

**LEONARDO PINTO BRANDÃO**

**ENVOLVIMENTO DA RESPOSTA IMUNE HUMORAL NO  
DESENVOLVIMENTO DA ANEMIA E DAS ALTERAÇÕES  
QUANTITATIVAS E QUALITATIVAS DAS PLAQUETAS NA  
ERLIQUIOSE CANINA EXPERIMENTAL**

**SÃO PAULO  
2005**

LEONARDO PINTO BRANDÃO

**ENVOLVIMENTO DA RESPOSTA IMUNE HUMORAL NO  
DESENVOLVIMENTO DA ANEMIA E DAS ALTERAÇÕES  
QUANTITATIVAS E QUALITATIVAS DAS PLAQUETAS NA  
ERLIQUIOSE CANINA EXPERIMENTAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação  
em Clínica Veterinária da Faculdade de  
Medicina Veterinária e Zootecnia da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutor em Medicina Veterinária

**Departamento:**

Clínica Médica

**Área de concentração:**

Clínica Veterinária

**Orientadora:**

Prof<sup>a</sup>. D<sup>ra</sup>. Mitika Kuribayashi Hagiwara

São Paulo  
2005

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

Confirmando  
Claudia  
24/06/2005  
Maria Claudia Pestana  
Supervisora Técnica  
Biblioteca Virgínia Buff D'Alpoce  
FMVZ-USP  
CRB 816233 - NF 2470405

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1542  
FMVZ

Brandão, Leonardo Pinto

Envolvimento da resposta imune humoral no desenvolvimento da anemia e das alterações quantitativas e qualitativas das plaquetas na Eriquiose canina experimental / Leonardo Pinto Brandão. – São Paulo : L. P. Brandão, 2005.  
76 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, 2005.

Programa de Pós-graduação: Clínica Veterinária.  
Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Mitika Kuribayashi Hagiwara.

1. *Ehrlichia canis*. 2. Hematologia animal. 3. Bioquímica clínica. 4. Plaquetas. I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

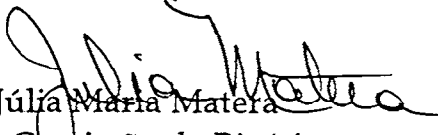
*Comissão Bioética*

## CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Detecção de anticorpos antiplaquetários e antimegacariocíticos e atividade de agregação plaquetária na infecção experimental de cães por *Ehrlichia canis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1935)", Protocolo nº 10/2001, sob a responsabilidade da Profª Drª Mitika Kuribayashi Hagiwara, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 30/01/2002.

(We certify that the Research "Antiplatelet and antimegakaryocytic antibodies detection and platelet aggregation activity in dogs experimentally infected by *Ehrlichia canis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1935)" protocol number 10/2001, under the responsibility of Profª Drª Mitika Kuribayashi Hagiwara, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in 01/30/2002 meeting.)

São Paulo, 30 de janeiro de 2002

  
Profª Drª Júlia Maria Matera  
Presidente da Comissão de Bioética  
FMVZ/USP

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

**Nome:** BRANDÃO, Leonardo Pinto

**Título:** Envolvimento da resposta imune humoral no desenvolvimento da anemia e das alterações quantitativas e qualitativas das plaquetas na erliquiose canina experimental

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

### Banca examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

*“... Ele dorme dentro da minha alma  
E às vezes acorda de noite  
E brinca com os meus sonhos.  
Vira uns de pernas para o ar,  
Põe uns em cima dos outros  
E bate as palmas sozinho  
Sorrindo para o meu sono.  
Quando eu morrer, filhinho,  
Seja eu a criança, o mais pequeno.  
Pega-me tu ao colo  
E leva-me para dentro da tua casa.  
Despe o meu ser cansado e humano  
E deita-me na tua cama.  
E conta-me histórias, caso eu acorde,  
Para eu tornar a adormecer.  
E dá-me sonhos teus para eu brincar  
Até que nasça qualquer dia  
Que tu sabes qual é.”*

Alberto Caeiro (Fernando Pessoa)

Para meu pai,

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, por mostrar-me o caminho e as ferramentas para chegar ao meu objetivo. Obrigado por seus ensinamentos e visão crítica. Sou lhe eternamente grato.

À minha família, mães, pai e irmãos. Sem vocês minha jornada seria impossível.

Aos meus amigos. Vocês são a extensão da minha vida e uma das provas mais belas da existência de Deus.

À Prof<sup>ta</sup>. D<sup>ra</sup>. Agumi Kohayagawa, pelo apoio, ensinamentos e orientação.

Às Prof<sup>as</sup>. Dr<sup>as</sup>. Sílvia Berlanga de Moraes Barros e Lígia Ferreira Gomes do Laboratório de Patologia do Depto. de análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Aos queridos mestres que me ensinaram o ofício da Medicina Veterinária, em especial à amiga Márcia Mery Kogika, Sílvia Regina Ricci Lucas, Maria Helena Larsson, Carlos Eduardo Larsson e Ricardo Coutinho do Amaral.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro.

À pós-graduanda Márcia Yumiko Hasegawa por auxiliar-me durante o desenvolvimento do experimento.

Aos amigos da Merial Saúde Animal, recente acolhida nesta nova fase da minha vida.

*À presença de Deus em minha vida, mantendo-me de olhos atentos e alma sempre leve para perceber sua presença em todas as coisas.*

## RESUMO

BRANDÃO, L. P. **Envolvimento da resposta imune humoral no desenvolvimento da anemia e das alterações quantitativas e qualitativas das plaquetas na erliquiose canina experimental.** [Involvement of humoral immune response on development of anemia and quantitative and qualitative platelets disorders in experimental canine ehrlichiosis]. 2005. 76 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Com o objetivo de avaliar o envolvimento da resposta imune humoral no desenvolvimento da anemia e das alterações quantitativas e qualitativas das plaquetas na erliquiose canina, sete cães adultos, livres de infecção, foram inoculados com *E. canis* e acompanhados durante 10 semanas. Três cães permaneceram como controles. Os animais foram submetidos a exame físico diário e avaliação laboratorial (hemograma, contagem de plaquetas, mielograma, bioquímica sanguínea, fragilidade osmótica eritrocitária e teste de Coombs), reação em cadeia da polimerase (PCR), pesquisa de anticorpos anti-*E. canis*, antiplaquetários e antimegacariocíticos (IFI), e teste da atividade de agregação plaquetária, em diferentes momentos durante o período de observação. Febre, esplenomegalia, linfadenomegalia, trombocitopenia, anemia não regenerativa, aumento das atividades séricas da ALT, AST e FA foram as principais alterações clínicas e de patologia clínica observadas, com pico máximo entre o 21<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias pós-infecção. Houve diminuição da capacidade de agregação plaquetária dos animais infectados ( $p < 0,05$ ) nos dias 14, 21, 28 e 35 pós-infecção e aumento do número das células megacariocíticas, principalmente seus precursores (megacarioblastos e pró-megacariócitos) no 14<sup>o</sup> dia pós-infecção. Não foram detectados anticorpos antiplaquetários ou antimegacariocíticos. O teste de Coombs, bem como a fragilidade osmótica eritrocitária, mantiveram-se inalterados, comprovando não ter ocorrido hemólise imunomediada. Conclui-se que a anemia desenvolvida durante a fase aguda da infecção experimental por *E. canis*, de característica eritroregenerativa, ainda que



tardia, pelo menos nos animais estudados, não teve envolvimento de mecanismo imunológico direcionado contra as hemácias, e ainda, que a causa da trombocitopenia e da hipofunção plaquetária observada durante esta fase da doença não parece estar relacionada ao desenvolvimento de mecanismos imunológicos direcionados contra as plaquetas ou seus precursores.

Palavras-chave: *Ehrlichia canis*. Hematologia. Bioquímica clínica. Plaquetas.

## ABSTRACT

BRANDÃO, L. P. **Involvement of humoral immune response on development of anemia and quantitative and qualitative platelets disorders in experimental canine ehrlichiosis.** [Envolvimento da resposta imune humoral no desenvolvimento da anemia e das alterações quantitativas e qualitativas das plaquetas na erliquiose canina experimental]. 2005. 76 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

In order to determine the involvement of humoral and immune response on development of anemia and quantitative and qualitative platelets disorders in experimental canine ehrlichiosis, seven adult naïve dogs were inoculated with *E. canis* and followed during 10 weeks. Three dogs were remained as control. Daily clinical evaluation and laboratorial exams (hematological, platelet counts, bone marrow evaluation, biochemistry, erythrocyte osmotic fragility and Coombs' test) polymerase chain reaction assay (PCR), anti-*E.canis*, antiplatelet and antimegakaryocyte antibodies detection (IFA) and platelet aggregation studies were evaluated at different moments during all the experimental period. Fever, splenomegaly, lymphadenomegaly, thrombocytopenia, non-regenerative anemia and increase on liver's enzymes serum activity (ALT, AST and ALP) were the main clinical and laboratorial findings observed, with the highest point between days 21 and 28 post-infection. The infected animals showed a decrease in platelet aggregation responses ( $p<0.05$ ) on days 14, 21, 28 and 35 post-infection and increase of megakaryocytic cells, mainly its precursors (megakaryoblasts and promegakaryocytes) on day 14 post-infection. It weren't detected any antiplatelet or antimegakaryocyte antibodies, as well as, there were no variations on erythrocyte osmotic fragility and Coombs' tests results, which confirms the absence of immune-mediated hemolysis. It is concluded that the anemia observed

## Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

