Ácida Fibrilar Glial
GME- Meningoencefalite Granulomatosa
H - Proteína Hemaglutinina de Fixação
HE - Hematoxilina e Eosina
IFD -Imunofluorescência Direta
IL - Interleucina
LFB / KEV- Violeta Azul-Cresil e Rápido de Luxol
M - Proteína de Matriz
MI- Moléstias Infecciosas
MVFE - *Morbillivirus felino*
MDCK - Células Renais Caninas
MHC-II- Complexo Principal de Histocompatibilidade de Classe II
NAD- Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina
NP- Núcleo Capsídeo
OIE - Organização Mundial da Saúde Animal
OMS - Organização Mundial de Saúde
RABV - Vírus da raiva
RIT- Teste imunohistoquímico
RNAs -RNA mensageiros
RPV – Rinderpest
SLAM - Molécula de Ativação de Linfócitos de Sinalização

SARM1- Sterile Alpha and TIR Motif-containing 1

SNC - Sistema Nervoso Central

SNP - Sistema Nervoso Periférico

VCC - Vírus da Cinomose Canina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Epidemiologia.....	2
2.2 Etiopatogenia.....	10
2.3 SLAM: O receptor do <i>Morbillivirus</i> e os mecanismos de entrada do vírus na célula do hospedeiro.....	12
2.3 Anatomia do sistema nervoso do cão.....	18
2.4.1 Neurônios	18
2.4.2 Sistema Nervoso Autônomo.....	19
2.4.3 Sistema Nervoso Central.....	20
2.4.4 Sistema Nervoso Periférico.....	23
3. Neuropatogenia da cinomose.....	24
3.1 Os mecanismos de neuroinvasão do VCC.....	24
3.2 Estágio agudo da infecção neurológica da cinomose.....	26
3.3 Estágio crônico da infecção neurológica da cinomose.....	28
3.4 Os mecanismos de defesa imunológica no SNC na neuroinvasão pelo VCC.....	30
3.5 Encefalite causada pelo <i>Morbillivirus</i> na cinomose.....	31
3.6 A função imunológica das células da microglia e dos oligodendrocitos, na encefalite pelo VCC.....	35
3.7 Manifestações neurológicas causadas pela cinomose.....	36
3.8 Síndromes neurológicas decorrentes do VCC.....	37
3.9 Encefalite do cão idoso.....	37
3.10 Alterações histopatológicas do Sistema Nervoso Central de cães com encefalite por cinomose.....	40
3.11 Alterações histopatológicas do Sistema Nervoso Central de doenças com mecanismos de desmielinização semelhantes à cinomose.....	48

3.12	Diagnóstico.....	50
3.13	Diagnóstico laboratorial.....	51
3.13	Diagnóstico diferencial.....	52
3.13	Diagnóstico diferencial entre raiva canina e cinomose.....	53
4	OBJETIVOS.....	56
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	56
5.1	Revisão Sistemática.....	57
5.2	Critérios de inclusão.....	57
5.3	Critérios de exclusão.....	57
5.4	Análise histopatológica.....	58
6	CONCLUSÕES.....	59
	REFERÊNCIAS.....	60
	ANEXOS.....	66
	Anexo 1- Atestado de aprovação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.....	73

Cipriano, L. F. **Atualizações na neuropatogenia da cinomose**. Botucatu, 2021. 84 p.
Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

RESUMO: O objetivo deste estudo foi revisar a neuropatogenia causada pelo *Morbillivirus* em cães, através de revisão de literatura sistemática com ênfase na fisiopatogenia da cinomose. Foram analisadas amostras de encéfalos de cães com diagnóstico de cinomose que vieram a óbito, com base em análise histopatológica das lesões. A cinomose é uma doença multissistêmica grave, altamente contagiosa, com altas taxas de morbidade e mortalidade. É necessário um estudo completo da neuropatogenia da cinomose, abrangendo a etiopagenia e as complicações neurológicas da doença para elucidar detalhadamente as consequências dessa infecção, como as lesões desmielinizantes multifocais crônicas. Nessas patologias, os nucleocapsídeos virais por não utilizarem envelopamento em partículas virais para a sua multiplicação, são transmitidos para as células nervosas através de receptores, principalmente os astrócitos. A fusão célula a célula depende da nectina-4, presente nas cepas desmielinizantes do vírus da cinomose (VCC). Algumas pesquisas mostram que o vírus da cinomose acomete o SNC, mesmo que a infecção não tenha gerado alterações neurológicas. Os mecanismos de invasão e disseminação cerebral do *Morbillivirus* ainda não são totalmente conhecidos. A análise das alterações neuropatológicas causadas pela presença do VCC pode auxiliar estudos de novos tratamentos que visam à recuperação de sinais neurológicos de cães acometidos pela cinomose, que resultam nas principais causas de óbitos.

Palavras chaves: Desmielinização, *Morbillivirus*, Encefalite.

Cipriano, L. F. **Updates on the neuropathogenesis of canine distemper disease.** Botucatu, 2021. 84 p. Dissertation (Master) - School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, Sao Paulo State University (UNESP).

ABSTRACT: The aim of this study was to review the neuropathogenesis caused by *Morbillivirus* in dogs through systematic literature review with emphasis on the pathophysiology of canine distemper. Encephalic samples from dogs diagnosed with canine distemper that died were analyzed based on histopathological analysis of the lesions. Canine distemper is a severe, highly contagious, multisystemic disease with high morbidity and mortality rates. A complete study of the neuropathogenesis of canine distemper, covering the etiopathogenesis and neurological complications of the disease is necessary to elucidate in detail the consequences of this infection in the Central Nervous System (CNS), such as chronic multifocal demyelinating lesions. In these pathologies, the viral nucleocapsids by they do not use envelopment in viral particles for their multiplication, they are transmitted to the nerve cells through receptors, mainly the astrocytes. Cell-to-cell fusion depends on nectin-4, which is present in demyelinating strains of cynomatosis virus (DCV). Some research shows that the distemper virus affects the CNS, even if the infection has not generated neurological changes. The mechanisms of brain invasion and dissemination of *Morbillivirus* are not yet fully known. The analysis of neuropathological changes caused by the presence of CCV to support studies of new treatments aimed at the recovery of neurological signs in dogs affected by canine distemper, which results in the main causes of death.

Key words: Demyelination, *Morbillivirus*, Encephalitis.

Preâmbulo

Esta dissertação de mestrado foi elaborada a partir da compreensão acerca da necessidade de novas pesquisas sobre a neuropatogenicidade da cinomose.

Ao ocorrer à entrada do vírus no SNC, com comprometimento da substância cinzenta e posteriormente da substância branca, as células da microglia alteram mecanismos de nutrição, sustentação e defesa cerebral. O estudo da neuropatogenicidade da cinomose pode auxiliar a desvendar as principais consequências da neuroinflamação e os mecanismos imunológicos microgliais que participam do agravamento das lesões encefálicas.

Atualmente os tratamentos para a encefalite causada pela cinomose estão em estudos e até o momento, existem poucas opções viáveis que possam intervir nos processos imunopatológicos neurais que acometem os cães. Em muitos casos o avanço da fase neurológica, causa comprometimentos irreversíveis, levando o paciente ao óbito ou a opção pela eutanásia.

Por isso, são necessários novos estudos acerca da neuropatogenicidade dessa doença, de alta morbidade e mortalidade. A deficiência nos programas de profilaxia, ausência de protocolos vacinais, protocolos vacinais incompletos, desconhecimentos sobre cuidados com os cães, falhas nas medidas de posse responsável, inexistência de programas governamentais de controle de cães errantes, são fatores que levam à permanência dessa doença, tornando um cão contaminado, fonte de infecção para outros cães.

Foram realizadas coletas de cérebros de cães atendidos pelo serviço de Moléstias Infecciosas (MI) do Hospital Veterinário da Unesp, com diagnóstico de cinomose, que vieram a óbito, em decorrência de um mal prognóstico. O material foi processado em laboratório de patologia e realizou-se a análise histopatológica das lesões com a finalidade de ilustrar essa dissertação. Foram identificadas algumas lesões decorrentes do quadro de encefalite associado à desmielinização, devido a progressão da doença.

Vários artigos científicos foram compilados para a elaboração dessa revisão de literatura, com o objetivo de trazer informações atuais presentes na literatura, a fim de fornecer um estudo atualizado em anatomopatogenicidade da cinomose.

Este estudo é significativamente importantes para o conhecimento da doença e para ser utilizado em pesquisas sobre outras doenças do SNC que acometem seres humanos, como Alzheimer, esclerose múltipla, esclerose amiotrófica lateral, leucodistrofias, deficiência de enzimas lisossomais, epilepsia, malformações corticais (lissencefalia e polimicrogiria), demência, lesões focais, doença de Parkinson, encefalite autoimune, paralisia microglial, encefalomielite desmielinizante aguda, neuromielite óptica, entre outras.

Na esclerose múltipla (EM) não existe um modelo que permita uma visão geral da doença, por isso é necessário utilizar uma variedade de modelos. A cinomose é um modelo “in vivo” que pode ser utilizada não somente para entender a neuropatogenia da EM, mas também para instituir tratamentos que visam o reparo nas lesões, remielinização e interrupção da neurodegeneração, evitando assim a progressão da doença.

Alguns estudos mostraram que os surtos de doenças causadas pelo *Morbillivirus* podem ocorrer em um mesmo período de tempo, tornando animais contaminados, reservatórios da doença e agentes de transmissão intraespécies e interespcies.

O *Morbillivirus* possui RNA de fita simples, sentido negativo e não possui a enzima transcriptase reversa, não sendo, portanto um retrovírus. A infecção sistêmica pelo *Morbillivirus* pode ser encontrada em canídeos selvagens, procionídeos como guaxinins, kinkajous, ursos, mustelídeos, hienas, grandes felinos, felinos domésticos, cetáceos, primatas não humanos e humanos.

A grande capacidade do *Morbillivirus* de transpor barreiras entre as espécies se deve a mutações na proteína H do envelope lipoprotéico, tornando-o um vírus pantrópico. Surtos de doenças causadas pelo *Morbillivirus* foram registrados em diferentes espécies em um mesmo período de tempo, pois além da alta virulência, os animais contaminados são reservatórios da doença e agentes de transmissão intraespécies e interespcies. Esta característica do *Morbillivirus* dificulta a erradicação das infecções do VCC (vírus da cinomose), embora existam vacinas para algumas espécies acometidas.

O estudo das interações do *Morbillivirus* com as diferentes espécies leva-nos a discutir os conceitos de 'One World One Health', 'One Medicine' e 'One Health', ao se correlacionar com os riscos para a saúde humana e animal que o *Morbillivirus*

representa. O trabalho de vigilância epidemiológica do VCC é significativamente importante por se tratar de uma doença infecciosa emergente que representa uma ameaça a saúde de seres humanos e animais. Alguns estudos apontam que o vírus do sarampo é derivado do vírus da cinomose ou do vírus da peste bovina.

A promoção da saúde depende do empenho de órgãos nacionais e internacionais, através de práticas político-econômicas, investimento em ciência e cuidado com o ecossistema, evitando prejuízos na relação entre os hospedeiros, agentes patogênicos e o ambiente. A disseminação e multiplicação desse vírus podem causar efeitos catastróficos mundiais.

Esta dissertação é composta por lista de figuras que ilustram didaticamente a estrutura viral, esquemas que ilustram os mecanismos patológicos utilizados pelo *Morbillivirus* para infectar o hospedeiro, estruturas cerebrais, fotomicrografias com a descrição das lesões. Além disso, a presente revisão de literatura aborda a epidemiologia, etiopatogenia, neuropatogenia, mecanismos de neuroinvasão, alterações histológicas, diagnóstico clínico, laboratorial, material e métodos, conclusão e referências.

1 INTRODUÇÃO

A cinomose é causada por um patógeno multi-hospedeiro, *Morbillivirus* da família *Paramyxoviridae*, responsável por causar imunossupressão grave e doença neurológica associada à desmielinização (ANDERSON et al., 2012; LIU et al., 2016). Em torno de 30% de cães infectados pelo *Morbillivirus* desenvolvem síndromes neurológicas após uma a seis semanas do início dos sinais clínicos. Os filhotes de 3 a 6 meses podem desenvolver poliencefalopatias com disfunções no proencéfalo (GREEN et al., 2020).

O VCC (vírus da cinomose) é um vírus de RNA de fita simples, não segmentado e envelopado, da família *Paramyxoviridae*, gênero *Morbillivirus*, mesmo gênero do sarampo humano (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005). Os *Morbillivirus* já causaram epidemias em várias espécies, uma vez que essas doenças possuem características semelhantes com sinais cuja gravidade varia de manifestações subclínicas até degeneração cerebral crônica, podendo levar o animal a óbito (UHL et al., 2019).

Os *Morbillivirus* podem causar doenças neurológicas agudas e progressivas acometendo a substância cinzenta e a substância branca. Esses sinais incluem convulsões parciais ou generalizadas, mioclonia, paresia, paralisia, déficits proprioceptivos, movimentos circulares, mudanças comportamentais, disfunção vestibular, levando o paciente a óbito ou gerando sequelas neurológicas crônicas (VON RÜDEN et al., 2021).

Os cães com cinomose possuem um padrão de alterações neurológicas que se assemelham a doenças humanas como Alzheimer, esclerose múltipla, leucodistrofias, deficiência de enzimas lisossomais, epilepsia, malformações corticais (lissencefalia, polimicrogria) demência, lesões focais, entre outras (DATTA et al., 2012).

O modelo da anatomopatologia da cinomose embasa estudos sobre a esclerose múltipla por se assemelhar ao mecanismo de desmielinização. A desmielinização está relacionada à ação do vírus em diferentes tipos de células. A homeostasia cerebral é mantida por junções de astrócito-astrócito e astrócito-oligodendrócito. As alterações nessas junções comunicantes podem desencadear convulsões em casos crônicos (VON RÜDEN et al., 2017).

Considerando que modificações nas células da microglia alteram mecanismos de nutrição, sustentação e defesa cerebral, o estudo da neuropatogenia da cinomose pode auxiliar a desvendar as principais consequências da neuroinflamação e como as lesões microgliais participam do agravamento das lesões encefálicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Epidemiologia

A cinomose é uma doença viral altamente contagiosa que afeta carnívoros das famílias Canidae, Mustelidae, Felidae e Procyonidae em diferentes países do mundo, como os Estados Unidos, Finlândia, Alemanha, Polônia e os países do continente africano. Os animais selvagens como raposas, furões e primatas não humanos também podem ser acometidos pelo *Morbillivirus* (ATHANASIOU et al., 2017).

A soroprevalência da cinomose em populações de raposas varia de 4 a 17%, porém esse valor pode estar subestimado devido às altas taxas de mortalidade nessa espécie que atua como reservatório da doença (BILLINIS et al., 2013). A taxa de letalidade da cinomose é de 5 a 30% em primatas, sendo que a principal causa da morte é a pneumonia seguida de alterações neurológicas (VRIES et al., 2014). Em um estudo realizado ao longo de sete anos, observou-se que a prevalência de cinomose em cães selvagens na África foi de 16%, comparado a 48% de prevalência nos cães domésticos (WOODROFFE et al., 2012).

Outros vírus estão relacionados ao vírus da cinomose, como o vírus do sarampo humano e o vírus da peste bovina. Os *Morbillivirus* também acometem espécies como os cetáceos, felinos, morcegos e roedores (UHL et al., 2019; PFEFFERMANN et al., 2018). Vários estudos relataram que o vírus da cinomose possui ancestral comum e que se adaptou a uma variedade de hospedeiros ao longo do tempo (VRIES et al., 2014).

Surtos causados pelo VCC já ocorreram em diversas espécies, como cão doméstico (*Canis familiaris*), cão selvagem africano (*Lycaon pictus*), furão de pé preto

(*Mustela nigripes*), foca-do-baikal (*Pusa sibirica*), leão africano (*Panthera leo*) e na hiena-pintada (*Crocuta crocuta*) (NIKOLIN et al., 2012).

Nos anos de 1991 e 1992 ocorreram infecções pelo VCC em leopardos cativos (*Panthera pardus*), tigres (*Panthera tigris*), leões (*Panthera leo*) e em uma onça-pintada (*Panthera onca*) na América do Norte. Ocorreram 17 óbitos desses animais, e os guaxinins foram considerados a fonte de infecção. Além desses felinos, dois leopardos negros morreram no zoológico de Naibi, Coal Valley, Illinois, e 2 tigres vieram a óbito na Reserva Shambala, Acton, Califórnia (APPEL et al., 1994). Em 1994 aproximadamente um terço da população de leões no Serengeti, norte da Tanzânia, veio a óbito por infecções atribuídas ao VCC. Houve também surtos em felinos de vida livre como lince, lince canadense, lince euro-asiático, o lince ibérico em perigo crítico e o tigre de Amur (NIKOLIN et al., 2012).

Os sinais clínicos encontrados nessas espécies foram anorexia, doença gastrointestinal, respiratória e convulsões. O VCC foi isolado através de testes de anticorpos monoclonais que identificaram o VCC de 3 leopardos, 3 tigres e 3 leões que vieram a óbito. Exames macroscópicos e histopatológicos revelaram lesões semelhantes às que são encontradas em canídeos, porém havia menos lesões no cérebro e uma proliferação celular no pulmão com corpos de inclusão, também foram identificados antígenos do VCC em imuno-histologia. Anticorpos neutralizantes para o VCC foram encontrados em altos títulos no soro da maioria dos animais, mas estava ausente ou baixo em alguns grandes felinos que morreram após a infecção pelo VCC (APPEL et al., 1994).

O *Morbillivirus* foi identificado em gatos domésticos na China em 2012, a nova espécie denominada *Morbilivirus felino* (MVFE) causou nefrite túbulo-intersticial (MARCACCI et al., 2016). O *Morbillivirus* foi detectado através de PCR de urina e amostras de sangue em 12% de gatos de rua na Itália, foram observados efeitos citopáticos, lise e formação de sincícios em células renais. No exame histológico de tecidos obtidos na necropsia foram encontrados infiltrado inflamatório, degeneração e necrose tubular (WOO et al., 2012). No Japão, um estudo em gatos domésticos identificou em 40% a presença de MVFE em tecidos renais de 10 gatos com nefrite. Embora os MVFE possuam diversidades genéticas, os isolados do Japão e China mostraram uma seqüência de nucleotídeos idêntica, sugerindo que existem reservatórios

naturais. A análise gênica mostrou que a recombinação ocorreu dentro dos genes F e H (SAKAGUCHI et al., 2015).

Na Itália, em um gato com doença renal crônica (DRC), o MVFE foi encontrado através de exame RT-PCR de urina. Em 2013, foram registrados gatos com MVFE na Alemanha, e recentemente na Turquia e nos Estados Unidos (EUA). A infecção crônica causada pelo *Morbillivirus* pode ser responsável pela recombinação e heterogeneidade viral. Além disso, a diversidade viral está relacionada à existência de diferentes ancestrais virais envolvidos na origem do MVFE. Na Europa, o MVFE foi detectado em gatos com DRC. Estudos mostram que os gatos parecem hospedar uma população heterogênea de novos paramixovírus que estão relacionados com a DRC nesses animais (MARCACCI et al., 2016).

No VCC a proteína H é a mais variável no gênero do *Morbillivirus*, o que explica um amplo espectro de hospedeiros. A infecção pode levar à formação de células multinucleadas, os sincícios. A formação de sincícios é determinada pela proteína H do VCC. O receptor celular para a proteína H em células linfáticas hospedeiras é a molécula SLAM (molécula de ativação de linfócitos de sinalização) que se liga ao *Morbillivirus*. O SLAM é expresso em humanos por células T de memória, células B e induzida por uma gama de células imunes, após a ativação. A especificidade da proteína H do VCC e a interação proteína-receptor SLAM representam um potencial disseminador da gama de hospedeiros do *Morbillivirus* (NIKOLIN et al., 2012).

Em humanos, o vírus do sarampo é um tipo de *Morbillivirus*. O vírus do sarampo e o VCC usam dois receptores celulares, o CD150 expresso em subconjuntos de células dos sistemas imunes e a nectina-4 expressa em células epiteliais. O vírus do sarampo infecta células imunes que expressam CD150, e estas células migram os nódulos linfáticos de drenagem (SAKAGUCHI et al., 2015). O gênero inclui o vírus Rinderpest (RPV) já erradicado pela vacinação, peste dos ruminantes e vírus da cinomose em cães. Há evidências de *Morbillivirus* em animais marinhos, como os cetáceos, sendo esse vírus, denominado de *Phocid distemper vírus-1* (PDV-1) e em felinos recentemente observou-se o *Morbillivirus*, em gatos domésticos, espécies de morcegos e roedores (PFEFFERMANN et al., 2018). Os *Morbillivirus* também foram encontrados em morcegos, nos exames de RT-PCR do soro sanguíneo, em taxa de

incidência entre 3,3 e 3,1% em um total de 86 espécies de morcegos, com 4.954 indivíduos do Brasil, países de África e da Europa (DREXLER et al., 2012).

Os *Morbillivirus* são responsáveis por epidemias que dizimaram muitas populações, ao longo de séculos, essas doenças possuem características semelhantes entre as espécies, com sinais cuja gravidade varia de manifestações subclínicas até febre, sinais respiratórios, gastrointestinais, dermatite e imunossupressão, facilitando infecções bacterianas imunomediadas, danos cerebrais, a medula espinhal e degeneração cerebral crônica, podendo levar o paciente a óbito (UHL et al., 2019).

Estima-se que os cães por serem reservatórios, podem representar uma fonte de infecção do vírus da cinomose para os animais não domesticados. Essa transmissão pode representar ameaça para populações de espécies selvagens (COSTA et al., 2019).

Os estudos epidemiológicos do vírus da cinomose, aliado a vigilância epidemiológica constante, medidas de profilaxia como a vacinação, se mostram necessárias para conter a disseminação da doença de cães para outras espécies. Após a raiva, a cinomose é considerada a doença mais relevante, devido a sua gravidade (COSTA et al., 2019).

Os *Morbillivirus* causam doenças com morbidade e mortalidade muito altas em populações humanas e animais. Surtos de sarampo e peste bovina ocorreram em um mesmo período na Europa, Ásia e África entre os séculos XVII a XIX, durante esses séculos, o sarampo foi endêmico na Europa. O primeiro registro de cinomose ocorreu no Equador e no Peru em 1735. Podendo-se perceber que a ocorrência de doenças provocadas pelo *Morbillivirus* em diferentes espécies como humanos, bovinos e caninos ocorreram concomitantemente em diversos continentes, mostrando que o vírus da cinomose é tem caráter pandêmico (UHL et al., 2019).

A tabela 1 mostra que uma grave epidemia de sarampo ocorreu em um momento em que a cinomose se estabeleceu na América do Sul e na Europa, assim como a peste bovina que se tornou endêmica em vários continentes. Os registros históricos de surtos de cães com cinomose em um cenário endêmico de sarampo e peste bovina apontam para uma compreensão ampla a respeito de patógenos multihospedeiros, que ameaçam continuamente às populações humanas e animais (UHL et al., 2019).

A figura 1 descreve os momentos históricos em que ocorreram surtos e endemias de doenças causadas pelo *Morbillivirus*, sugerindo que este patógeno se originou de um

ancestral comum e foi transmitido a várias espécies. Possivelmente houve uma adaptação do *Morbillivirus* aos humanos após o primeiro surto em animais. O desenvolvimento de resistência em pessoas diminuiu as taxas de morbidade e mortalidade. Ao se registrar a ocorrência de cães com cinomose, em 1809 percebeu-se semelhanças com a transmissão do sarampo e a susceptibilidade maior em filhotes. (NAMBULLI et al., 2016).

Tabela 1: A epidemia generalizada de sarampo nas Américas precedeu as primeiras epizootias de cinomose entre os séculos XVI a XVII

Doença	Local	Países	Séc. XVI	Séc. XVII	Séc. XVIII	Séc. XIX
Cinomo se	América	Quito, Equador , Sul	NRF	NRF	1748, 1759	NFR
	Europa	Inglaterra	NRF	NRF		
		França	NRF	NRF	1761-64, 1782-84, 1799	1808
		Alemanha	NRF	NRF	NRF	1834
		Irlanda	NRF	NRF	1761-64	NRF
		Itália	NRF	NRF	1799	NRF

		Rússia	NRF	NRF	1771	1820
			NRF	NRF	1761	NRF
		Espanha				
Sarampo	Américas	Caribe, Guatemala	1517, 1519-1523, 1529	NRF	NRF	NRF
		Argentina	1628, 1634-35, 1645	NRF	NRF	NRF
		Equador	1558, 1585-1591, 1597	1611, 1612, 1618, 1628, 1634-35, 1645	Endemia a partir de 1785	Endêmica
		América Central	1531-34, 1559-63, 1576-80	1604, 1613-17	Endêmica	Endêmica
		Peru	1531-33, 1557-62, 1585-91	1611-1614, 1618, 1628, 1634-35, 1645	Endêmica	Endêmica
		Estados Unidos	1533-1533, 1592-96	1635, 1657, 1687	1713-1715, 1727, 1729, 1739-40, 1747, 1759, 1772, 1788	1802, 1820, 1837, 1848, 1861-65, 1878-1879, 1883-1884
	Europa	Canadá	NRF	1635, 1687	NRF	1819, 1844, 1846, 1865

		União Européi a	Endêmic a	Endemia em 1629-1700, 1665,1675	Endemia 1700- 1800, 1740, 1762, 1751, 1781,178 3,	Endemia, 1808, 1811- 1812, 1839,1846,18 49, 1882,
Peste bovina	Améric a	Toda a região	NRF	NRF	NRF	NRF
	África	Toda a região	NRF	NRF	1726-65	1887-97
	Europa	União Européi a	1514, 1559, 1598	1609, 1616, 1618, 1625,1665, 1673-74, 1682-83	1709- 22,1726- 65, 1769- 1800	1800-1816, 1825-37, 1844-1863- 67, 1877

Fonte: Modificado de UHL et al., 2019.

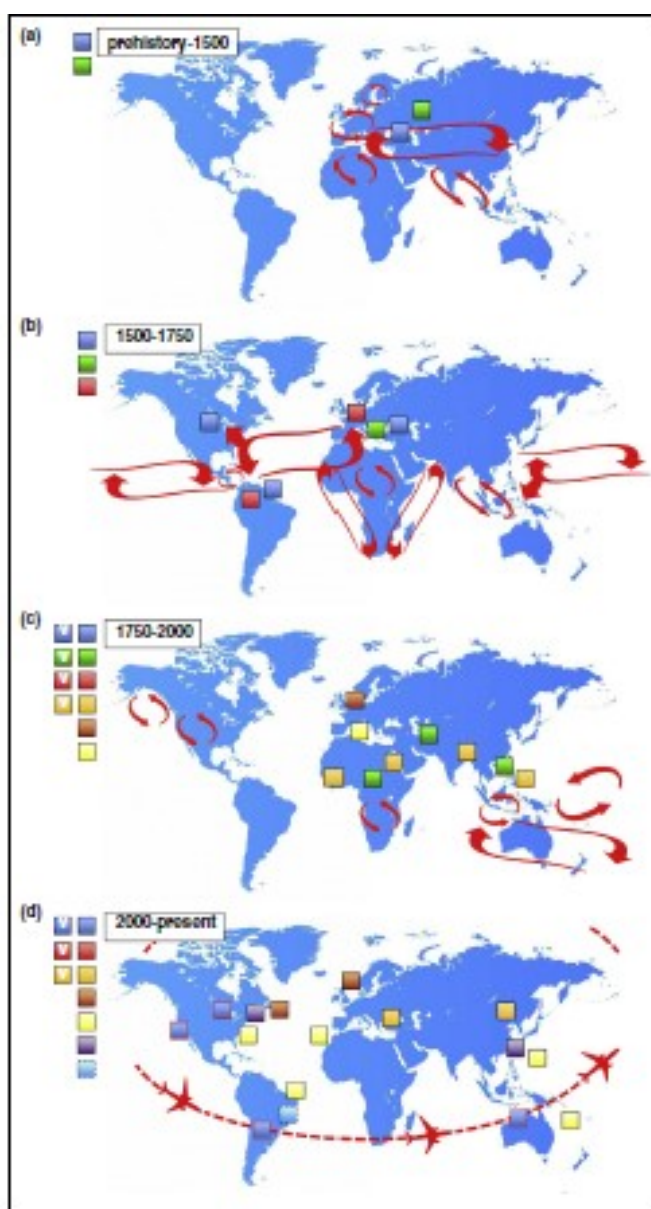


Figura 1: Representação da distribuição global aproximada de *Morbillivirus* ao longo da história. (a) *Morbillivirus* (azul) e *Rinderpest morbillivirus* (verde) são os mais antigos *Morbillivirus* que se espalharam ao longo de antigas rotas comerciais (setas vermelhas). (b) A Importação de *Morbillivirus* para o Novo Mundo e o vírus da cinomose canina (vermelho) para o Velho Mundo durante a Era da Exploração. (c) Propagação de *Rinderpest morbillivirus* para a África e Ásia devido ao movimento transfronteiriço de gado e estabelecimento do primeiro *Morbillivirus* distribuído globalmente. Descoberta da peste de ruminantes (laranja claro), peste bovina (laranja escuro) e *Morbillivirus* em cetáceos como as focas, respectivamente. O desenvolvimento de vacinas atenuadas contra o *Morbillivirus* em diferentes espécies trouxe um maior controle da doença em diversas partes do mundo.

(d) A descoberta do *Morbillivirus felino* (roxo), um novo membro proposto do gênero na Ásia e nos Estados Unidos.

Determinação da sequência do *Morbillivirus de morcego* (azul claro com linha tracejada) a partir de material clínico obtido no Brasil. O *Morbillivirus* expande o seu alcance geográfico na Ásia e África e é isolado na Turquia e na China. O ressurgimento de *Morbillivirus* (azul com linha vermelha) em regiões do mundo onde eram endêmicas.

A detecção de *Morbillivirus* em cetáceos (amarelo) ocorreu em uma faixa mais ampla de mamíferos marinhos amplamente distribuídos. Após ocorrer a erradicação do *Rinderpest morbillivirus*, o uso da vacina em bovinos foi suspenso. O *Morbillivirus* permanece globalmente distribuído (NAMBULLI et al., 2016).

2.2 Etiopatogenia

O *Morbillivirus canino* da família *Paramyxoviridae*, causa doença sistêmica grave e altamente contagiosa, que atinge carnívoros domésticos e selvagens (SATO et al., 2012, LOOTS et al., 2017). As doenças infecciosas em geral são o resultado evolutivo de complexa interação entre agentes infecciosos e seus hospedeiros, como adaptação dos agentes às células hospedeiras, tropismo específico, neuroinvasividade, resposta imune ao vírus, tropismo específico, entre outros fatores (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005).

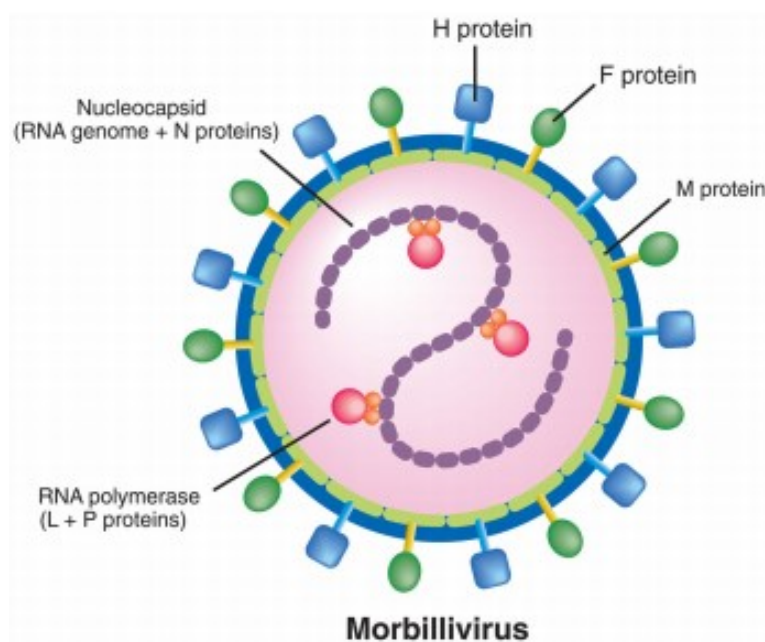
O genoma do VCC tem 15.690 nucleotídeos de comprimento e contém seis genes. Destes, dois são não estruturais e seis proteínas estruturais, que são codificadas por RNAs mensageiros (PLATTET et al., 2007). Os *Morbillivirus* estão envoltos em envelope lipoprotéico que possuem genoma de RNA em sentido negativo não segmentado que codifica uma única proteína de matriz associada ao envelope.

O envelope consiste na nucleoproteína N e proteína M que está localizada na superfície interna do envelope, exibindo duas glicoproteínas de superfície: a proteína de fixação (H) e a proteína de fusão (F). O receptor celular para a proteína H “in vivo” não foi determinado. Os *Morbillivirus* possuem, ainda, duas proteínas associadas ao RNA polimérico (complexo polimerase), que são as fosfoproteína P e proteína grande L, e uma proteína do nucleocapsídeo (N) que encapsula o RNA viral (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005; SATO et al., 2012; LOOTS et al., 2017).

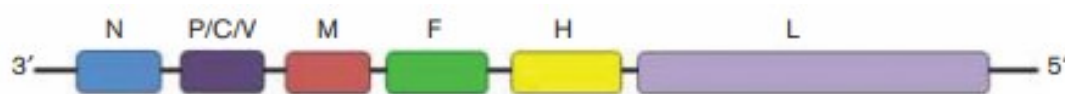
A proteína de fusão (F) é uma glicoproteína clássica do tipo I, composta por 662 aminoácidos essenciais para a penetração e disseminação viral no hospedeiro. A tradução da proteína F começa no primeiro códon de início, o AUG1, ou no segundo códon, AUG61, gerando os pré-F0 AUG1 e pré-F0 AUG61, que são translocados para o retículo endoplasmático e clivados entre os aminoácidos 135 e 136 por uma peptidase de sinal celular, produzindo assim um peptídeo de 75 ou 135 aminoácidos, dependendo do códon da tradução (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005; SATO et al., 2012; LOOTS et al., 2017).

Para ocorrer a fusão de membrana, a proteína F sofre uma cascata de alterações, a proteína F representa para a membrana plasmática uma estrutura potencialmente ativa de fusão dependente do receptor e da hemaglutinina (H), a proteína F passa por alterações conformacionais, que finalmente levam à fusão da membrana (PLATTET et al., 2017).

a)



b)

**Figura 2**

A) A figura mostra a partícula viral com o envelope de lipoproteína, contendo o complexo de ribonucleoproteína que consiste no nucleocapsídeo. No envelope, existem as proteínas M, a proteína de fusão F e a hemaglutinina (H). O RNA polimerase viral contém as proteínas L e P (Adaptado de SATO et al. 2012 e LOOTS et al., 2017).

B) As duas glicoproteínas, a proteína hemaglutinina (H) (amarela) e a proteína de fusão (F) (verde) juntamente com a grande proteína L (roxo) constituem o complexo ribonucleoproteico (RNP) (Adaptado de SATO et al. 2012 e LOOTS et al., 2017).

2.3 SLAM: O receptor do *Morbillivirus* e os mecanismos de entrada do vírus na célula do hospedeiro

O SLAM (Molécula de ativação de linfócitos de membrana) atua como receptor celular para o *Morbillivirus* (FUKUHARA et al., 2019). O SLAM é um membro do subconjunto da superfamília das imunoglobulinas e possui dois domínios extracelulares (loop V e loop C2) juntamente com uma região transmembranar e uma cauda citoplasmática. A interação entre a proteína H do *Morbillivirus* e o domínio V da molécula do SLAM nas células-alvo é responsável pela infecção por *Morbillivirus* (YADAV et al., 2019).

Os *Morbillivirus* usam principalmente três tipos de receptores, que desempenham uma função na especificidade do hospedeiro e no tropismo dos vírus nos tecidos. A molécula de ativação de linfócitos de sinalização, o SLAM, é o principal receptor celular para vírus em humanos, bovinos e cães, identificado pela primeira vez em humanos como receptor de ativação de células T, B e células B induzidas após a ativação (YADAV et al., 2019).

O SLAM humano é expresso seletivamente em tecidos linfóides, por isso o SLAM humano apresenta tropismo tecidual. Os cães e os bovinos possuem uma

molécula de SLAM homóloga ao SLAM humano que atua como receptor celular para o VCC e RPV, respectivamente (TATSUO & YANAGI, 2002).

Os mecanismos de entrada do *Morbillivirus* nas células hospedeiras são importantes para determinar a sua característica de multi-hospedeiro e o tropismo de tecido. Os *Morbillivirus* têm duas glicoproteínas, a hemaglutinina (H) e a proteína de fusão (F) na superfície viral. Durante a invasão do vírus, a proteína H se liga ao receptor de entrada do hospedeiro, o SLAM, que também é conhecido como CD150. O SLAM é uma proteína específica de células imunes, expressa na superfície de timócitos, linfócitos ativados, células dendríticas maduras e macrófagos (FUKUHARA et al., 2019).

O receptor SLAM é considerado um determinante de imunossupressão e induz mudanças conformacionais na proteína F, ocorrendo a fusão do vírus à membrana plasmática das células imunes do hospedeiro. Durante a fusão, alguns aminoácidos da proteína H são importantes para favorecer a ligação a nectina-4 que é expressa na superfície celular, sendo responsável pela suscetibilidade da infecção pelo *Morbillivirus* (MESSLING et al., 2005; FUKUHARA et al., 2019).

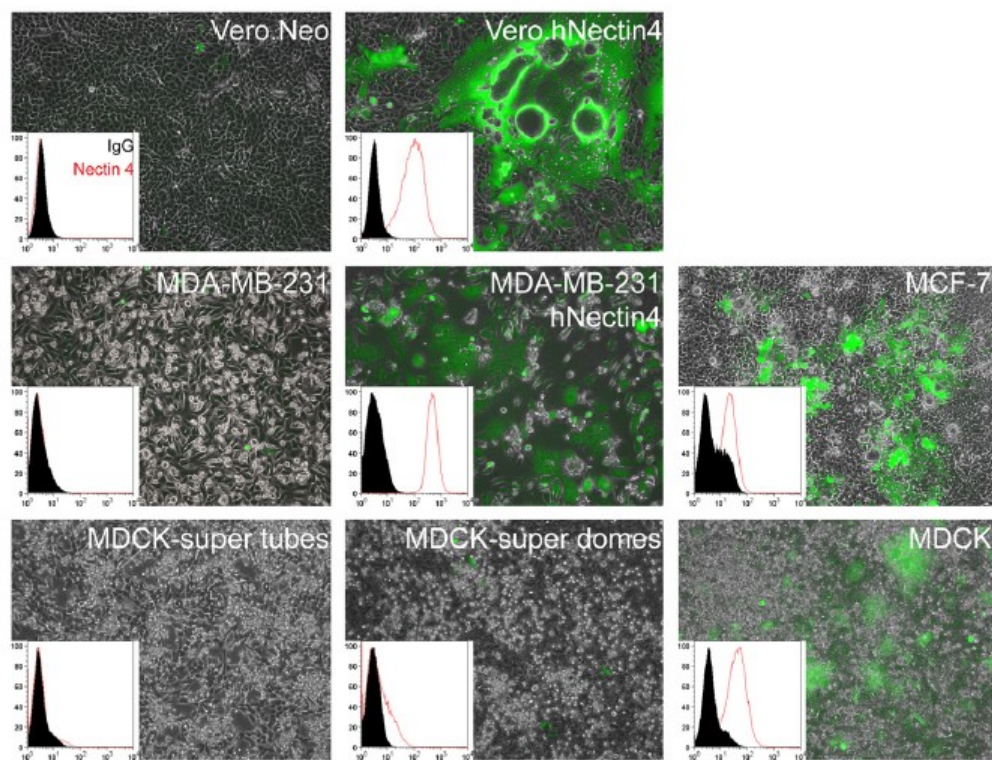


Figura 3: A cepa 5804PeH do VCC do tipo selvagem infecta células que expressam nectina-4 em humanos e em cães. Os membros dos grupos de VCC e vírus do sarampo compartilham tropismo e doenças comuns. O estudo sugere que a abundância de nectina-4 por ser um receptor de VCC, na superfície celular está relacionada à sua susceptibilidade à infecção pelo VCC. As imagens de fluorescência foram capturadas quatro dias após a infecção e sobrepostas com fases contrastantes; a nectina-4 na linha celular correspondente sombreado com IgG; anticorpo nectina-4, nectina-4-vermelho (NOYCE et al., 2013).

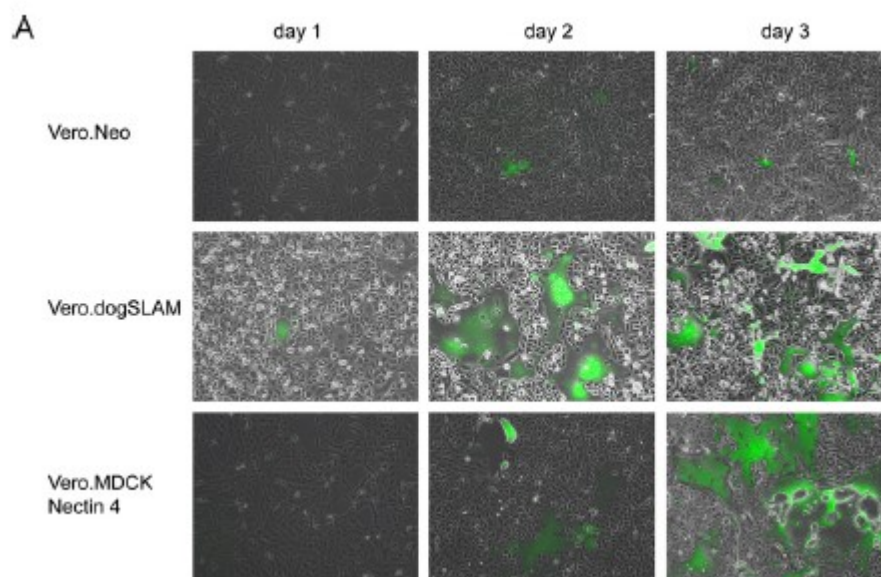


Figura 4: O CDV5804PeH de tipo selvagem infecta eficientemente células Vero que expressam a nectina-4 do cão. As células Vero caninas expressam o SLAM. As nectinas-4 das MDCK (células renais caninas) que expressam nectina-4 de cão e um plasmídeo no grupo controle, foram infectadas com a cepa de CDV5804PeH. Fase de contraste e fluorescência: As imagens foram capturadas e sobrepostas para visualizar a extensão da replicação do vírus, ocorrendo um aumento significativo no CDV5804PeH. (Adaptado de NOYCE et al., 2013).

Durante muitos anos acreditou-se que o VCC se reproduzia no epitélio respiratório antes de se disseminar, mas recentemente concluiu-se que o VCC infecta macrófagos e células dendríticas das vias aéreas usando o SLAM como um receptor celular. As células infectadas cruzam o epitélio respiratório e transportam a infecção para os órgãos linfóides, ocorrendo a replicação viral. A nectina-4 é uma imunoglobulina, conhecida como receptor de saída do hospedeiro, interage com alta afinidade com a proteína de fixação viral através do seu domínio distal de membrana, possibilitando a disseminação viral nas vias aéreas. (MÜHLEBACH et al., 2011).

Os *Morbillivirus* infectam as células que expressam CD46 e SLAM, mas também infectam outras células através do receptor celular, nectina-4. As células que expressam a nectina-4 são as células epiteliais, células da traquéia, brônquios, pulmões, cavidade oral, faringe, esôfago, intestinos, fígado e bexiga urinária. A nectina é uma

família de moléculas de adesão, porém apenas a nectina-4 é um receptor epitelial para o *Morbillivirus* (YADAV et al., 2019).

A nectina-4 apresenta glicoproteína transmembrana em sua estrutura com três ectodomínios semelhantes, uma região transmembrana e uma cauda citoplasmática. É expresso basolateralmente nas células epiteliais nas proximidades de linfócitos infectados e células dendríticas e atua como receptor viral através de um mecanismo semelhante à interação entre domínio V do SLAM com a proteína H do *Morbillivirus* (YADAV et al., 2019).

O SLAM é um receptor eficiente para o VCC selvagem em culturas de tecidos caninos. Em análises imunocitoquímicas, o SLAM se expressa de forma limitada no SNC em comparação com tecidos linfóides, mostrando que provavelmente existem outros receptores virais (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005). A transmissão do *Morbillivirus* se dá através de aerossóis para o trato respiratório, e a primeira replicação ocorre nos tecidos linfóides, causando grave imunossupressão de longa duração (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005; COSTA et al., 2019). O receptor SLAM no sistema imunológico se correlaciona com a imunossupressão associada à infecção citolítica mediada pelo *Morbillivirus* no tecido linfóide. Outros receptores são responsáveis pela entrada do VCC na nectina-4, pois o receptor da célula epitelial contribui para o multitropismo do *Morbillivirus*. O receptor SLAM se liga a proteína H do vírus da cinomose em regiões específicas, que compreendem 500 a 550 aminoácidos (COSTA et al., 2019).

Após seis dias de infecção, todos os tecidos linfáticos são acometidos e a viremia é desenvolvida (KIM et al., 2001). O período de incubação é de aproximadamente 1 a 4 semanas, dependendo do estado imunológico dos cães afetados (AWAD, 2019). Os cães sem anticorpos contra o vírus da cinomose morrem em aproximadamente três semanas após a infecção (KIM et al., 2001).

No início da infecção, o vírus da cinomose invade os macrófagos, trato respiratório e posteriormente, acomete outros órgãos como o trato gastro-intestinal, órgãos linfóides, bexiga urinária e o sistema nervoso central. As manifestações podem ser subclínicas a letais, sendo que os principais sinais clínicos são febre, alterações respiratórias, gastrointestinais e dermatológicas (ATHANASIOU et al., 2017).

O esgotamento de linfócitos, principalmente as células TCD4, em decorrência do apoptose de células linfoides, na fase inicial, causa imunossupressão persistente, podendo ocorrer infecções bacterianas secundárias. (BEINEKE et al 2009).

Durante a fase aguda da infecção, as células T são mais afetadas do que as células B, enquanto as células CD8 + são menos afetadas e se recuperam mais rápido em comparação com os linfócitos CD4. Após 10 dias da infecção, o VCC se replica por tecidos epiteliais, causando comprometimento multisistêmico no trato respiratório, trato gastro-intestinal e alterações dermatológicas (BEINEKE et al 2009; VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005).

Ao se dirigir para o SNC, o VCC invade o encéfalo através de células mononucleares infectadas, circulando pelo líquido cefalorraquidiano (LCR) e fundindo-se com o revestimento endotelial dos ventrículos, causando lesões periventriculares e subpiais. Ao afetar o SNC, determina a síndrome neurológica com lesões desmielinizantes, que podem ocorrer em até 3 semanas do início da infecção. Os sinais neurológicos podem ocorrer na ausência de sinais sistêmicos (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005).

O vírus pode causar danos ao cérebro, como a leucoencefalomielite desmielinizante, e à medula espinhal, que induzem à manifestações neurológicas crônicas imunomediadas, havendo níveis crescentes de moléculas de MHC classe II em decorrência da permanência do vírus no tecido nervoso (BEINEKE et al 2009; KLEMENS et al., 2019; RENDON-MARIN et al. 2019). A desmielinização ocorre principalmente em astrócitos, ocorrendo a hipertrofia destas células, gliose isomórfica, astrócitos reativos (gemistócitos) e, ocasionalmente, a formação de astrocítico sincicial (KLEMENS et al., 2018).

2.2 Anatomia do sistema nervoso do cão

2.2.1 Neurônios

Os neurônios são as unidades de construção do sistema nervoso. Nos animais, os órgãos receptores e efetores são separados e conectados por neurônios, que são células altamente especializadas, cujas funções citoplasmáticas de excitabilidade e condutividade são altamente desenvolvidas (DYCE et al., 2010).

Os neurônios possuem partes distintas, uma é a região central com o núcleo da célula e numerosos tubos finos que irradiam da região central; o corpo celular; a soma e o pericárdio que fazem parte da região central; os axônios e os dendritos que irradiam da soma, que são os neuritos. O corpo celular origina um único axônio. Os dendritos não ultrapassam 2 mm e se estendem do corpo celular terminando em filamentos finos (BEAR et al., 2017).

O funcionamento do neurônio está relacionado a sua estrutura, o tamanho do neurônio varia de poucos micrômetros a mais de 100 mm de diâmetro. O seu citoplasma contém o retículo endoplasmático rugoso, sendo responsável pela síntese de proteínas, o complexo de Golgi armazena as moléculas de transporte, libera as proteínas e faz a síntese de neurotransmissores. Os neurônios demandam grande quantidade de energia e por isso, possuem um alto número de mitocôndrias (CATALA & KUBIS, 2013).

O neurônio receptor tem a função de receber o estímulo e transmitir a mensagem codificada, sendo que o impulso é transmitido por todo o neurônio e ao final da cadeia o neurônio motor transmitirá o estímulo a um músculo efector ou uma célula glandular. O dendrito é uma estrutura múltipla, e transmite os impulsos em direção ao pericário. O axônio tem uma única origem, e transmite os impulsos para fora da célula. A célula nervosa é, portanto, polarizada (DYCE et al., 2010).

Os dendritos formam a maior parte dos neurônios, eles são curtos, ramificados e fazem parte da extensão do corpo celular, enquanto o axônio é uma longa extensão, cuja origem está no corpo celular (CATALA & KUBIS, 2013).

Os neurônios se dividem conforme a localização do seu corpo celular, dendritos, projeção axonal, características fisiológicas, padrão de expressão de genes e função. Os RNA mensageiros (RNAs) expressos por células individuais podem ser quantificados

na escala de todos os RNAs expressos. Os axônios de alguns tipos de neurônios de projeção que conectam uma região do cérebro a outra, podem percorrer longas distâncias com padrões complexos de ramificação, permitindo a inervação de estruturas distantes (DATTA et al., 2012).

A soma é a parte central e esférica do neurônio, contendo o núcleo que armazena os cromossomos que contêm o material genético. O produto final da expressão genética são as proteínas. A síntese protéica ocorre no citoplasma (BEAR et al., 2017).

As semelhanças entre o cérebro de humanos e cães em relação ao desenvolvimento, envelhecimento e algumas doenças neurológicas, tornam o cérebro canino um modelo de estudo. As influências comportamentais e cognitivas da morfologia do cérebro dos cães são resultados de vários fatores, como a domesticação. O formato do crânio e do corpo são diferentes entre as raças, mostrando o grau de girificação do córtex cerebral determinado pelo tamanho do cérebro. A forma da cabeça está ligada ao tamanho do cérebro, a organização, posição, a parte sensorial e comportamental (DATTA et al., 2012; CZEIBERT et al., 2020).

As células ganglionares diferem entre as raças com base no comprimento do focinho, que está relacionado a visão binocular. A morfologia biomecânica de raças braquicefálicas está relacionada a função de guarda, enquanto as raças dolicocefálicas são bons corredores (DATTA et al., 2012).

2.2.2 Sistema Nervoso Autônomo

A distribuição anatômica do sistema nervoso autônomo é complexa, constituída em sistema nervoso central (SNC), subdividido em encéfalo, medula espinhal, neuroeixo e periférico (SNP) que abrange os troncos nervosos cranianos, espinhais e autônomo com seus gânglios associados (DYCE et al., 2010).

O sistema periférico se desenvolve com característica de neurotransmissores, sendo controlado por neurônios centrais. A atividade eferente autonômica tem a função de responder as necessidades do organismo. O prosencéfalo e o tronco cerebral coordenam informações eferentes autônomas com funções mentais superiores (GIBBONS, 2019).

O sistema nervoso autônomo central abrange o prosencéfalo, tronco cerebral e medula espinhal, que por sua vez coordena os segmentos simpático e parassimpático. O tronco cerebral inferior é responsável pelas funções de circulação, respiração, função gastro-intestinal e micção. O sistema do tronco cerebral superior (pontomesencefálico) está relacionado as funções de dor e estresse (GIBBONS, 2019).

O sistema prosencéfalo inclui o hipotálamo para controle da homeostase e adaptação às mudanças de temperatura corporal, além de osmolaridade, hipoglicemia, ritmos circadianos, sono, excitação ou outras alterações ambientais. O prosencéfalo tem a função de integrar as sensações de temperatura e dor (GIBBONS, 2019).

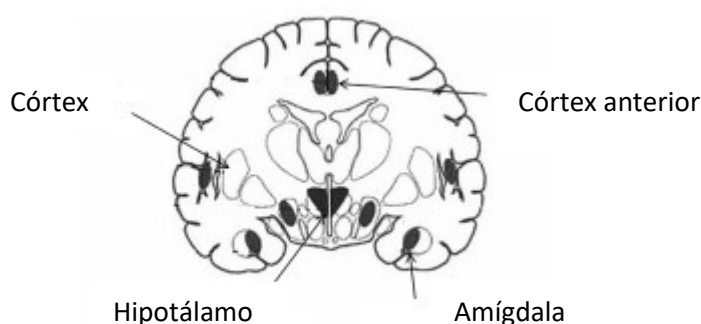


Figura 5: Os sistemas do prosencéfalo envolvidos no controle autônomo. O córtex cingulado anterior, amígdala e hipotálamo são os principais centros de controle do prosencéfalo (GIBBONS, 2019).

2.2.3 Sistema Nervoso Central

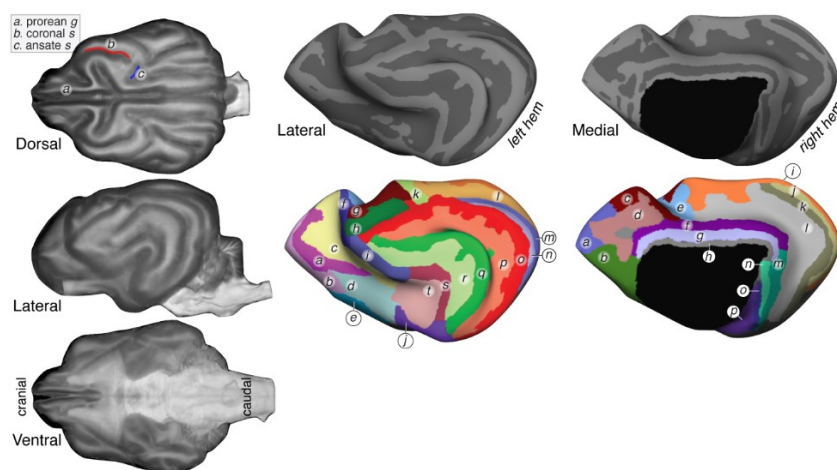
O sistema nervoso central (SNC) tem um sistema de barreira complexo com mecanismos especializados para regular as reações imunológicas. As respostas do SNC estão relacionadas com a localização anatômica (MASTORAKOS & MCGAVERN, 2019).

O parênquima do SNC não possui sistema de drenagem linfática. A barreira hematoencefálica (BHE) e a barreira hemato-meníngea (BHM) controlam a entrada de células, regulam a resposta imune e são mobilizadas em tecidos linfóides periféricos (MASTORAKOS & MCGAVERN, 2019).

O encéfalo está alojado na cavidade craniana e é um órgão irregular, dividido pelos hemisférios cerebrais semi-ovóide, separados por profunda fissura longitudinal e

do cerebelo por fissura transversa. Os hemisférios possuem giros (elevações) e sulcos (depressões). O encéfalo não possui separação demarcada com a medula, havendo continuidade entre eles. A porção caudal forma a medula oblonga, que termina em proeminência transversa chamada de ponte que se une ao cerebelo (DYCE et al., 2010).

O mesencéfalo, na região dorsal, se mostra como duas colunas divergentes e os pedúnculos cerebrais que continuam na localização dorsal são separados pelo sulco interpeduncular. O prosencéfalo segue na frente com o hipotálamo, a hipófise está ligada por um pedúnculo, o quiasma, que contém o nervo óptico. O prosencéfalo é formado pelos hemisférios cerebrais com características ventrais em proeminência, os lobos piriformes arredondados, de onde se origina os nervos cranianos, exceto o IV, par troclear (DYCE et al., 2010).



Legendas:

A	Giro pro reano	N	Sulco ectomarginal
B	Sulco Pro reano	O	Giro Supra Sylvius
C	Fissura de Sylvius	P	Sulco Supra Sylvius
D	Sulco lateral rinal	Q	Giro Ecto Sylvius
E	Pedúnculo olfatório	R	Sulco Ecto Sylvius
F	Giro pré-cruzado	S	Giro Sylvius
G	Giro pós-cruzado	T	Sulco pseudoSylvius

A	Giro frontal	I	Giro marginal
B	Giro em linha reta	J	Sulco supra-esplênico
C	Giro orbitário	K	Giro esplenial
D	Sulco orbitário	L	Sulco esplenial
E	Sulco cruzado	M	Giro parahipocámpico
F	Giro subcaloso	N	Sulco Hipocámpico
G	Sulco subcaloso	O	Giro dentado
H	Corpo caloso	P	Lobo piriforme

Figura 6: Reconstrução da superfície do cérebro canino. A localização do giro proreano, sulco coronal (vermelho) e sulco ansate (azul) é indicado na vista dorsal. (B) Vistas lateral e medial do branco inflado, com sulcos e giros marcados. As estruturas cinza escuro são os sulcos e as regiões cinza claro são os

giros. Nas superfícies rotuladas, os sulcos são coloridos em cores menos saturadas e os giros em cores saturadas (DATTA et al., 2012)

2.2.4 Sistema Nervoso Periférico

O sistema nervoso periférico (SNP) é formado por fibras sensoriais aferentes e eferentes, que inervam o músculo estriado esquelético, através da junção neuromuscular. Os interneurônios da medula espinhal, tronco cerebral ou cérebro, modulam a informação através da fibra eferente, respondendo o estímulo aferente (CATALA & KUBIS, 2013).

Os corpos celulares dos nervos espinhais estão localizados nos gânglios da raiz dorsal. Os nervos espinhais motores, formados pelo motor do axônio, possuem os seus corpos celulares localizados no corno anterior, constituindo um sistema sob controle voluntário. Os nervos cranianos, III a XII e III, VII, IX e X possuem fibras do sistema somático e autônomo. Os nervos espinhais entram na medula pela raiz dorsal e saem pela raiz ventral (CATALA & KUBIS, 2013).

O sistema nervoso periférico é constituído por neurônios motores, sensoriais primários e autônomos que possuem terminações, fora do SNC. Estão associados a células ganglionares satélite (células de Schwann).

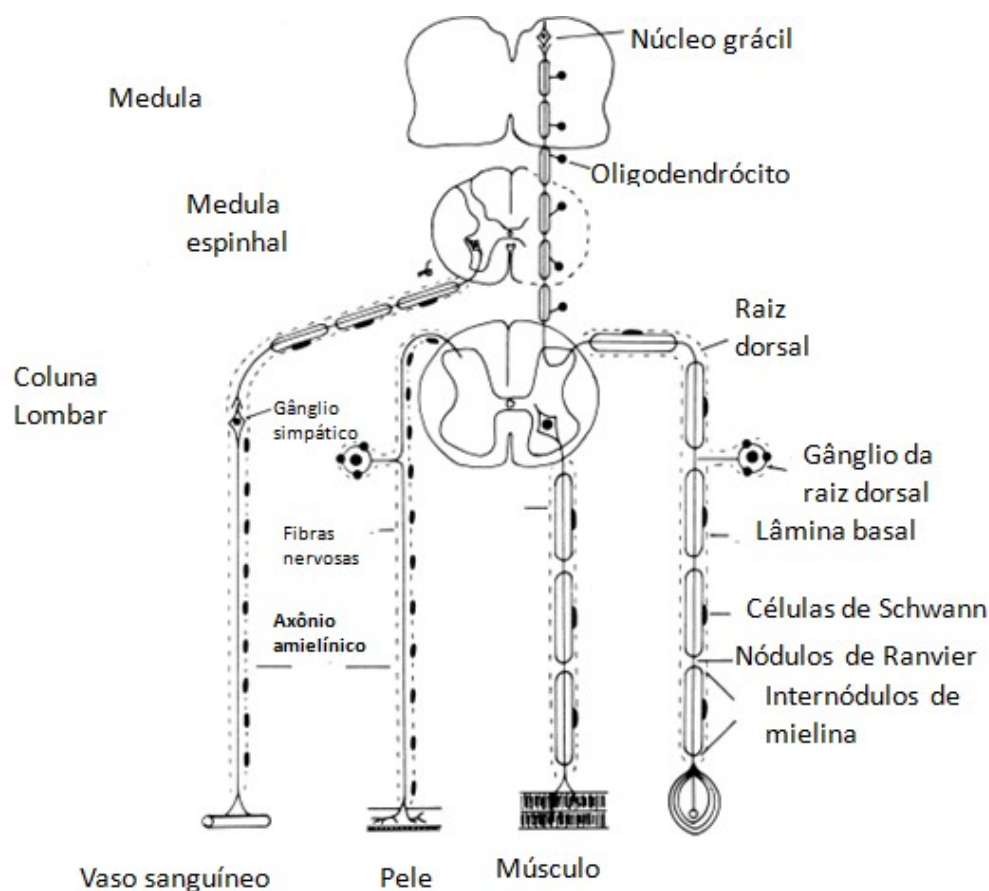


Figura 7: Esquema resumido do Sistema Nervoso Periférico, mostrando a integração de seus componentes com o SNC (JORTNER, 2010).

3. Neuropatogenia da cinomose

3.1 Os mecanismos de neuroinvasão do VCC

O VCC geralmente é transmitido por aerossol para o trato respiratório superior, se replica em tecidos linfóides e afeta células de defesa imunológica. Alguns cães se recuperam da infecção, outros animais podem desenvolver comprometimentos mais graves, havendo disseminação para os tecidos epiteliais e para o SNC (GRIOT et al., 2003).

A entrada do VCC no SNC ocorre predominantemente por meio da via hematogênica, havendo a infecção das células ependimárias e subependimárias, através

do líquido cefalorraquidiano. A disseminação via nervo olfatório foi descrita em furões infectados experimentalmente. O VCC atinge as células da meninge e pode ser detectado nos capilares do SNC e endotélio venoso em 5 a 6 dias pós infecção cerebral. O VCC infecta o plexo coróide e se dissemina para a substância branca em 10 dias após a infecção. Alguns estudos relatam que o vírus atinge primeiro a substância cinzenta e posteriormente a substância branca. As lesões dependem da cepa do vírus (BEINEKE et al., 2009).

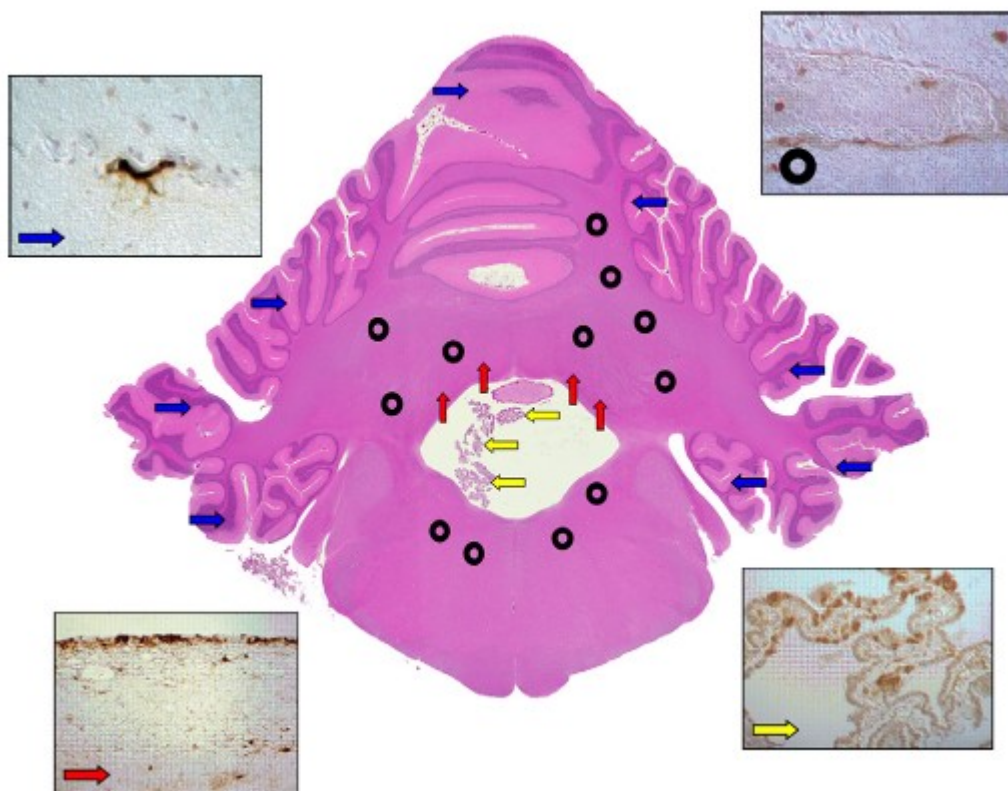


Figura 8: A ilustração representa o VCC se disseminando dentro do SNC. A seção transversal do cerebelo indicada por setas azuis mostra a disseminação viral por meio de células meníngeas infectadas. Os círculos pretos mostram a disseminação viral via leucócitos infectados e células endoteliais. As setas amarelas apontam a disseminação viral via células epiteliais do plexo coróide infectadas e as setas vermelhas se referem à propagação viral via células endimárias infectadas (BEINEKE et al., 2009).

3.2 Estágio agudo da infecção neurológica da cinomose

Entre 16 a 24 dias de infecção pelo VCC, podem ser observadas as lesões agudas, havendo por vacuolização focal da substância branca e infecção glial com poucos astrócitos e macrófagos ativados. Os vacúolos crescem em número e tamanho para formar uma placa com astrogliose e formação de células gigantes multinucleadas, porém com poucos infiltrados mononucleares (BEINEKE et al., 2009).

Os cães afetados com cinomose no estágio inicial da doença devido a imunossupressão podem apresentar uma resposta imunológica humoral e celular que teria pouca interferência no desenvolvimento da lesão inicial e a maior parte do comprometimento neurológico é causado pela atividade viral, porém mesmo na ausência de resposta imunológica na fase aguda, os anticorpos IgM ocorrem nas primeiras 2 semanas de infecção (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005).

Uma grande quantidade de células CD8 + estão presentes em lesões desmielinizantes agudas no parênquima cerebral, causadas pela atividade do *Morbillivirus*. A ativação de células da microglia pode desencadear a invasão de células T no SNC (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005).

Na fase aguda da infecção do VCC a resposta imune não é eficaz durante as duas primeiras semanas, porém as células CD8 estão presentes nas lesões desmielinizantes no parênquima cerebral e no LCR. A ativação de células da microglia pode induzir a proliferação de células T, no SNC. A atividade viral causa lesões na substância branca e na cinzenta podendo ocorrer necrose, resultando em polioencefalomalacia (CARVALHO et al., 2012).

As lesões na substância branca geram a desmielinização, na substância cinzenta ocorre a infecção neuronal e necrose do tecido nervoso. A reatividade astrocítica ocorre junto com a presença de inclusões citoplasmáticas e nucleares (CARVALHO et al., 2012; DE NARDO et al., 2020).

A diminuição da síntese de mielina, ativação de células da microglia e disfunção metabólica em oligodendrócitos infectados pelo VCC, contribuem nas lesões agudas no SNC (GALÁN et al., 2014). Estudos de imuno-histoquímica mostraram a presença de células imunes já em fase aguda, subaguda e em lesões não inflamatórias (BEINEKE et

al., 2009). As lesões subagudas com desmielinização ocorrem entre 24 a 32 dias após o início da infecção (KLEMENS et al., 2019).

As lesões iniciais causadas pelo VCC no estágio agudo da doença, durante o período de imunossupressão grave, são a desmielinização induzida pelo *Morbillivirus*. A desmielinização ocorre durante o processo de replicação do VCC nas células gliais da substância branca. A maioria das células infectadas são astrócitos, porém ocorre também à infecção de oligodendrócitos, as células produtoras de mielina (GRIOT et al., 2003).

A infecção aguda da substância branca por VCC interfere em alterações metabólicas em oligodendrócitos, favorecendo a desmielinização. Outros danos na mielina são causados por fatores tóxicos, liberados por células da microglia. (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005).

As lesões agudas são caracterizadas por vacuolização, havendo edema nas bainhas de mielina e hiper celularidade da substância branca em astrócitos e células da microglia. Podem ser observados nesta fase, os corpos de inclusão eosinofílicos intranucleares e / ou intracitoplasmáticos. Além de uma leve diminuição da densidade da bainha de mielina por causa da vacuolização do neurópilo (GRIOT et al., 2003).

As lesões subagudas apresentam desmielinização, astrogliose com gemistócitos, macrófagos / microglia ativados, células de gitter e linfócitos únicos no neuroparênquima, mas sem inflamação perivascular (GRIOT et al., 2003).

Na fase aguda da cinomose, as lesões na substância branca, ativação de células microgliais, progressão da reação imune e a desmielinização somadas a uma modulação associada à doença da neurogênese hipocampal resultam em convulsões sintomáticas e / ou epilepsia crônica nos cães acometidos, além disso, os cães podem desenvolver encefalite aguda (GALÁN et al., 2014; VON RÜDEN et al., 2017).

3.3 Estágio crônico da infecção neurológica da cinomose

As lesões crônicas ocorrem entre 29 a 63 dias do início da infecção pelo VCC e apresentam desmielinização e inflamações linfo-histiocíticas nos espaços perivascularares, além de perda progressiva de reatividade em processos oligodendrogliais em lesões por VCC e perda significativa da bainha de mielina. Os mecanismos imunomediados, anticorpos anti-mielina, formação de imunocomplexos e persistência da infecção pelo VCC contribuem para a desmielinização crônica (GALÁN et al., 2014).

Nas células gitter ocorre a desmielinização e mielinofagia. A proteína S100 expressa em células da linhagem astrocítica e oligodendrogial, diminui nas lesões pelo VCC. A leucoencefalite induzida se desenvolve progressivamente. Nas lesões subagudas crônicas a quantidade de células infectadas pelo VCC é reduzida em infecções experimentais (GALÁN et al., 2014; KLEMENS et al., 2019).

As infecções crônicas apresentam malácia, redução de gemistócitos e de astrócitos, gliose, inflamação severa, infiltrado e manguitos perivascularares compostos de linfócitos e células plasmáticas, além de desmielinização focal, geralmente os cães mais idosos apresentam maiores chances de desenvolver a encefalite crônica (GALÁN et al., 2014; KLEMENS et al., 2019).

Ao ocorrer a infiltração do vírus, uma hipersensibilidade tardia mediada por CD4 + e células T CD8 + citotóxicas, favorece a perda de mielina na fase crônica. A leucoencefalomielite desmielinizante acontece quando há uma alteração entre o equilíbrio das metaloproteínas da matriz e os seus inibidores (BEINEKE et al 2009).

As áreas de necrose liquefativa estão presentes em áreas de desmielinização com forte presença de astrócitos gemistocíticos e perivascularares, indicando que a infecção se tornou crônica. Estas células expressaram MIF, MMP-9, GFAP e MHC-II (WYSS-FLUEHMANN et al., 2010)

As lesões crônicas apresentam uma desmielinização severa, podendo haver preservação dos axônios ou lesões com necrose da bainha de mielina. Observa-se nessas lesões um infiltrado perivascular de células mononucleares com proeminência de

macrófagos e mudanças astrogliais. Os corpúsculos de inclusão viral são observados nessas lesões (VANDEVELDE et al., 1981).

A persistência viral no SNC induz mecanismos imunomediados na fase crônica com leucoencefalomielite marcante. Os fatores que favorecem a persistência incluem infecção não citolítica e pouca disseminação do VCC pela limitação de expor o antígeno viral ao sistema imunológico local (BEINEKE et al., 2009).

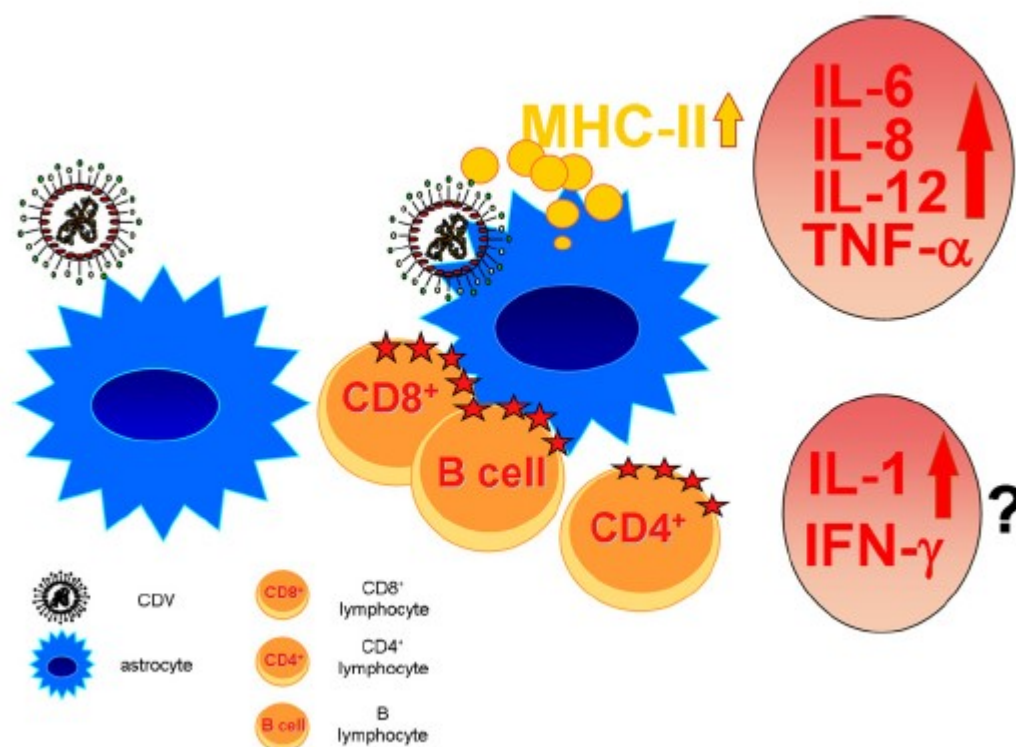


Figura 9: Representação da patogênese das lesões crônicas na leucoencefalite desmielinizante, após a infecção pelo VCC. A ilustração mostra a diminuição ou ausência da expressão viral e um aumento do influxo de células CD8 +, CD4 + e B na região perivascular.

Além disso, as células cerebrais periféricas mostram um aumento de MHC de classe II e uma regulação positiva moderada a grave de IL-6, IL-8-, IL-12 e TNF- α (BEINEKE et al., 2009).

3.4 Os mecanismos de defesa imunológica no SNC na neuroinvasão pelo VCC

Os astrócitos são as células presentes em maior quantidade no SNC e fornecem suporte trófico para os neurônios (LIDDELOW et al., 2017; KLEMENS et al., 2019).

Os astrócitos e as suas terminações envolvem as células endoteliais microvasculares da barreira hematoencefálica (BHE), mantendo essa barreira livre de toxinas e substâncias estranhas ao cérebro. Nas infecções virais no SNC, os vírus ao atravessarem a barreira hematoencefálica, lesam neurônios, ocorrendo a ativação glial e a produção de citocinas como interferons do tipo I (IFNs), expressadas por astrócitos, havendo o estímulo de células pró-inflamatórias (LIDDELOW et al., 2017; KLEMENS et al., 2018).

A neuroinvasão viral leva a deleção de astrócitos e morte celular neuronal imunopatológica (KLEIN et al., 2019). Durante a ocorrência de lesões neurais, os astrócitos se modificam e formam uma cicatriz glial, sendo esse processo denominado de astrocitose reativa (LIDDELOW et al., 2017; KLEMENS et al., 2018).

Os astrócitos expressam baixos níveis de MHC classe I, na infecção viral essa produção aumenta, havendo o reconhecimento de células T. A micróglia ativada em função semelhante aos astrócitos, altera a sua morfologia e regula a expressão de receptores que serão responsáveis pela produção de quimiocinas de defesa de lesões no SNC. A micróglia regula a cascata de complemento clássica, gerando um processo patológico em nível cerebral (KLEIN et al., 2019).

A ativação do sistema imunológico é coordenada por células gliais como a micróglia e os astrócitos, mostrando uma correlação entre a inflamação e a neurodegeneração (HEPPNER et al., 2015). A atuação conjunta da micróglia com o astrócito promove a defesa imunológica em invasões virais, pois os astrócitos fazem a neuroproteção, regulação sináptica, reparo neuronal a fim de manter a integridade da barreira hematoencefálica. As células da glia produzem fatores neurotróficos e citocinas antiinflamatórias (KLEIN et al., 2019).

Fatores intrínsecos do SNC e doenças sistêmicas se correlacionam com a neuroinflamação. As células como a microglia, células mieloides perivasculares e outros elementos reativos como astrócitos, participam da reação inflamatória no SNC. A

ativação imunológica em doenças neuroinflamatórias pode promover a degeneração do tecido nervoso. Desse modo, a terapia para doenças neurodegenerativas deverá ser direcionada para a contribuição do sistema imunológico, que é ativo na doença primária (encefalites) ou secundária a doenças sistêmicas e as alterações astrocíticas (HEPPNER et al., 2015).

A isquemia e a neuroinflamação estimulam os astrócitos que regulam genes da cascata do complemento, que se mostram destrutivos para as sinapses ao perderem algumas funções astrocíticas habituais e passam a apresentar uma função neurotóxica, destruindo neurônios durante uma doença neurodegenerativa (HEPPNER et al., 2015). As sequelas neurológicas são um produto da persistência de RNA viral, prejuízo em sinapses hipocampus, sinalização de resposta imunológica pelas células gliais, liberação de citocinas antineurogênicas como IL-1 β e pelos astrócitos, resultando em alterações neurocognitivas no paciente (HEPPNER et al., 2015; SOUNG & KLEIN, 2018).

A desmielinização ocorre como uma sequela da ação do vírus e infiltração de células T citotóxicas CD8, havendo uma regulação de citocinas pró-inflamatórias como interleucina (IL) -6, IL-8, fator de necrose tumoral (TNF) - α e IL-12 (BEINEKE et al 2009).

3.5 Encefalite causada pelo *Morbillivirus* na cinomose

As lesões neurológicas causadas pelo vírus da cinomose estão relacionadas à evolução das lesões no SNC quando a doença progride (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 1995). Os sinais clínicos da cinomose e o nível de comprometimento da doença dependem da cepa do vírus, idade e estado imunológico do cão, sendo que as lesões iniciais na mielina se desenvolvem durante um período de imunossupressão (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 1995; LEMPP et al., 2014).

A localização neuroanatômica da infecção viral irá interferir no quadro clínico e nas alterações neurológicas (LEMPP et al., 2014). As proteínas do virion do VCC possuem três proteínas do nucleocapsídeo, sendo a proteína do nucleocapsídeo (NP) de ligação ao RNA uma fosfoproteína (P), uma proteína polimerase (L) e três proteínas,

uma proteína de matriz (M), uma proteína de fusão (F) e uma proteína hemaglutinina de fixação (H) (PARDO et al., 2005).

A proteína H viral é responsável pela transmissão celular do VCC no SNC. A transmissão do *Morbillivirus* pode ocorrer rapidamente através de junções comunicantes e se espalhar pelos astrócitos (CARVALHO et al., 2012). A proteína H liga o vírus a um receptor celular, gerando poros, independente da proteína F. A atividade do VCC ocorre entre um complexo de fusão e um receptor viral, se espalhando por células da glia (WYSS-FLUEHMANN et al., 2010).

Ao ativar a proteína F por polimerases específicas de tecidos, é gerado o processo infeccioso. Existem 10% de variações nas seqüências de aminoácidos da proteína H com reações biológicas nas células hospedeiras (PARDO et al., 2005). A infecção da cinomose causa a leucoencefalite desmielinizante, sendo a principal manifestação observada na cinomose seguida pela disseminação do vírus na substância branca (SEEHUSEN et al., 2017).

Na leucoencefalite ocorre uma infiltração de células T citotóxicas CD8-positivas e citocinas pró-inflamatórias, como as interleucina IL 6 e IL-8, fator de necrose tumoral (TNF) $-\alpha$ e IL-12. A desmielinização ocorre em estágios avançados da doença, e constitui uma diminuição da expressão da proteína viral e uma regulação positiva de MHC de classe II, interferon- γ e IL-1, resposta imune dominada por linfócitos CD4 e CD8 positivos, células plasmáticas e macrófagos (SEEHUSEN et al., 2017).

Os antígenos virais são demonstrados nas lesões iniciais. No início do curso da doença, ocorre infecção de macrófagos do epitélio do plexo coróide que se desprendem dos ventrículos e são depositados nas superfícies ependimárias, resultando em infecção ependimal e desmielinização periventricular subsequente (SUMMERS & APPEL, 1994).

Durante a infecção no SNC pelo vírus da cinomose, ocorrem à maturação e a plasticidade dos astrócitos, axonopatia primária e uma potencial regeneração mediada por células de Schwann. A proliferação de citocinas, metaloproteinases de matriz e seus inibidores, podem influenciar no grau da inflamação e distribuição do vírus pelo SNC. Algumas cepas do CVD como a Snyder Hill podem causar polioencefalite aguda, enquanto A75 / 17 e R252 causam predominantemente leucoencefalite desmielinizante (SUMMERS & APPEL, 1994; PLATTET et al., 2007; LEMPP et al., 2014). A

desmielinização causada pelas cepas A75 / 17 e R252 produz uma doença desmielinizante crônica semelhante à esclerose múltipla em humanos (PLATTET et al., 2007).

O modelo da anatomopatologia da cinomose embasa estudos sobre a esclerose múltipla, por se assemelhar no mecanismo de desmielinização. O acoplamento de astrócito-astrócito e astrócito-oligodendrócito por junções gap é responsável pela manutenção da homeostasia e sobrevivência do astrócito. A ablação genética de conexina-30 e conexina-43, duas proteínas de conexina, que são as responsáveis pelo par de junções gap oligodendrócito-astrócito, leva a astrogliose acentuada, vacuolização da mielina e convulsões tônico-clônicas. As alterações observadas nas junções comunicantes em astrócito-oligodendrócito contribuem para a gênese das convulsões em casos crônicos (VON RÜDEN et al., 2017).

A neuroinvasão pode ocorrer por infecção de células epiteliais e endoteliais. A cepa A75 / 17-VCC é considerada uma das mais virulentas e desmielinizantes, infectando principalmente os astrócitos da substância branca (SUMMERS & APPEL, 1994; PLATTET et al., 2007; LEMPP et al., 2014).

O vírus se propaga pelo contato entre as células lateralmente de maneira seletiva, acometendo principalmente os astrócitos. A cepa A75 / 17 VCC recombinante expressa uma unidade de transcrição entre os genes M e F. A velocidade de transmissão entre as células é variável. O VCC recombinante que expressa a proteína RFP infecta as células por mecanismos não citolíticos (WYSS-FLUEHMANN et al., 2010).

Além disso, há também evidências de infecção primária de células endoteliais do SNC contribuindo para a neuroinvasão, podendo ocorrer o comprometimento de células da pia-máter à substância cinzenta subpial. Dentro do SNC, o vírus pode infectar células do revestimento ependimal dos ventrículos, células gliais e neurônios. A invasão do vírus pode ocorrer através de filamentos do nervo olfatório para os gânglios olfatórios e subsequente para estruturas mais profundas do SNC (LEMPP et al., 2014).

O processo de desmielinização está relacionado a vários fatores como as alterações metabólicas em oligodendrócitos, impedindo-os de realizar as suas funções. Nas áreas de desmielinização, os astrócitos se tornam ativados (WYSS-FLUEHMANN et al., 2010).

As inclusões intranucleares não são comumente observadas em oligodendrócitos. Na fase aguda da neuroinflamação, causada pelo *Morbillivirus*, ocorre a morte de neurônios, ativação da microglia, gliose reativa e liberação de citocinas pró-inflamatórias em áreas afetadas, ocorrendo um aumento de astrócitos e células da microglia em áreas infectadas, desencadeando uma forte resposta imunológica local (DE NARDO et al., 2020).

A deposição de imunocomplexos durante a ativação do sistema imunológico, pode contribuir para a disseminação viral no endotélio do SNC, e a penetração viral ocorre pelo LCR. O *Morbillivirus* pode invadir células endoteliais vasculares nas meninges, células do plexo coróide do quarto ventrículo e células endimárias do sistema ventricular linear, uma vez que o vírus pode ser encontrado em grande parte no plexo coróide. Os astrócitos são as células alvo para o VCC no SNC. As lesões desmielinizantes são características da encefalite aguda e crônica (CARVALHO et al., 2012).

Nos casos de infecção pelo *Morbillivirus* existe o comprometimento do SNC na grande maioria dos casos, mesmo que o dano seja mínimo, sem que o paciente apresente alterações neurológicas como mioclonia e ataxia, por exemplo, (SUMMERS & APPEL, 1994).

A encefalomielite viral de curso agudo ou crônico é indicada pela presença de interferon no LCR. Uma análise histopatológica mostra a gliose focal sugerindo que na encefalite desmielinizante ocorra o predomínio de células gliais. Alguns estudos mostram que nem todos os *Morbillivirus* são neuropatogênicos, essa é uma característica predominante nas infecções da cinomose em cães, animais marinhos e no sarampo em humanos (SUMMERS & APPEL, 1994).

Os sinais neurológicos dependem da distribuição do vírus pelo SNC. Esta disseminação viral depende da resposta celular e humoral do paciente. Uma resposta imunológica eficiente é capaz de eliminar os vírus dos tecidos parenquimatosos. Os cães podem apresentar sinais clínicos de rigidez cervical, convulsões, sinais cerebelares e vestibulares, bem como paraparesia ou tetraparesia com ataxia sensorial. Em nível histológico, percebe-se polioencefalite e leucoencefalomielite desmielinizante. (BEINEKE et al., 2015).

Alguns animais podem se recuperar de forma lenta e desenvolver uma doença crônica ou recidivante com progressão das lesões desmielinizantes causadas por reações imunopatológicas (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 1995).

3.6 A função imunológica das células da microglia e dos oligodendrócitos, na encefalite pelo VCC

As células da microglia representam entre 5 a 20% da população de células gliais do SNC. Durante um evento patológico, as células da microglia progridem do estado de repouso para a ativação, ocorrendo a proliferação, migração e expressão de moléculas de superfície, sendo responsáveis pela defesa do SNC contra agentes invasores e células neoplasias, além de participar na recuperação do sistema nervoso central frente a uma doença (STEIN et al., 2006).

A entrada de células imunes é limitada pela barreira hematoencefálica (BHE) e por células endotéliais, microglia e astrócitos. A microglia e os astrócitos são altamente reativos frente a estímulos inflamatórios e infecciosos. As células da microglia desempenham um papel importante na imunovigilância do SNC por ser ativada nos estágios iniciais de respostas às lesões, precedendo as reações de outras células nervosas. As ações sinérgicas da microglia e dos astrócitos promovem o reparo tecidual após as lesões e envolvem o controle da BHE, a entrada de células sanguíneas, a remoção de citocinas pró-inflamatórias e a sua regulação (LEMOS et al., 2008).

As células da microglia têm função semelhante à dos macrófagos como a fagocitose, modulação de células T, produção de citocinas, quimiocinas, oxigênio reativo e espécies de nitrogênio. As células da microglia também apresentam antígenos de MHC, classe I e II e são ativadas durante a infecção pelo VCC, expressando imunofenótipos e participando ativamente na infecção pelo *Morbillivirus* (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005).

Os oligodendrócitos apresentam uma discreta participação na infecção por VCC, em contraste com os astrócitos. Não há evidências de que os oligodendrócitos sofram apoptose na infecção por VCC. A transcrição viral que ocorre nessas células

pode ter alguma interferência na manutenção de membranas de mielina (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005).

A ativação de células microgliais com liberação de fatores tóxicos pode induzir danos à bainha mielina. As células microgliais expressam MHC, moléculas de adesão, atividade fagocítica e produção de radicais de oxigênio em distúrbios desmielinizantes. Esta intensa atividade das células da microglia pode ocorrer em infecções pelo VCC. Os danos em células de oligodendrócitos podem estar relacionados à ativação de células da microglia (VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005).

3.7 Manifestações neurológicas causadas pela cinomose

Alguns estudos mostram que em torno de 30% dos cães infectados pelo VCC desenvolvem alterações neurológicas que podem ser observadas de 1 a 6 semanas após o início dos sinais clínicos. Após a replicação do vírus nos tecidos linfóides, se a resposta imunológica não for satisfatória, ocorre uma viremia secundária resultando na disseminação do vírus às células epiteliais de vários órgãos, causando doenças multissistêmicas incluindo o SNC, ocorrendo assim polioencefalopatias que causam disfunção do prosencéfalo (GREEN et al., 2020).

O VCC invade os astrócitos, microglia, oligodendrócitos, neurônios, células endimárias, células do plexo coróide e oligodendrócitos, levando à desmielinização. Os astrócitos são os mais afetados pelo *Morbillivirus*, e as alterações neurológicas da cinomose ocorrem como resultado da desmielinização aguda ou crônica com manguito perivascular de linfócitos, células plasmáticas e monócitos (GALÁN et al., 2014). Os sinais vestibulares podem ser observados com lesões nos pedúnculos cerebelares (AMUDE et al., 2007).

A forma neurológica da cinomose apresenta algumas manifestações clínicas que podem ocorrer isoladamente ou combinadas, tais como a mioclonia, ataxia, convulsão, paraplegia, retenção urinária, rigidez muscular, atrofia muscular, pressão da cabeça contra objetos, disfagia e incontinência urinária. A mioclonia do temporal e de músculos dos membros anteriores seguida de convulsão, opistótono, tremores,

movimentos de goma de mascar da boca e movimentos de pedalagem (SILVA et al., 2007; GALÁN et al., 2014; GREEN et al., 2020).

As manifestações posturais e motoras nos quadros de cinomose são a paraplegia, tetraplegia progressiva parcial ou completa, sinais vestibulares, demência, inclinação lateral da cabeça, alterações na função do neurônio motor inferior e hiperestesia, ausência de propriocepção consciente e ausência de reflexo de retirada após estímulo doloroso (SILVA et al., 2007; GALÁN et al., 2014; GREEN et al., 2020).

3.8 Síndromes neurológicas decorrentes do VCC

As síndromes neurológicas decorrentes do VCC incluem a encefalomielite por cinomose em cães imaturos, encefalomielite por cinomose multifocal em animais maduros, encefalite de cães idosos (ODE), encefalomielite recorrente crônica e encefalite pós-vacinal da cinomose. A etiologia dessas síndromes envolve o VCC, a idade dos cães e a localização neuroanatômica das lesões neurológicas (HEADLEY et al., 2009).

3.9 Encefalite do cão idoso

A ODE é uma síndrome de ocorrência rara e grande parte das manifestações neuropatológicas foi reproduzida experimentalmente. A patogênese da ODE não está totalmente elucidada, e o diagnóstico da ODE é confirmado por achados histopatológicos no encéfalo, histórico, alterações no exame neurológico e isolamento viral através do exame de RT-PCR (HEADLEY et al., 2009).

A primeira descrição de ODE encefalite foi publicada em 1942, no qual foi relatado que 6 cães com idades entre 2 a 6 anos apresentaram extensa proliferação de pequenos vasos nas camadas de células piramidais do córtex, necrose perivascular, focos de hemorragia perivascular, corpúsculos de inclusão em 3 desses cães que estavam com uma encefalite mais grave. Observou-se incoordenação motora, andar em círculos, dismetria, rigidez ao andar, dificuldades na marcha e distúrbios visuais (ADAM et al., 1975).

As alterações clínico-patológicas de sinais neurológicos corticais progressivos, infiltrado perivascular grave multifocal e encefalite linfoplasmática parenquimatosa envolvendo principalmente o cérebro e o tronco encefálico, são lesões características de ODE. Os cães acometidos podem não apresentar evidências de infecção aguda subclínica pelo VCC, contudo a infecção pelo VCC é persistente no cérebro e os anticorpos neutralizantes do vírus podem ser encontrados no soro sanguíneo e no líquido cefalorraquidiano (AXTHELM & KRAKOWKA, 1998).

As mudanças comportamentais comuns são incoordenação motora, andar compulsivo e em círculo, podendo ocorrer convulsões. O exame neurológico pode mostrar déficits de reações posturais, circulação compulsiva, cabeça sendo pressionada contra objetos, estrabismo e dificuldade para andar (ADAM et al., 1975; HEADLEY et al., 2009).

A ODE pode representar os efeitos cumulativos da encefalite pelo VCC crônica ou subclínica em estágio terminal, havendo um distúrbio neurológico progressivo e predominantemente cortical em cães adultos, ou ainda, pode ter características típicas da infecção no SNC por vírus do tipo selvagem (AXTHELM & KRAKOWKA, 1998).

A ODE pode afetar cães adultos com históricos de vacinação completa ou ocorrer a reinfecção de cães imunes por VCC do tipo selvagem com subsequente imunomediação rápida a supressão da produção de vírus extracelular dentro do SNC, podendo desenvolver a ODE. Algumas cepas do *Morbillivirus* podem ser indistinguíveis do vírus virulento de tipo selvagem por métodos diagnósticos de rotina, podem causar infecção persistente do SNC e ODE em virtude de determinantes de virulência únicos e não identificados (AXTHELM & KRAKOWKA, 1998).

Em avaliação macroscópica do encéfalo, podem ser observadas lesões no córtex frontal, núcleo basal, lobo piriforme, rostral, tálamo, substância branca subcortical, corpo caloso, corona radiata e cápsula interna (HEADLEY et al., 2009).

Na histopatologia, observa-se principalmente a perda de demarcação distinta entre a substância cinzenta e branca, havendo rarefação severa da substância branca e cinzenta do parênquima associada a infiltrado inflamatório perivascular linfoplasmocitário, proliferação de componentes gliais, corpúsculo de inclusões intranucleares e intracitoplasmáticas em astrócitos, necrose de neurônios no córtex cerebral, astrocitose e desmielinização da substância branca (HEADLEY et al., 2009).

Pode acometer cães a partir de 6 anos, porém a ODE não é ocasionada naturalmente como resultado de encefalite aguda multifocal, pois existem lesões cicatriciais inativas no cérebro de cães maduros com encefalite multifocal crônica, e o cerebelo de cães com ODE não apresentou lesões, segundo os relatos da literatura sobre o assunto (AXTHELM & KRAKOWKA, 1998).

As áreas crônicas de desmielinização estão presentes na ODS com distribuição angiocêntrica proeminente da inflamação, se diferenciando da cinomose desmielinizante multifocal. Já foi estudado 1 cão com ODS em que a desmielinização do SNC não foi associada a astrócitos infectados por vírus ou macrófagos, como é o caso das lesões desmielinizantes agudas. Esses astrócitos foram associados à infiltração de linfócitos, células plasmáticas e monócitos negativos para vírus, porém esse caso é o único relato na literatura em que as lesões desmielinizantes eram negativas para o vírus (AXTHELM & KRAKOWKA, 1998).

Além da encefalite, as lesões sistêmicas incluem lesões pulmonares, edema, congestão, hemorragia e enfisema. Em decorrência do comprometimento sistêmico gerado pelo VCC, a traquéia e pulmões podem ser afetados, sendo observadas alterações “pós-morte” como edema traqueal, pulmões com focos hemorrágicos e bronquite, principalmente (HEADLEY et al., 2009).

Em cães com ODS, a inflamação angiocêntrica e a desmielinização possuem um padrão morfológico mais semelhante à encefalite alérgica experimental em cães do que a encefalite causada pelo VCC. Alguns estudos sugerem que o dano ao tecido do SNC e a desmielinização podem ser resultado dos efeitos de células T e B específicas de vírus infiltradas e citocinas inflamatórias (AXTHELM & KRAKOWKA, 1998).

A encefalite viral nas células parenquimatosas de cães com ODE pode ser uma característica da ODE, porém existem relatos de manifestações virais de infecção com corpos de inclusão, infecção em células astrogliais, células inflamatórias e oligodendrócitos (AXTHELM & KRAKOWKA, 1998).

As alterações patológicas da ODE podem ser utilizadas para estudar doenças em humanos como esclerose múltipla, panencefalite esclerosante subaguda e neuromielite óptica pela semelhança de achados histopatológicos como a presença de infiltrado perivascular com linfócitos, células plasmáticas e desmielinização. Os cães com ODE apresentam uma encefalite crônica (ADAM et al., 1975).

Apesar de existirem algumas hipóteses para a etiopatogenia da ODE, faltam provas suficientes para confirmação dessas teorias, pois não é possível reproduzir experimentalmente a ODS satisfatoriamente devido à incapacidade de excluir fontes múltiplas de infecção por VCC ou mesmo a influência de outros agentes na patogênese da ODE (AXTHELM & KRAKOWKA, 1998).

3.10 Alterações histopatológicas do Sistema Nervoso Central de cães com encefalite por cinomose

A encefalite induzida pelo VCC pode se manifestar de forma aguda, subaguda ou crônica, e raramente como uma polioencefalite. As lesões encefálicas causadas pelo VCC ocorrem principalmente no cerebelo, trato óptico, medula oblonga, pedúnculo cerebral, medula espinhal e, com menos frequência, na substância branca subcortical, fórnice, cápsula interna e corpo caloso. A classificação das lesões encefálicas e a progressão da doença dependem da cepa do vírus, estado imunológico e idade do hospedeiro (ULRICH et al., 2014).

Nos primeiros 10 dias da infecção pelo VCC, o vírus presente no líquido cefalorraquidiano se dissemina para a substância branca. Estudos mostram que a disseminação do VCC no SNC perfaz uma fase breve da doença na substância cinzenta antes do desenvolvimento da leucoencefalomielite desmielinizante, referindo que a sequência de entrada do VCC no SNC se inicia causando comprometimento da substância cinzenta e posteriormente lesões na substância branca. Porém, essas alterações dependem da cepa do vírus envolvido (BEINEKE et al., 2009).

Nas lesões agudas, que ocorrem entre 16 a 24 dias após a infecção, predominam-se acúmulos focais de células gliais antígeno-positivo do VCC acompanhados por vacuolização da substância branca, aumento do número de astrócitos, gliose reativa e liberação de citocinas pró-inflamatório, gerando uma alta resposta imunológica e morte de neurônios (ULRICH et al., 2014; DE NARDO et al., 2020).

As lesões subagudas com desmielinização, mas sem inflamação, podem ocorrer entre 24 a 32 dias após a infecção. As lesões subagudas às crônicas com desmielinização e inflamação ocorrem após 29-3 dias da infecção e são caracterizadas por números reduzidos do VCC. Na fase crônica ocorre o predomínio de polioencefalite

desmielinizante e leucoencefalomielite (BEINEKE et al., 2015; DE NARDO et al., 2020).

A desmielinização, disseminação de células mononucleares perivasculares, hiperplasia de astrócitos e proliferação de microglia na substância branca na fase crônica são resultados da expressão do complexo principal de histocompatibilidade de classe II (MHC-II) e da infiltração maciça de células B, CD8 +, CD4 que ocorre principalmente na microglia. Os astrócitos também contribuem para a formação do MHC-II que leva a um aumento da expressão da Proteína Ácida Fibrilar Glial (GFAP) no neurópilo junto às áreas desmielinizadas do cerebelo e tronco cerebral (STEIN et al., 2006; ORLANDO et al., 2008; DE NARDO et al., 2020).

As células antígeno-positivas e manguitos linfo-histioplasmacíticos perivasculares distintos de várias camadas de espessura e a desmielinização primária na leucoencefalite induzida pelo VCC inclui danos aos oligodendrócitos, desmielinização primária com a liberação de mielinotóxicos pelos macrófagos, espécies reativas de oxigênio e enzimas proteolíticas, como a matriz metaloproteinases e astrócitos ativados (ULRICH et al., 2014).

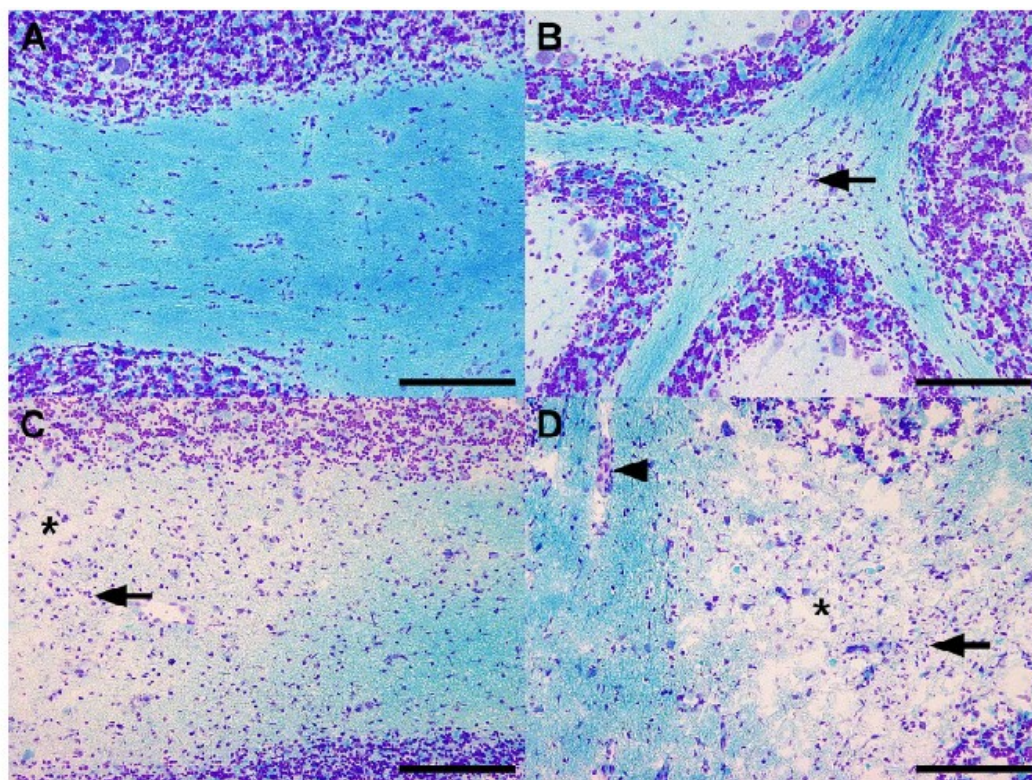


Figura 10: Alterações anatomopatológicas características dos diferentes subtipos de leucoencefalite causadas pelo VCC. Coloração: azul-cresil rápido Luxol. Barras de escala = 200 μ m (ULRICH et al., 2014).

- a) O cerebelo dos cães não infectados, sem alterações histológicas.
- b) O cerebelo de cães afetados por leucoencefalite aguda por VCC. A figura apresenta alterações em astrócitos e microgliose focal (seta) e ocasionalmente poucas bainhas de mielina vacuoladas (ULRICH et al., 2014).
- c) O cerebelo de cães afetados por VCC na fase subaguda, apresentando leucoencefalite com desmielinização, mas sem inflamação. A substância branca está desmielinizada focalmente (asterisco) combinada com astro e microgliose (seta) (ULRICH et al., 2014).
- d) O cerebelo de cães afetados por leucoencefalite crônica por VCC com desmielinização e com inflamação apresentou substância branca desmielinizada focalmente (asterisco), combinada com astro- e microgliose (seta), bem como infiltrados inflamatórios perivasculares (ponta de seta) (ULRICH et al., 2014).

A cepa Snyder Hill geralmente afeta os neurônios, induzindo a polioencefalite e a cepa R252 e a cepa A75-17 causam lesões nas células da glia e leucoencefalomielite desmielinizante (BEINEKE et al., 2009). Estudos “In vitro” mostraram que as cepas

mais virulentas do VCC, como a A75-17, o Snyder Hill, o Rockborn e a Cepa Onderstepoort, podem infectar astrócitos, microglia, fibroblastos e macrófagos, sendo que os macrófagos são as primeiras células a serem infectadas (ORLANDO et al., 2008). O VCC afeta 95% dos astrócitos e pode causar desmielinização na substância branca, infecção neuronal e necrose do tecido nervoso na substância cinzenta (VANDEVELDE E ZURBRIGGEN, 2005; DE NARDO et al., 2020). A reatividade dos astrócitos pode gerar inclusões citoplasmáticas e nucleares (VANDEVELDE E ZURBRIGGEN, 2005; BEINEKE et al., 2015).

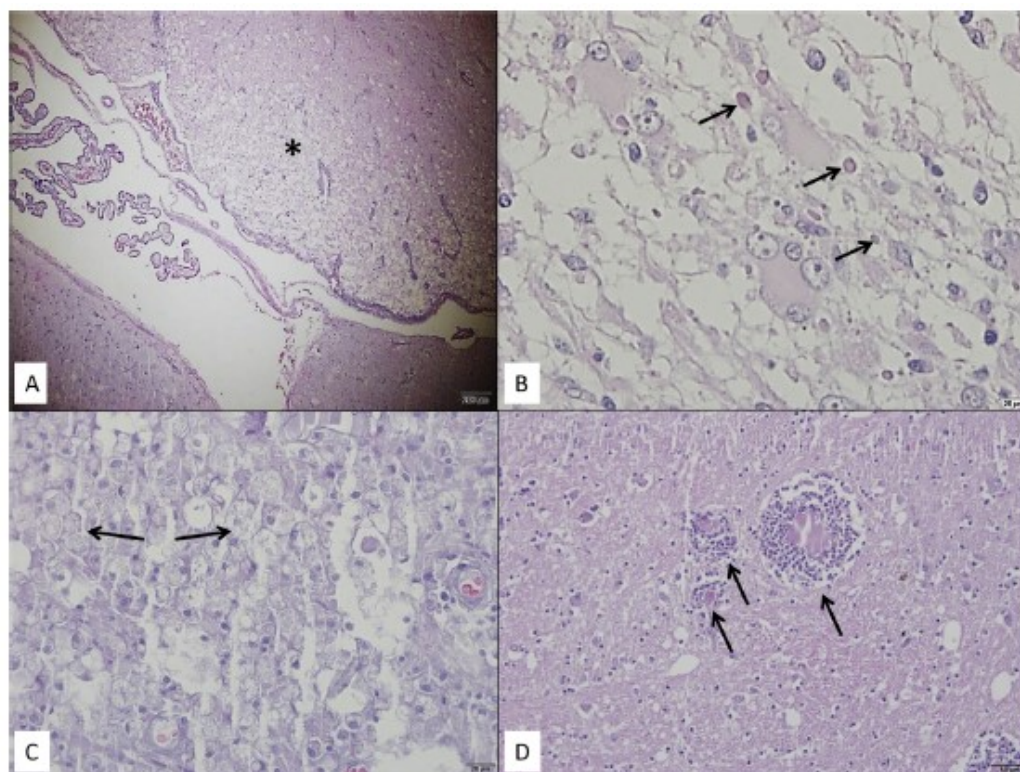


Figura 11: Fotomicrografias do cérebro de cães com cinomose. Coloração: Hematoxilina e Eosina (DE NARDO et al., 2020).

A) A área de desmielinização na substância branca adjacente ao quarto ventrículo (*, bar = 200 μ m) DE NARDO et al., 2020).

B) Presença de numerosas inclusões acidofílicas pleomórficas no citoplasma de astrócitos reativos (setas, barra = 20 μ m) DE NARDO et al., 2020).

C) Área de necrose liquefativa rica em células Gitter (células fagocíticas derivadas de monócitos da circulação sanguínea, e em menor parte da micróglia residente) (setas, barra = 20 μ m) DE NARDO et al., 2020).

D) Manguitos perivasculares e hiperemia vascular em no neurópilo (setas, barra = 50 μ m) DE NARDO et al., 2020).

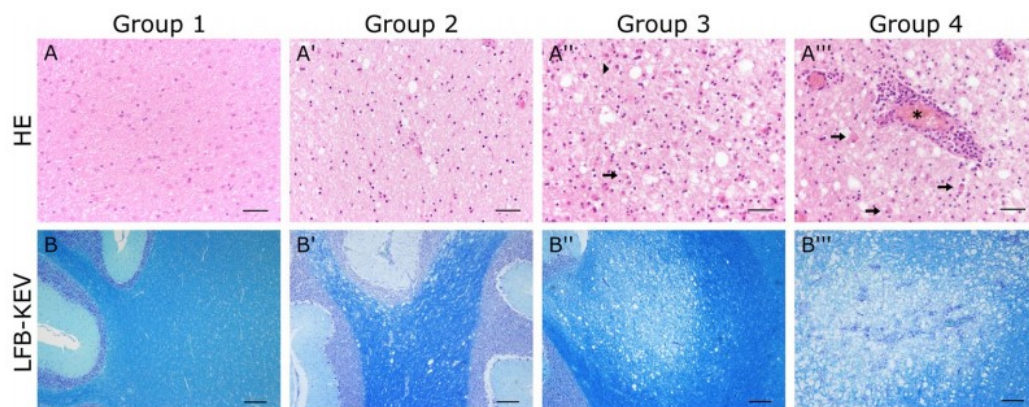


Figura 12: A figura mostra a apresentação histológica da substância branca cerebelar de cães do grupo controle e com cães com cinomose. Coloração: hematoxilina e eosina (HE) A – A''' e violeta azul-cresil rápido de luxol (LFB / KEV) (B – B''').

Grupo 1: O animal do grupo controle apresenta a substância branca intacta.

Grupo 2: Lesão aguda com hiper celularidade e vacuolização. (A', B')

Grupo3: Lesão desmielinizada subaguda com hiper celularidade, astrócitos gemistocíticos (seta), células gitter (cabeça de seta) e a coloração LFB / KEV intralesional diminuída.

Grupo 4: Lesão subaguda a crônica com cuffs perivascular marcados, astrócitos gemistocíticos (setas) e desmielinização da substância branca. Asterisco: vaso sanguíneo (A – A''') Barra de escala = 50 μ m. (B – B'''), barra de escala = 200 μ m. (KLEMENS et al., 2019).



Figura 13: O fragmento do lobo parietal direito de um cão, macho, SRD, adulto. A seta azul aponta um infiltrado de células inflamatórias mononucleares, sugestivas de linfócitos, na região encefálica.

Coloração H.E., aumento no microscópio de 400 x. (Paciente do setor de Moléstias Infecciosas (MI), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) -Unesp, Botucatu, 2021).

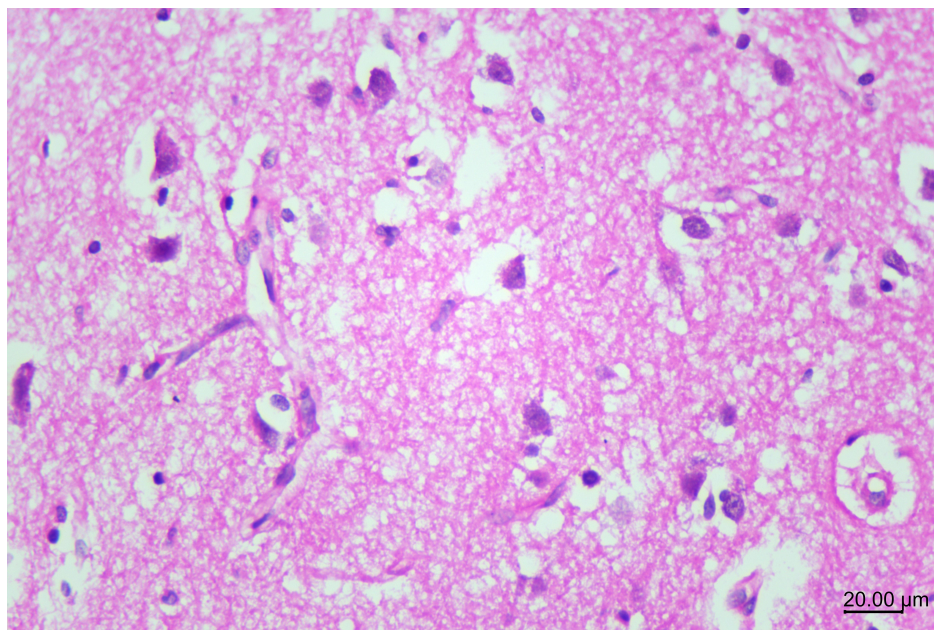


Figura 14: Imagem de um cão, macho, SRD, adulto. O fragmento do lobo parietal esquerdo mostra perda de substância branca, neurônios vermelhos por isquemia e degeneração neuronal. (Paciente do setor MI, FMVZ-Unesp, Botucatu, 2021).

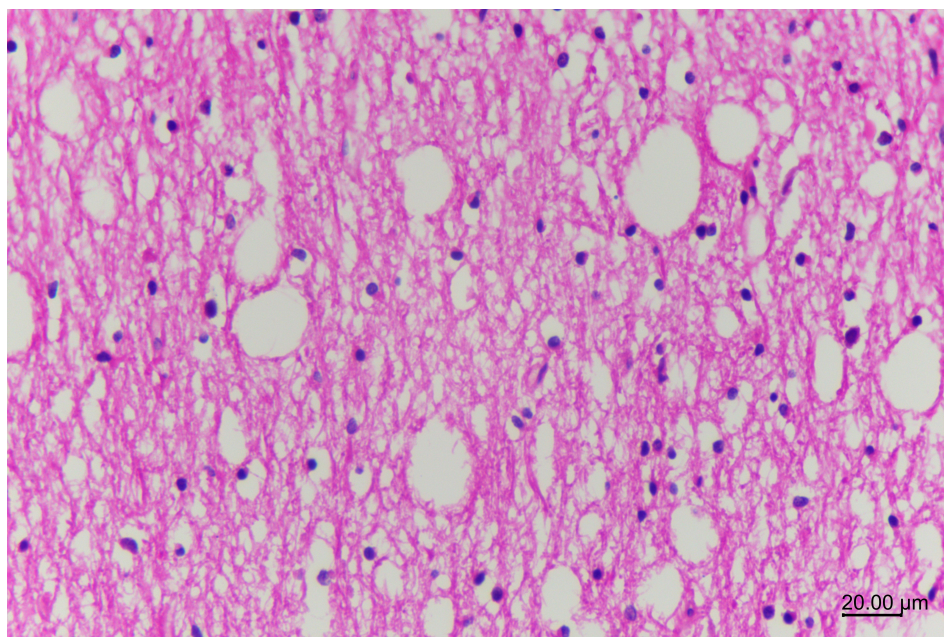


Figura 15: Imagem de um cão, macho, SRD, adulto. O fragmento do lobo parietal esquerdo apresentando astrócitos em desmielinização intensa e infiltrado linfocitário no lobo parietal. Coloração H.E. (Paciente do setor MI, FMVZ-Unesp, Botucatu, 2021).

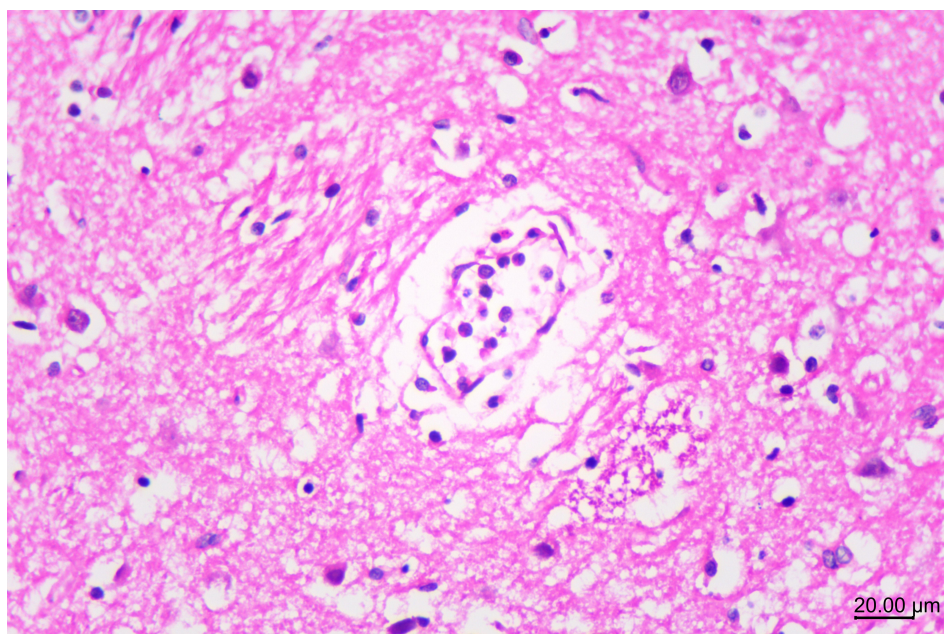


Figura 16: Imagem de um cão, macho, SRD, adulto. O fragmento do lobo parietal esquerdo apresenta infiltrado linfocitário de células mononucleares dentro do vaso, lesão neuronal por hipóxia (neurônio vermelho). Coloração H.E. (Paciente do setor MI, FMVZ-Unesp, Botucatu, 2021).

3.11 Alterações histopatológicas do Sistema Nervoso Central de doenças com mecanismos de desmielinização semelhantes à cinomose

A encefalite associada à desmielinização causada pelo *Morbillivirus* na cinomose, com danos em macrófagos, microglia, oligodendrócitos e astrócitos é utilizada como modelo experimental para pesquisas de doenças como Alzheimer, esclerose múltipla, esclerose amiotrófica lateral, leucodistrofias, deficiência de enzimas lisossomais, epilepsia, malformações corticais (lissencefalia e polimicrogria), demência, lesões focais, doença de Parkinson, encefalite autoimune, paralisia microglial, encefalomielite desmielinizante aguda, neuromielite óptica, entre outras (FREDERICK & CAMERON, 2016, GUERRERO & SICOTTE, 2020, DATTA et al., 2021).

Uma melhor compreensão das atividades das células da microglia e a sua ativação em processos inflamatórios complexos, alidos a fagocitose de mielina, apresentação de antígeno às células T, ação de macrófagos periféricos, linfócitos T e liberação de citocinas pró-inflamatórias em lesões ativas podem auxiliar em estudos de doenças neurodegenerativas (GUERRERO & SICOTTE, 2020).

A esclerose múltipla (EM), por exemplo, é uma doença desmielinizante inflamatória crônica do SNC com lesões na substância cinzenta e branca, havendo neurodegeneração em todo tecido cerebral, com remielinização incompleta e neurodegeneração. O tratamento visa o controle dos mecanismos imunológicos nos estágios iniciais da doença (LASSMANN, 2018, TORRE-FUENTES et al., 2020).

Na EM, assim como na cinomose, o processo inflamatório produz lesões teciduais com presença de infiltrados inflamatórios focais nas meninges e nos espaços perivasculares, que induzem a desmielinização ou neurodegeneração direta ou indiretamente por meio da ativação da microglia. As lesões oxidativas e o dano mitocondrial levam a hipóxia (LASSMANN, 2018).

As reações imunopatológica de células da astroglia produzem a desmielinização e a neurodegeneração no cérebro com EM, formando uma cicatriz glial. Na substância branca formam-se placas desmielinizantes focais,

havendo perda axonal e na substância cinzenta, no córtex, gânglios da base e tronco encefálico, ocorrem neurodegeneração difusa (LASSMANN, 2018).

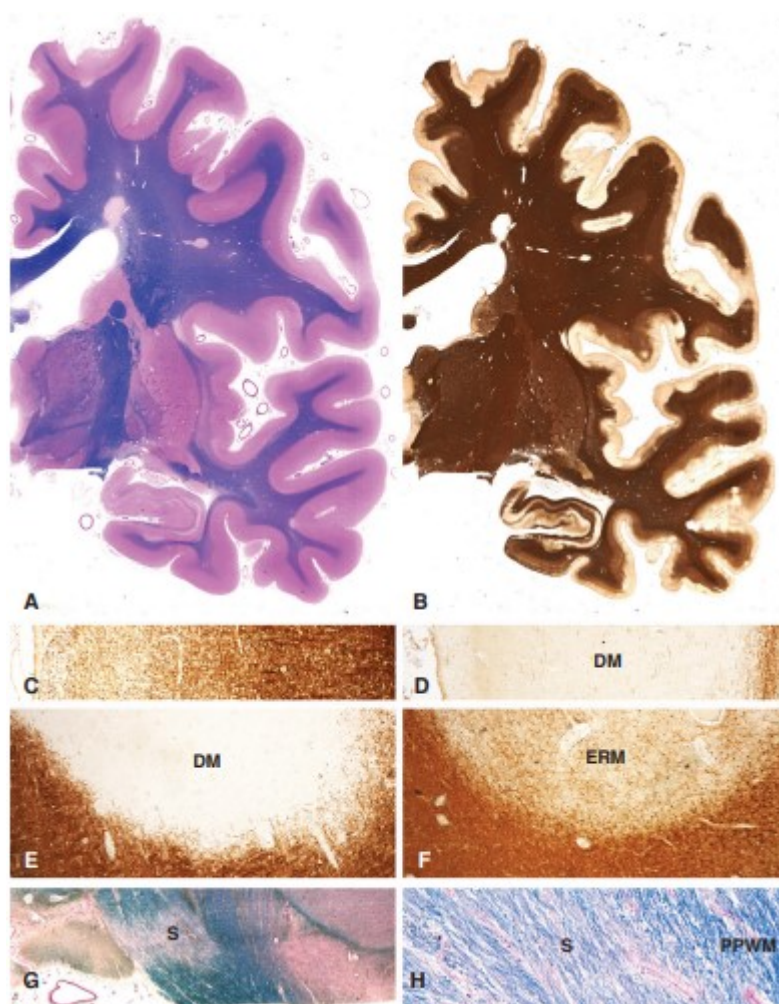


Figura 17: Alterações patológicas no cérebro de um paciente com esclerose múltipla (EM) secundária progressiva. As lesões desmielinizadas focais estão presentes na substância branca (A). Há extensa desmielinização subapical cortical. (B). Em contraste com o padrão normal de mielina no córtex cerebral, como mostrado em C, a perda completa de mielina nas lesões subpiaais (D). Placas desmielinizadas na substância branca podem aparecer como lesões desmielinizantes com uma baixa densidade de bainhas finas de mielina, visível por imunocitoquímica para proteínas de mielina ou como placas de sombra remielinizadas (G e H) (LASSMANN, 2018).

3.12 Diagnóstico:

O diagnóstico da cinomose depende do histórico do paciente, sinais clínicos e exames complementares. O VCC possui alta morbidade e a transmissão se dá através do contato direto com cães doentes, fluidos orais, respiratórios e oculares, além de exsudatos contendo o patógeno. Na fase aguda da infecção, as excreções como fezes e urina podem conter o vírus que é eliminado por até 90 dias em cães doentes. Os caninos não vacinados ou com histórico de vacinação incorreto podem transmitir a doença, inclusive ocorrendo a transmissão interespecíes (LOOTS et al., 2017).

Os sinais clínicos dependem da gravidade, cepa viral, idade do hospedeiro e estado imunológico. Uma resposta imune deficiente resulta em sinais inespecíficos como perda de apetite e febre. O VCC pode persistir por longos períodos nos neurônios, podendo causar lesões na úvea, urotélio e pele, como hiperqueratose (ATHANASIOU et al., 2017). Se a infecção ocorrer no início do desenvolvimento, antes da erupção da dentição, pode ocorrer hipoplasia do esmalte dentário como resultado da infecção nos botões dentários e ameloblastos ((VANDEVELDE & ZURBRIGGEN, 2005; LOOTS et al., 2017).

Os cães acometidos podem apresentar quadro agudo sistêmico e comprometimento nervoso, além da forma crônica. No quadro agudo que ocorre entre 2 a 3 semanas da infecção, o vírus se replica pelo organismo causando sinais clínicos graves como febre, secreção oculonasal mucopurulenta, manifestações respiratórias como rinite mucopurulenta, pneumonia intersticial e necrosante, bronquiolite, broncopneumonia supurativa devido a infecções secundárias, tosse, dispnéia, depressão, anorexia, vômito e diarreia. Os sinais neurológicos podem ocorrer junto com os sinais sistêmicos (SILVA et al., 2007; BEINEKE et al., 2009; MAHAJAN et al., 2018).

Em relação ao comportamento dos cães afetados, percebe-se ambulação em círculos, sonolência, vocalização, agressividade, inquietação, incapacidade de reconhecer os seus tutores e automutilação. Pode ocorrer ainda, sialorréia, retenção urinária, rigidez muscular, atrofia muscular, pressão da cabeça contra objetos, disfagia e incontinência urinária (SILVA et al., 2007).

Outros sinais clínicos de mielopatia com alterações na função do neurônio motor inferior e hiperestesia na infecção aguda por VCC são raros, mas podem ocorrer sendo

observados a claudicação, a hiperestesia, a ausência de propriocepção consciente e a ausência de reflexo de retirada após estímulo doloroso (GREEN et al., 2020).

A cinomose pode evoluir para uma doença grave em cães. (ATHANASIOU et al., 2017). O diagnóstico clínico de encefalomyelitis por cinomose pode ser mais complexo na ausência de sinais extraneurais. O comprometimento do sistema nervoso inclui manifestações em cães idosos e em cães jovens (BEINEKE et al., 2009; MAHAJAN et al., 2018; VON RÜDEN et al., 2021).

As manifestações neurológicas mais comuns são mioclonia, nistagmo, ataxia postural, opistótono, tremores, movimentos de pedalagem, déficits de reação, convulsões focais como os "ataques de goma de mascar" e/ou convulsões generalizadas, paresia, tetraparesia, plegia, paralisia, déficits proprioceptivos, movimentos circulares, mudanças comportamentais e disfunção vestibular, levando o paciente a óbito ou gerando sequelas neurológicas crônicas, como uma mioclonia persistente e/ou convulsões focais ou generalizadas. (BEINEKE et al., 2009; MAHAJAN et al., 2018; VON RÜDEN et al., 2021).

3.13 Diagnóstico laboratorial

Para haver uma melhor avaliação prognóstica, o diagnóstico precoce é essencial para diferenciar de outras doenças infecciosas, principalmente quando o paciente apresenta sinais neurológicos. Os materiais biológicos a serem coletados no estágio inicial da doença como as secreções nasais e oculares, podem fornecer um material biológico para a triagem dos animais infectados (MAHAJAN et al., 2018).

Os sinais clínicos que caracterizam febre, prostração e inapetência podem sugerir a coleta de sangue e urina. Os esfregaços conjuntivais, vaginais, lavados traqueais e sedimento de urina são úteis no diagnóstico final através de métodos como a imunofluorescência direta, porém esse método não é o mais confiável, pois pode dar resultados falso-negativos (MAHAJAN et al., 2018). A urina é um meio biológico em que pode ser pesquisado o RNA viral pelo método do PCR. (ATHANASIOU et al., 2017).

Os métodos que podem ser utilizados são a Imunocromatografia direta (IC) para a detecção de antígeno da cinomose canina, Quantitative Real Time-PCR (RT-PCR) e PCR nested, histopatologia do SNC, isolamento viral, Elisa, imunofluorescência, Análise do fluido cérebro-espinhal e hematologia. As taxas de positividade mais altas são relatadas nos exames de Elisa, IC e RT-PCR (COSTA et al., 2019).

No Elisa, as taxas de sensibilidade e especificidade variam de 93 a 100% e de 83 a 100%, respectivamente. A soroneutralização possui uma taxa de positividade de 38%. O nested PCR, considerado como o padrão ouro no diagnóstico de RNA do vírus da cinomose, tem alta sensibilidade, porém a sensibilidade depende do tipo de amostra coletada (COSTA et al., 2019).

Análises de detecção de anticorpos não são consideradas bons testes de diagnóstico, por causa da cinética do anticorpo de protocolos vacinais (ATHANASIOU et al., 2017).

3.14 Diagnóstico diferencial

As doenças neurológicas e infecciosas que acometem o SNC geralmente causam graves comprometimentos, deficiências que podem levar o animal a óbito, algumas dessas doenças são zoonoses (TIPOLD, 1995).

Entre essas doenças destaca-se a encefalite causada pelo VCC, *Ehrlichia canis*, raiva, encefalite por herpesvírus canino, encefalite causada pelo vírus da parainfluenza canina, encefalite pós-vacinal após a vacina contra cinomose ou vacinação anti-rábica, encefalomielite protozoária, meningoencefalite bacteriana, meningite causada pelos protozoários *Toxoplasma gondii* (*T gondii*) e *Neospora caninum* (*N caninum*) e hepatite infecciosa canina (*adenovírus canino-1*) (AROCH et al., 2018).

Algumas meningoencefalomielite são de etiologia desconhecida ou possuem suspeita de etiologia viral como a encefalite periventricular, meningoencefalomielite granulomatosa (GME), meningite-arterite responsiva a esteroides e meningoencefalite necrosante do Pug (TIPOLD, 1995, HORNSEY et al., 2019).

Exames de diagnóstico podem auxiliar na diferenciação das doenças neurológicas. Os achados hematológicos, exames do líquido cefalorraquidiano, índice

de imunoglobulina, citologia, imagens de tomografia e ressonância magnética contribuem para elucidar algumas doenças neurológicas. Um diagnóstico específico depende do histórico do paciente, aliado ao exame físico, exame neurológico, exames laboratoriais e de imagens (TIPOLD, 1995, CARDY & CORNELIS, 2018).

O diagnóstico pós morte inclui a necropsia e a histopatologia a ser realizada nos principais órgãos, incluindo o encéfalo (cérebro, tálamo, cerebelo, ponte, medula) em busca das alterações que caracterizam a doença (HORNSEY et al., 2019).

3.15 Diagnóstico diferencial entre raiva canina e cinomose

As infecções virais neurotrópicas representam uma grave ameaça à saúde dos seres humanos e do animal. As respostas do hospedeiro ao combater os agentes invasores, podem resultar em danos irreversíveis ao SNC (SUNDARAMOORTHY et al., 2020). A raiva é causada pelo vírus de RNA neurotrópico da família Rhabdoviridae, gênero Lyssavirus, sendo considerada a doença zoonótica com maior mortalidade no mundo (SABETA & NGOEPE, 2018).

A raiva se subdivide em forma furiosa em 80% de cães acometidos e na forma paralítica em 20% dos casos, os cães domésticos são os principais reservatórios da espécie. É difícil estimar a carga humana de raiva, porém ao se usar dados sobre a incidência de mordidas de animais suspeitos, os dados mostram que a raiva é subnotificada e que os casos reais podem ser até 100 vezes maiores do que os relatórios oficiais (SABETA & NGOEPE, 2018).

O RABV e outros Lyssavírus entram no sistema nervoso pelas sinapses dos neurônios periféricos e se disseminam por transporte axonal retrógrado. Após a endocitose mediada por receptor, os vírions invadem as vesículas endossômicas para alcançar o neurônio soma, fazendo a sua replicação. Os vírus replicados são transportados para membranas pós-sinápticas (POTRATZ et al., 2020).

Ocorrem degenerações de axônios e dendritos em resposta a infecção pelo Lyssavirus. A degeneração axonal é mediada pela perda de NAD (Dinucleótido de nicotinamida e adenina) e a digestão mediada por calpaína de proteínas estruturais essenciais. Estudos mostram que o gene SARM1 (Sterile Alpha and TIR Motif-

containing 1) na infecção por raiva, executa a autodestruição axonal e a deleção de SARM1, impedindo a propagação do vírus entre os neurônios interconectados. No entanto, este mecanismo de defesa resulta na perda patológica de axônios e dendritos (SUNDARAMOORTHY et al., 2020).

Os cães com raiva furiosa apresentam maior quantidade de antígenos nos neurônios. Na forma paralítica da doença, a propagação viral é mais lenta. A sintomatologia límbica domina o quadro clínico da forma furiosa, havendo sinais de hiperexcitabilidade a estímulos externos, agressividade, paralisia progressiva dos membros inferiores em direção à cabeça. (SHUANGSHOT et al., 2016). A replicação prolongada causa à leva a encefalite progressiva, levando o cão ao óbito (POTRATZ et al., 2020).

Na forma paralítica ocorre a disfunção dos nervos periféricos, axônio ou mielinopatia. Estudos apontam que há comprometimento funcional seletivo. Nos cérebros de cães raivosos, especialmente no tronco cerebral e no hipocampo, ocorrem alterações nos receptores muscarínicos de acetilcolina. A inflamação do tronco cerebral é uma resposta do hospedeiro para impedir a propagação viral para os hemisférios cerebrais (SHUANGSHOTI et al., 2016). A invasão viral do nucleocapsídeo viral da raiva se dá principalmente na linha média do SNC, tálamo, gânglios da base e tronco cerebral (SHUANGSHOTI et al., 2016).

Os principais métodos de diagnóstico da raiva são a IFD (Imunofluorescência direta), prova biológica que consiste na inoculação intracerebral em camundongos, além de testes baseados em ácido nucléico, microarray de DNA e exame histopatológico para confirmação de diagnóstico pela observação de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos (corpúsculo de Negri). A IFD é o método de diagnóstico padrão-ouro segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a OIE (Organização Mundial da Saúde Animal) (SINGH, 2017).

A confirmação histopatológica dos corpúsculos de inclusão como o de Negri é confirmatória da presença da raiva. Os corpúsculos de inclusão são formados durante o ciclo de replicação do vírus, são compartimentos intracelulares concentrados de proteínas virais, ácidos nucléicos e fatores celulares específicos, situados na célula hospedeira. Estes corpúsculos abrigam etapas essenciais do ciclo viral e constituem uma

plataforma de replicação viral, além de proteger o genoma viral dos mecanismos de defesa celular do hospedeiro (NEVERS et al., 2020).

Na cinomose observa-se a formação de corpúsculos de inclusão conhecidos como corpúsculos de Lentz em diferentes células. Estas inclusões podem ser observadas em astrócitos, neurônios, oligodendrócitos e células do epêndima. As alterações neurológicas da cinomose são desmielinização, encefalite não supurativa, corpúsculos de inclusão, esferóides axonais, gemistócitos, gliose, malácia da substância branca, meningite mononuclear, necrose laminar cortical, neurônio vermelho, neuronofagia, infiltrado perivascular linfoplasmocitário e tumefação endotelial (SILVA et al., 2007, SONNE et al., 2009).

Os cães com cinomose na fase neurológica apresentam alterações comportamentais como ambulação em círculos, sonolência, vocalização, agressividade, inquietação, incapacidade de reconhecer os proprietários e automutilação (SILVA et al., 2007). A sintomatologia comportamental de cães com raiva depende da localização das lesões no SNC e da apresentação da raiva em formas paralítica e furiosa (BATISTA et al., 2007).

Os sinais clínicos da raiva são inapetência, apatia, depressão, inquietude e incoordenação motora. Após a fase prodrômica, os cães acometidos podem manifestar a fase furiosa com agressividade marcante, depressão, excitabilidade, mudanças de comportamento, insônia e febre. O animal não consegue deglutir a saliva, além disso, os cães manifestam alucinações, convulsões e paralisias a partir dos membros inferiores (BATISTA et al., 2007).

A forma paralítica da doença se difere por não haver agressividade pronunciada, a paralisia ocorre no maxilar inferior e ocorre também a paralisia dos membros posteriores. Os cães com raiva podem vir a óbito por morte súbita ou por paralisia dos músculos respiratórios (BATISTA et al., 2007).

As manifestações neurológicas aliadas a um histórico completo, análise do líquido cefalorraquidiano, testes de diagnóstico laboratorial e exames de imagem como tomografia e ressonância magnética, podem identificar aproximadamente dois terços dos cães com doenças inflamatórias do SNC. As doenças neurológicas como cinomose e raiva compartilham de alterações comuns como infiltrado de leucócitos no cérebro (encefalite), medula espinhal (mielite) ou meninges (meningite) (THOMAS 1998).

A paralisia e as convulsões não são comuns na cinomose, sendo mais presentes na raiva. A distinção clínica da cinomose e da raiva associada a testes de diagnóstico podem auxiliar na elucidação da maioria dos casos de encefalites de origem infecciosa (THOMAS 1998, SILVA et al., 2007, VON RÜDEN et al., 2017, GREEN et al., 2020).

4 OBJETIVOS:

Tendo em vista que a cinomose é a doença viral mais importante em cães, com alta morbimortalidade, podendo causar complicações no Sistema Nervoso Central, foram revisados os mecanismos da neuropatogenia da infecção pelo VCC para melhor compreensão desse processo mórbido.

5 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/FMVZ), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP-Campus de Botucatu-SP, sob o protocolo nº 0070/2021.

Neste trabalho realizou-se um estudo de revisão de literatura através de uma busca eletrônica em diversas bases de dados, selecionando artigos relevantes para o tema dessa revisão.

Os animais utilizados para este estudo foram os pacientes diagnosticados com cinomose pelos médicos veterinários do setor de Moléstias Infecciosas da FMVZ, Unesp, Botucatu, que vieram a óbito ou foram eutanasiados devido ao mal prognóstico. Esses cães foram submetidos à coleta cerebral, e os cérebros desses pacientes foram armazenados em formalina 10%, sendo transferido após 48h para um recipiente com álcool 70%. O material foi encaminhado para o Laboratório Objetiva Vet, sendo submetido às técnicas de histologia e corados pela hematoxilina.

5.1 Revisão Sistemática

A revisão de literatura sistemática foi realizada nas bases de dados Google Scholar, Medline e Pubmed, a fim de obter uma visão aprofundada dos estudos relevantes disponíveis na literatura.

Para a realização dessa revisão sistemática utilizou-se as seguintes palavras-chave: Desmielinização, cinomose, neuropatogenia, *Morbillivirus* e anatomopatogenia. Os artigos considerados nessa revisão foram publicados nos últimos 40 anos, priorizando-se os trabalhos mais recentes dos últimos 10 anos. As pesquisas mais antigas também foram utilizadas por trazerem as primeiras definições das características da doença em estudo.

As bases de pesquisa indicaram 254 artigos, dos quais foram selecionadas 88 publicações, nos idiomas inglês, espanhol e português que traziam informações detalhadas a respeito da neuropatogenia da cinomose. Após leitura dos estudos, outras bibliografias foram incluídas, como livros de anatomia veterinária.

5.2 Critérios de inclusão

Os estudos publicados que atenderam aos seguintes critérios foram as revisões sistemáticas, meta-análise e artigos científicos, por serem trabalhos que fornecem evidências científicas e mostram as diferenças entre os estudos.

Os cães que foram a óbito com sintomatologia clínica compatível com a cinomose, aliado a exames clínicos com alterações características da cinomose foram incluídos nesse estudo para a realização de coleta de encéfalo e análise histopatológica.

5.3 Critérios de exclusão

Os artigos publicados que não descreveram ou não abordaram em detalhes informações relevantes sobre a neuropatogenia da cinomose não foram incluídos neste estudo.

Os animais que foram a óbito e não apresentaram sintomatologia consistente com o quadro clínico da cinomose não foram incluídos.

5.4 Análise histopatológica

Após a fixação do material encefálico em formol 10%, o material foi processado com a utilização de técnicas de rotina laboratorial para a confecção de lâminas, passando por um processo de coloração com Hematoxilina e Eosina (HE).

Os tecidos encefálicos foram processados removendo a água e o fixador do tecido, substituindo-os pelo reagente desidratante. Utilizou-se o xilol para remover o agente desidratante (Diafanização) e promoveu-se a impregnação com parafina líquida, após aquecer a mesma em temperatura de 58 a 60 graus celsius. Os solventes foram removidos e substituídos pelo solvente seguinte, a partir de um aparelho processador automático de tecidos, após sucessivos banhos com graduação crescente da porcentagem de etanol.

Alguns banhos foram múltiplos com álcool 99%, xilol e parafina. Na inclusão em parafina, os tecidos são envolvidos na parafina para obterem o suporte, colocando-se o fragmento de tecido na parte central do molde. Depois de orientados os fragmentos, os moldes foram transferidos para a placa fria a fim de solidificar a parafina, pressionando-se ligeiramente os fragmentos para estes ficarem no mesmo plano. Na sequência, colocou-se o cassete correspondente a cada amostra, a fim de identificá-la.

Os moldes foram transferidos para a placa fria com o objetivo de solidificarem e serem desenformados, em seguida foram realizados os cortes finos dos tecidos e colocados em lâmina de vidro. Prosseguiu-se com a coloração de rotina em histologia com Hematoxilina-Eosina (HE) para uma preparação definitiva das lâminas, colocando uma gota de meio de montagem sobre o corte, cobrindo com uma lamela.

As lâminas foram observadas em microscópio de luz para que as melhores imagens de lesões compatíveis com a encefalite causada pela cinomose fossem selecionadas para ilustrar este trabalho.

6. CONCLUSÕES

A cinomose é uma infecção sistêmica com envolvimento do SNC. Na encefalite causada pela cinomose, o VCC se dissemina pelo SNC. Durante o início da fase aguda da infecção, a resposta imunológica não é eficaz. A atividade viral, aliada aos mecanismos da neuroinflamação, resulta em lesões na substância branca, gerando a desmielinização e na substância cinzenta, causa infecção neuronal e necrose do tecido nervoso.

A maioria das células infectadas pela invasão viral são astrócitos, porém ocorre também a infecção de oligodendrócitos, as células produtoras de mielina. A isquemia e a neuroinflamação estimulam a ativação imunológica, pelos astrócitos, através de genes da cascata do complemento, que se mostram destrutivos para as sinapses ao perderem algumas funções astrocíticas habituais e passam a apresentar uma função neurotóxica, destruindo neurônios.

Na cinomose, a infecção restrita de oligodendrócitos e a ativação de células microgliais, são importantes nos mecanismos da desmielinização.

Na fase crônica, ocorre desmielinização severa, podendo haver preservação dos axônios ou lesões com necrose da bainha de mielina. As sequelas neurológicas são resultantes da desmielinização, prejuízo nos mecanismos de resposta imunológica pelas células gliais, liberação de citocinas antineurogênicas como IL-1 β e pelos astrócitos. A localização neuroanatômica da infecção viral irá interferir no quadro clínico e nas alterações neurológicas.

O modelo da anatomopatologia da cinomose embasa estudos sobre a esclerose múltipla, por se assemelhar no mecanismo de desmielinização.

REFERÊNCIAS

ADAMS JM, BROWN WJ, SNOW HD, LINCOLN SD, SEARS AW JR, BARENFUS M, HOLLIDAY TA, CREMER NE, LENNETTE EH: Old dog encephalitis and demyelinating diseases in man. *Vet Pathol* 12:220—226, 1975.

AMUDE AM, ALFIERI AA, ALFIERI AF. Antemortem diagnosis of VCC infection by RT-PCR in distemper dogs with neurological deficits without the typical clinical presentation. *Vet Res Commun*. Aug;30(6):679-87, 2007.

ANDERSON D.E., CASTAN A., BISAILLON M., VON MESSLING V. Elements in the canine distemper virus M 3' UTR contribute to control of replication efficiency and virulence. *PLoS One*, v. 7(2), e. 31561, 2012.

ANDREA BOARI, ALESSIO LORUSSO. Genome characterization of feline morbillivirus from Italy, *Journal of Virological Methods*. v. 234, p. 160-163, 2016.

APPEL MJ, YATES RA, FOLEY GL, BERNSTEIN JJ, SANTINELLI S, SPIELMAN LH, MILLER LD, ARP LH, ANDERSON M, BARR M, PEARCE-KELLING S, SUMMERS BA. Canine distemper virus epizootic in lions, tigers, and leopards in North America. *J. Vet. Diagn. Invest*. 6:277–288, 1994.

AROCH I, BANETH G, SALANT H, NACHUM-BIALA Y, BERKOWITZ A, SHAMIR M, CHAI O. Neospora caninum and Ehrlichia canis co-infection in a dog with meningoencephalitis. *Vet Clin Pathol*. Jun;47(2):289-293, 2018.

ATHANASIOU L.,V, KANTERE M.C., KYRIAKIS C.S., PARDALI D., ADAMAMA M. K., POLIZOPOULOU Z.S. Evaluation of a Direct Immunofluorescent Assay and/or Conjunctival Cytology for Detection of Canine Distemper Virus Antigen. *Viral Immunol*, v. 31, e. 3, p. 272-275, 2018.

AWAD, R. Rapid Approaches for Diagnosis of Canine Distemper Virus in Live and Dead Dogs in Egypt. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, v. 50, n.1, p.47-56, 2019.

AXTHELM MK, KRAKOWKA S. Experimental Old Dog Encephalitis (ODE) in a Gnotobiotic Dog. *Veterinary Pathology*, 35(6):527-534, 1998.

BATISTA H.B.C.R., FRANCO A.C. & ROEHE P.M. Raiva: uma breve revisão. *Acta Scient. Vet.* 35(2):125-144, 2007.

BEAR M. F., CONNORS, B. W., PARADISO M. A. Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso. Porto Alegre: *Artmed*, e.4, p. 26-38. 2017.

BEINEKE A., PUFF C., SEEHUSEN F., BAUMGÄRTNER W. Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Vet Immunol Immunopathol*, v.127, n.1-2, p.1-18, 2009.

BEINEKE A, BAUMGÄRTNER W, WOHLSEIN P. Cross-species transmission of canine distemper virus-an update. *One Health*. Sep 13;1:49-59. 2015.

BILLINIS C, ATHANASIOU LV, VALIAKOS G, MAMURIS Z, BIRTSAS P, SPYROU V. Phylogenetic analysis of canine distemper viruses from red foxes, Greece. *Vet Rec*. Aug 31;173(8):194. 2013

BRASIL, Ministério da Saúde. Manual de diagnóstico laboratorial da raiva.

Brasília - DF., 2008 Disponível

em<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_diagnostico_laboratorial_raiva.pdf

f> Acesso em 07 junho. 2021

CARDY TJA, CORNELIS I. Clinical presentation and magnetic resonance imaging findings in 11 dogs with eosinophilic meningoencephalitis of unknown aetiology. *J Small Anim Pract.* Jul;59(7):422-431, 2018.

CARVALHO OV, BOTELHO CV, FERREIRA CG, SCHERER PO, SOARES-MARTINS JA, ALMEIDA MR, SILVA JÚNIOR A. Immunopathogenic and neurological mechanisms of canine distemper virus. *Adv Virol.*, 2012:163860, 2012.

CATALA M, KUBIS N. Gross anatomy and development of the peripheral nervous system. *Handb Clin Neurol.*;115:29-41, 2013.

COSTA V.G.D., SAIVISH M.V., RODRIGUES R.L., LIMA S.R.F., MORELI M.L., KRÜGER R.H. Molecular and serological surveys of canine distemper virus: A meta-analysis of cross-sectional studies. *PLoS One.*, v.14 n.5, e. 0217594, 2019.

CZEIBERT, K., SOMMESE, A., PETNEHÁZY, Ö., CSÖRGÖ, T., & KUBINYI, E. Digital Endocasting in Comparative Canine Brain Morphology ,2020. *Frontiers in veterinary science*, 7, 565315. Disponível em <
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.565315>> . Acesso em: 20 de fev. de 2021.

DATTA R, LEE J, DUDA J, AVANTS BB, VITE CH, TSENG B, GEE JC, AGUIRRE GD, AGUIRRE GK. A digital atlas of the dog brain. *PLoS One.* 2012;7(12):e52140, 2012.

DE NARDO TFS, BERTOLO PHL, BERNARDES PA, MUNARI DP, MACHADO GF, JARDIM LS, MOREIRA PRR, ROSOLEM MC, VASCONCELOS RO. Contribution of astrocytes and macrophage migration inhibitory factor to immune-mediated canine encephalitis caused by the distemper virus. *Vet Immunol Immunopathol.* 221:110010, 2020.

DREXLER JF, CORMAN VM, MÜLLER MA, MAGANGA GD, VALLO P, BINGER T, GLOZA-RAUSCH F, COTTONTAIL VM, RASCHE A,

YORDANOV S, SEEBENS A, KNÖRNSCHILD M, OPPONG S, ADU SARKODIE Y, PONGOMBO C, LUKASHEV AN, SCHMIDT-CHANASIT J, STÖCKER A, CARNEIRO AJ, ERBAR S, MAISNER A, FRONHOFFS F, BUETTNER R, KALKO EK, KRUPPA T, FRANKE CR, KALLIES R, YANDOKO ER, HERRLER G, REUSKEN C, HASSANIN A, KRÜGER DH, MATTHEE S, ULRICH RG, LEROY EM, DROSTEN C. Bats host major mammalian paramyxoviruses. *Nat Commun.* Apr 24;3:796, 2012.

DYCE, R.M., SACK, W.O, & WENSING, C.J.G. Tratado de Anatomia Veterinária, e.4, p. 534 a 800. Rio de Janeiro: Elsevier Editora. (2010).

FREDERICK MC, CAMERON MH. Tumefactive Demyelinating Lesions in Multiple Sclerosis and Associated Disorders. *Curr Neurol Neurosci Rep.* Mar;16(3):26, 2016.

FUKUHARA H, ITO Y, SAKO M, KAJIKAWA M, YOSHIDA K, SEKI F, MWABA MH, HASHIGUCHI T, HIGASHIBATA MA, OSE T, KUROKI K, TAKEDA M, MAENAKA K. Specificity of Morbillivirus Hemagglutinins to Recognize SLAM of Different Species. *Viruses.* Aug 19;11(8):761, 2019.

GALÁN A, GAMITO A, CARLETTI BE, GUIADO A, DE LAS MULAS JM, PÉREZ J, MARTÍN EM. Uncommon acute neurologic presentation of canine distemper in 4 adult dogs. *Can Vet J.* Apr;55(4):373-8, 2014.

GIBBONS CH. Basics of autonomic nervous system function. *Handb Clin Neurol.*;160:407-418, 2019.

GRIOT C, VANDEVELDE M, SCHOBESBERGER M, ZURBRIGGEN A. Canine distemper, a re-emerging morbillivirus with complex neuropathogenic mechanisms. *Anim Health Res Rev.* Jun;4(1):1-10, 2003.

GREEN L., LAURIE D.V.M., COOK, D.V.M., MARTINEZ M. DVM, GREEN E., DVM, DACVR Distemper Encephalomyelitis Presenting with Lower Motor Neuron Signs in a Young Dog. *J Am Anim Hosp Assoc*, v. 56, e. 2, p. 127–132, 2020.

GUERRERO BL, SICOTTE NL. MICROGLIA IN MULTIPLE SCLEROSIS: Friend or Foe? *Front Immunol*. 2020 Mar 20;11:374, 2020.

HEADLEY SA, AMUDE AM, ALFIERI AF, BRACARENSE APFRL, ALFIERI AA, SUMMERS BA. Detecção molecular do vírus da cinomose canina e a caracterização imuno-histoquímica das lesões neurológicas na encefalite canina idosa de ocorrência natural. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 21 (5): 588-597, 2009.

HEPPNER F.L., RANSOHOFF R.M., BECHER B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosc*, v. 6, p.358-72, 2015.

HORNSEY SJ, PHILIBERT H, GODSON DL, SNEAD ECR. Canine adenovirus type 1 causing neurological signs in a 5-week-old puppy. *BMC Vet Res*, 2019.

JORTNER BS. Preparation and analysis of the peripheral nervous system. *Toxicol Pathol*. Jan;39(1):66-72, 2011.

KIM Y.H., CHO K.W., YOUN H.Y., YOO H.S., HAN H.R. Detection of canine distemper virus (VCC) through one step RT-PCR combined with nested PCR. *J Vet Sci*, v.1, p. 59-63, 2001.

KLEIN, R. S., GARBER, C., FUNK, K. E., SALIMI, H., SOUNG, A., KANMOGNE, M., MANIVASAGAM, S., AGNER, S., & CAIN, M. Neuroinflammation During RNA Viral Infections. *Annual review of immunology*, v.37, p.73–95, 2019.

KLEMENS, J., CIURKIEWICZ, M., CHLUDZINSKI, E., ISERINGHAUSEN, M., KLOTZ, D., PFANKUCHE, V. M., ULRICH, R., HERDER, V., PUFF, C., BAUMGÄRTNER, W., & BEINEKE, A. Neurotoxic potential of reactive astrocytes in canine distemper demyelinating leukoencephalitis. *Scientific reports*, v.9, n.1, e.11689, 2019.

LASSMANN H. Multiple Sclerosis Pathology. *Cold Spring Harb Perspect Med*. Mar 1;8(3):a028936, 2018.

LEMOS, Karen Regina et al . Astrocytic and microglial response and histopathological changes in the brain of horses with experimental chronic *Trypanosoma evansi* infection. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, São Paulo , v. 50, n. 4, p. 243-249, Aug. 2008 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652008000400011&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 08 Apr. 2021.

LEMP, C., SPITZBARTH, I., PUFF, C., CANA, A., KEGLER, K., TECHANGAMSUWAN, S., BAUMGÄRTNER, W., & SEEHUSEN, F. New aspects of the pathogenesis of canine distemper leukoencephalitis. *Viruses*, 6(7), 2571–2601, 2014.

LIDDELOW S.A., GUTTENPLAN K.A., CLARKE L.E., BENNETT F.C., BOHLEN C.J., SCHIRMER L., BENNETT M.L., MÜNCH A.E., CHUNG W.S., PETERSON T.C., WILTON D.K., FROUIN A., NAPIER B.A., PANICKER N., KUMAR M., BUCKWALTER M.S., ROWITCH D.H., DAWSON V.L., DAWSON T.M., STEVENS B., BARRES B.A. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature*, v. 541, e. 7638, p.481-487, 2017.

LIU P.C., CHEN C.A., CHEN C.M., YEN C.H., LEE M.H., CHUANG C.K., TU C.F., SU B.L. Application of xenogeneic anti-canine distemper virus antibodies in treatment of canine distemper puppies. *J Small Anim Pract*, v.57(11):626-630, 2016.

LOOTS A.K., MITCHELL E, DALTON D.L., KOTZÉ A., VENTER E.H.

Advances in canine distemper virus pathogenesis research: a wildlife perspective. *J Gen Virol*, v. 98, e. 3, p. 311-321, 2017.

LUO L, CALLAWAY EM, SVOBODA K. GENETIC DISSECTION OF NEURAL CIRCUITS: A Decade of Progress. *Neuron*. Apr 18;98(2):256-281, 2018.

MANGIA, S.H.; MORAES, L.F.; TAKAHIRA, R.K. et al. Efeitos colaterais do uso da ribavirina, prednisona e DMSO em cães naturalmente infectados pelo vírus da cinomose. *Pesq Vet Bras*, v.34, n.5, p.449-454, 2014.

MARCACCI M, DE LUCA E, ZACCARIA G, DI TOMMASO M, MANGONE I, ASTE G, SAVINI G, BOARI A, LORUSSO A. Genome characterization of feline morbillivirus from Italy. *J Virol Methods*, Aug;234:160-3, 2016.

MARTINS, B.C. et al . Características epizootológicas da infecção natural pelo vírus da cinomose canina em Belo Horizonte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 72, n. 3, p. 778-786, 2020.

MASTORAKOS P, MCGAVERN D. The anatomy and immunology of vasculature in the central nervous system. *Sci Immunol*. Jul 12;4(37):eaav0492, 2019.

MAURILIA MARCACCI, ELIANA DE LUCA, GUENDALINA ZACCARIA, MORENA DI TOMMASO, IOLANDA MANGONE, GIOVANNI ASTE, GIOVANNI SAVINI,

MÜHLEBACH MD, MATEO M, SINN PL, PRÜFER S, UHLIG KM, LEONARD VH, NAVARATNARAJAH CK, FRENZKE M, WONG XX, SAWATSKY B, RAMACHANDRAN S, MCCRAY PB JR, CICHUTEK K, VON MESSLING V, LOPEZ M, CATTANEO R. Adherens junction protein nectin-4 is the epithelial receptor for measles virus. *Nature*. Nov 2;480(7378):530-3, 2011.

NEVERS Q, ALBERTINI AA, LAGAUDRIÈRE-GESBERT C, GAUDIN Y. Negri bodies and other virus membrane-less replication compartments. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* Dec;1867(12):118831, 2020.

NIKOLIN VM, OSTERRIEDER K, VON MESSLING V, HOFER H, ANDERSON D, DUBOVI E, BRUNNER E, EAST ML. Antagonistic pleiotropy and fitness trade-offs reveal specialist and generalist traits in strains of canine distemper virus. *PLoS One.*;7(12):e50955, 2012.

NOYCE RS, DELPEUT S, RICHARDSON CD. Dog nectin-4 is an epithelial cell receptor for canine distemper virus that facilitates virus entry and syncytia formation. *Virology.* Feb 5;436(1):210-20, 2013.

ORLANDO EA, IMBSCHWEILER I, GERHAUSER I, BAUMGÄRTNER W, WEWETZER K. In vitro characterization and preferential infection by canine distemper virus of glial precursors with Schwann cell characteristics from adult canine brain. *Neuropathol Appl Neurobiol.* Dec;34(6):621-37, 2008.

PARDO ID, JOHNSON GC, KLEIBOEKER SB. Phylogenetic characterization of canine distemper viruses detected in naturally infected dogs in North America. *J Clin Microbiol.* Oct;43(10):5009-17, 2005.

PFEFFERMANN K, DÖRR M, ZIRKEL F, VON MESSLING V. Morbillivirus Pathogenesis and Virus-Host Interactions. *Adv Virus Res.*, v. 100: p. 75-98, 2018.

PLATTET P, CHERPILLOD P, WIENER D, ZIPPERLE L, VANDEVELDE M, WITTEK R, ZURBRIGGEN A. Signal peptide and helical bundle domains of virulent canine distemper virus fusion protein restrict fusogenicity. *J Virol.* Oct;81(20):11413-25, 2007.

POTRATZ M, ZAECK LM, WEIGEL C, KLEIN A, FREULING CM, MÜLLER T, FINKE S. Neuroglia infection by rabies virus after anterograde virus spread in peripheral neurons. *Acta Neuropathol Commun.* Nov 23;8(1):199, 2020.

RENDON-MARIN S., FONTOURA B. R., CANAL C.W., RUIZ-SAENZ J. Tropism and molecular pathogenesis of canine distemper virus. *Viol J.* v.16(1):30, 2019.

ROHOWSKY-KOCHAN C, DAVIDOW A, DOWLING P, COOK SD. Increased frequency of canine distemper virus-specific antibodies in multiple sclerosis. *Brain Behav.* Jan;11(1):e01920, 2020.

SABETA C, NGOEPE EC. Controlling dog rabies in Africa: successes, failures and prospects for the future. *Rev Sci Tech.* Aug;37(2):439-449, 2018.

SAKAGUCHI S, KOIDE R, MIYAZAWA T. In vitro host range of feline morbillivirus. *J Vet Med Sci.*;77(11):1485-1487, 2015.

SATO, H., YONEDA, M., HONDA, T., & KAI, C. Morbillivirus receptors and tropism: multiple pathways for infection. *Frontiers in microbiology*, v. 3, p.75, 2012.

SEEHUSEN F, AL-AZREG SA, RADDATZ BB, HAIST V, PUFF C, SPITZBARTH I, ULRICH R, BAUMGÄRTNER W. Accumulation of Extracellular Matrix in Advanced Lesions of Canine Distemper Demyelinating Encephalitis. *PLoS One.* Jul 21;11(7):e0159752, 2016.

SHAM NAMBULLI, CLAIRE R SHARP, ANDREW S ACCIARDO, J FELIX DREXLER, W PAUL DUPREX. Mapping the evolutionary trajectories of morbilliviruses: what, where and whither. *Current Opinion in Virology*, v. 16, p. 95-105, 2016,

SHUANGSHOTI S, THORNER PS, TEERAPAKPINYO C, THEPA N, PHUKPATTARANONT P, INTARUT N, et al. Intracellular Spread of Rabies Virus Is Reduced in the Paralytic Form of Canine Rabies Compared to the Furious Form. *PLoS Negl Trop Dis* 10(6): e0004748, 2016.

SILVA M.C., FIGHERA R.A., BRUM J.S., GRAÇA D.L., KOMMERS G.D., IRIGOYEN L.F. & BARROS C.S.L. Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães. *Pesq. Vet. Bras.* 27:215-220, 2007.

SILVA, MARCIA C. ET AL . Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães: Clinicopathological features in 620 neurological cases of canine distemper. *Pesq. Vet. Bras.*, Rio de Janeiro , v. 27, n. 5, p. 215-220, May 2007 . Disponível em
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2007000500006&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 01 Apr. 2021.

SINGH R, SINGH KP, CHERIAN S, SAMINATHAN M, KAPOOR S, REDDY GBM, PANDA S, DHAMA K. Rabies – epidemiology, pathogenesis, public health concerns and advances in diagnosis and control: a comprehensive review. *Vet Q.* 37(1): 212-251, 2017.

SONNE, LUCIANA et al. Achados patológicos e imuno-histoquímicos em cães infectados naturalmente pelo vírus da cinomose canina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 29, n. 2, 2009. Acesso em 7 Junho 2021. Disponível em:
<<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009000200010>

SOUNG A., KLEIN R.S. Viral Encephalitis and Neurologic Diseases: Focus on Astrocytes. *Trends Mol Med.* 2018 v.11, p.950-962, 2018.

STEIN V. M., BAUMGÄRTNER W., KREIENBROCK, L. ZURBRIGGEN, A., VANDEVELDE, M., TIPOLD, A. Canine microglial cells: Stereotypy in immunophenotype and specificity in function? *Veterinary Immunology and*

Immunopathology, v. 113, e. 3–4, p. 277-287, 2006. Disponível em <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165242706001590>>. Acesso em 01 Apr. 2021.

SUNDARAMOORTHY V, GREEN D, LOCKE K, O'BRIEN CM, DEARNLEY M, BINGHAM. Novel role of SARM1 mediated axonal degeneration in the pathogenesis of rabies. *PLoS Pathog* 16(2): e1008343, 2020.

SUMMERS, B. A., & APPEL, M. J. Aspects of canine distemper virus and measles virus encephalomyelitis. *Neuropathology and applied neurobiology*, 20(6), 525–534, 1994. Disponível em <<https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.1994.tb01006.x>>. Acesso em 01 Apr. 2021.

TATSUO H, YANAGI Y. The morbillivirus receptor SLAM (CD150). *Microbiol Immunol.*;46(3):135-42, 2002.

TIPOLD A. Diagnosis of inflammatory and infectious diseases of the central nervous system in dogs: a retrospective study. *J Vet Intern Med.* Sep-Oct;9(5):304-14, 1995.

TORRE-FUENTES L, MORENO-JIMÉNEZ L, PYTEL V, MATÍAS-GUIU JA, GÓMEZ-PINEDO U, MATÍAS-GUIU J. Experimental models of demyelination and remyelination. *Neurologia (Engl Ed)*. Jan-Feb;35(1):32-39, 2020.

UHL E.W., KELDERHOUSE C., BUIKSTRA J., BLICK J.P., BOLON B., HOGAN R.J. New world origin of canine distemper: Interdisciplinary insights. *Int J Paleopathol*, v.24, p.266-278, 2019.

ULRICH R, PUFF C, WEWETZER K, KALKUHL A, DESCHL U, BAUMGÄRTNER W. Transcriptional changes in canine distemper virus-induced demyelinating leukoencephalitis favor a biphasic mode of demyelination. *PLoS One*. Apr 22;9(4):e95917, 2014.

VANDEVELDE M, FANKHAUSER R, KRISTENSEN F, KRISTENSEN B. Immunoglobulins in demyelinating lesions in canine distemper encephalitis. An immunohistological study. *Acta Neuropathol.*;54(1):31-41,1981.

VANDEVELDE, M E A ZURBRIGGEN. “A neurobiologia da infecção pelo vírus da cinomose canina.” *Veterinary microbiology* vol. 44,2-4 271-80, 1995.

VANDEVELDE M, ZURBRIGGEN A. Demyelination in canine distemper virus infection: a review. *Acta Neuropathol.* Jan;109(1):56-68, 2005.

VON MESSLING V, OEZGUEN N, ZHENG Q, VONGPUNSAWAD S, BRAUN W, CATTANEO R. Nearby clusters of hemagglutinin residues sustain SLAM-dependent canine distemper virus entry in peripheral blood mononuclear cells. *J Virol.*;79(9):5857-5862, 2005.

VON RÜDEN EL, AVEMARY J, ZELLINGER C, ALGERMISSEN D, BOCK P, BEINEKE A, BAUMGÄRTNER W, STEIN VM, TIPOLD A, POTSCSKA H. Distemper virus encephalitis exerts detrimental effects on hippocampal neurogenesis. *Neuropathol Appl Neurobiol.* Aug;38(5):426-42, 2012.

VRIES RD, LUDLOW M, VERBURGH RJ, VAN AMERONGEN G, YÜKSEL S, NGUYEN DT, MCQUAID S, OSTERHAUS AD, DUPREX WP, DE SWART RL. Measles vaccination of nonhuman primates provides partial protection against infection with canine distemper virus. *J Virol.* Apr;88(8):4423-33. 2014.

YADAV AK, RAJAK KK, BHATT M, KUMAR A, CHAKRAVARTI S, SANKAR M, MUTHUCHELVAN D, KUMAR R, KHULAPE S, SINGH RP, SINGH RK. Comparative sequence analysis of morbillivirus receptors and its implication in host range expansion. *Can J Microbiol.* Nov;65(11):783-794, 2019.

WOO PC, LAU SK, WONG BH, FAN RY, WONG AY, ZHANG AJ, WU Y, CHOI GK, LI KS, HUI J, WANG M, ZHENG BJ, CHAN KH, YUEN KY. Feline morbillivirus, a previously undescribed paramyxovirus associated with tubulointerstitial nephritis in domestic cats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Apr 3;109(14):5435-40, 2012.

WOODROFFE R, PRAGER KC, MUNSON L, CONRAD PA, DUBOVI EJ, MAZET JA. Contact with domestic dogs increases pathogen exposure in endangered African wild dogs (*Lycaon pictus*). *PLoS One*. Jan ;7(1):e30099, 2012.

WYSS-FLUEHMANN G, ZURBRIGGEN A, VANDEVELDE M, PLATTET P. Canine distemper virus persistence in demyelinating encephalitis by swift intracellular cell-to-cell spread in astrocytes is controlled by the viral attachment protein. *Acta Neuropathol*. e. 119, v.5, p. 617-30, 2010.

ANEXOS

Anexo 1: Atestado de aprovação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA



ATESTADO

Atesto que o Projeto "ATUALIZAÇÃO NA NEUROPATOGENIA DA CINOMOSE" **Protocolo CEUA 0070/2021**, a ser conduzido por Luanda Ferreira Cipriano, responsável/orientador Antônio Carlos Paes, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

Finalidade	PESQUISA CIENTÍFICA
Vigência do projeto	20/05/2021 a 18/06/2021
Nome Comum / Espécie / Linhagem	//
Raça	
Nº de animais machos	0
Nº de animais fêmeas	0
Nº de animais sexo indefinido	0
Peso médio de animais machos	0
Peso médio de animais fêmeas	0
Peso médio de animais sexo indefinido	0
Idade	ano(s) e 0 mes(es) e 0 dia(s).
Procedência	Cães que vieram a óbito do Hospital Veterinário

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 19/05/2021

JOSÉ NICOLAU PRÓSPERO PUOLI FILHO
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

