

NEUROLOGIA DA CINOMOSE

Simone Henriques Mangia¹
Antonio Carlos Paes²

RESUMO

A cinomose é uma enfermidade infecto-contagiosa, que afeta naturalmente os cães, causada por um *Paramyxovirus*, do gênero *Morbilivirus*, de apresentação clínica aguda, subaguda e crônica. De ocorrência mundial, sem sazonalidade, sem predileção de sexo ou raça, apresenta maior incidência em animais jovens, podendo acometer todas as idades. A transmissão ocorre principalmente por aerossóis e gotículas contaminadas. Após o contato do vírus com o epitélio ocorre replicação viral nos macrófagos e disseminação. Entre quatro e seis dias ocorre nova replicação causando aumento inicial na temperatura corporal e leucopenia. No período de 8 a 10 dias, ocorre disseminação viral nos epitélios e no sistema nervoso central. A encefalite aguda acomete animais jovens ou imunossuprimidos e é caracterizada por lesão viral direta. A encefalite multifocal em adultos acomete frequentemente animais entre quatro a seis anos, apresentando curso crônico. A encefalite do cão velho, comum em cães com mais de seis anos, caracteriza-se por panencefalite e é uma forma rara, resultante da persistência viral nos neurônios. As lesões desmielinizantes clássicas iniciam três semanas pós-infecção e durante período de intensa imunossupressão, sendo consequência da replicação viral no interior de oligodendrócitos. A desmielinização na fase crônica coincide com a recuperação do sistema imune, caracterizada pela redução ou perda das proteínas virais, com aumento da regulação do complexo principal de histocompatibilidade e infiltração de células inflamatórias. O curso clínico e o padrão neurológico da encefalomielite variam de acordo com a cepa viral e a idade que o animal foi infectado. O líquido pode indicar anormalidades na fase crônica com aumento de proteínas, principalmente por IgG antivírus e aumento do número de células, com predomínio de linfócitos. Em cortes histológicos é possível confirmar a infecção com a observação de lesões caracterizadas por áreas de necrose bem delimitadas, desmielinização e corpúsculos de inclusão. O isolamento viral em cultivo celular é específico, demorado e pode resultar em falso-negativo, exceto na fase aguda. A técnica da reação em cadeia pela polimerase, precedida de transcrição reversa vem sendo empregada com sucesso na detecção viral. O diagnóstico pode ser confirmado pela técnica de imunofluorescência direta em fluidos corporais, porém o aumento dos títulos de IgM e IgG no soro é ambíguo e pode indicar infecções passadas e presentes com ou sem vacinação. Cães infectados podem apresentar imunossupressão, permitindo a infecção por agentes oportunistas, como o *Toxoplasma gondii*. Vacinas produzidas com as amostras virais adequadamente atenuadas são eficientes em proteger os animais contra a infecção natural.

Palavras-chave: cinomose, *Morbilivirus*, neuropatologia, encefalite, desmielinização.

CANINE DISTEMPER NEUROPATHOLOGY

ABSTRACT

Canine Distemper is an infectious disease of acute, subacute, and chronic clinical appearance, caused by a *Morbilivirus*, family *Paramyxoviridae*. Of worldwide distribution, no seasonal occurrence, susceptibility between males and females, or racial preference has been described. Young dogs are generally more susceptible to infection, demonstrating a relationship between susceptibility and age.

¹Pós-graduanda do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP / Botucatu – SP. e-mail: simangia@hotmail.com

²Docente do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP / Botucatu – SP. e-mail: paesacmi@unesp.br

Canine Distemper virus is generally transmitted as an aerosol infection to the upper respiratory tract. After entering of the virus and invasion of epithelial tissues, viral replication into macrophages and spreading occur. Four to six days after initial infection, a new replication starts, causing a rise in body temperature and leucopenia. Eight to ten days after inoculation the virus invades various epithelial tissues and the central nervous system. Acute encephalitis, which occurs early in the course of infection in young or immunosuppressed animals, is characterized by direct viral injury. Multifocal encephalitis of chronic evolution often occurs in adult dogs between four to six years old. The old-dog encephalitis is a rare form of the disease characterized by panencephalitis that may be a persistent infection with a defective virus, usually present in animals older than six years. Characteristic demyelinating lesions are observed around three weeks post infection, during a period of massive virus-induced immunosuppression, as a consequence of viral replication inside oligodendrocytes. The chronic demyelination coincides with the recovery of the immune system, characterized by reduction or lost of viral proteins, followed by upregulation of the major histocompatibility complex and inflammatory cells infiltration. The clinical course and neurological pattern of the encephalomyelitis varies depending on the virulence of the virus strain, and host age. Abnormalities like increases in protein, because elevated IgG levels, and cell count, with a predominance of lymphocytes, are detectable in cerebrospinal fluid in dogs suffering the chronic stage of the disease. It is possible to confirm infection on histologic examination by the observation of well delimited necrotic areas, demyelination and inclusion bodies. Isolation technique of virulent canine distemper virus in cell cultures is very specific and false-negative results will occur if the animal is not entered the acute phase. The reverse transcription polymerase chain reaction has shown to be useful for viral detection. A final diagnosis is based on the demonstration of viral antigens in scrapings and body fluids by immunofluorescence test. Augment in titles of IgM and IgG in serum is ambiguous because it just indicates previous and/or present infections, even in vaccinated animals. Immunosuppression induced by canine distemper virus probably collaborates with varieties of opportunistic agents, i.e. *Toxoplasma gondii*. Live attenuated vaccines have been used successfully for many years to control wild-type morbillivirus infection.

Key words: canine distemper, *Morbilivirus*, neuropathology, encephalitis, demyelinating.

NEUROPATOLÓGIA DEL MOQUILLO CANINO

RESUMEN

El moquillo canino es una enfermedad infecto-contagiosa, de curso clínico agudo, causada por un *Morbilivirus* de la familia *Paramyxoviridae*. Tiene presentación mundial, sin estacionalidad, sin predilección por sexo o raza, se presenta con mayor incidencia en animales jóvenes, pero puede atacar animales de cualquier edad. La transmisión ocurre principalmente por aerosoles y gotas contaminadas. Una vez que el virus entra en contacto con el epitelio del huésped, ocurre replicación dentro de los macrófagos y ulterior diseminación. Después de cuatro a seis días se presenta una nueva replicación que causa aumento inicial en la temperatura corporal y leucopenia. Dentro de un período de 8 a 10 días, ocurre diseminación viral en los epitelios y en el sistema nervioso central. La encefalitis aguda se manifiesta en animales jóvenes o inmunosuprimidos y se caracteriza por lesión viral directa. La encefalitis multifocal en los adultos ataca frecuentemente animales entre los cuatro y los seis años, y tiene un carácter crónico. La encefalitis del perro viejo, común en animales mayores de 6 años, se caracteriza por la presencia de panencefalitis, la cual es una forma rara que resulta de la persistencia viral en las neuronas. Las lesiones desmielinizantes clásicas comienzan tres semanas después de la infección durante periodos de inmunosupresión intensa, como consecuencia de la replicación viral dentro de los oligodendrocitos. La desmielinización en la fase crónica coincide con la recuperación del sistema inmune, caracterizada por la reducción o pérdida de las proteínas virales, con aumento de la regulación del complejo mayor de histocompatibilidad e infiltración de células inflamatorias. El curso clínico y el patrón neurológico de la encefalomyelitis son variables dependiendo de la cepa viral y de la edad en la cual el animal fue infectado. El líquido cefalorraquídeo indica anomalías en la fase crónica con aumento de proteínas, principalmente de IgG antiviral y aumento del número de células,

con predominio de linfocitos. En los cortes histológicos es posible confirmar la infección con la observación de lesiones caracterizadas por áreas de necrosis bien delimitadas, desmielinización y cuerpos de inclusión. La técnica de aislamiento viral en cultivo celular es específica, lenta y puede resultar en falso-negativo si el animal no se encuentra en la fase aguda. La técnica de reacción en cadena de la polimerasa por transcripción reversa ha sido empleada con éxito en la detección viral. El diagnóstico puede ser realizado por medio de la técnica de inmunofluorescencia directa en fluidos corporales. El aumento de los títulos de IgM e IgG en el suero es ambiguo y puede indicar infecciones anteriores y actuales con o sin vacuna. Los perros infectados pueden presentar inmunosupresión, lo que permite la infección por agentes oportunistas, como *Toxoplasma gondii*. Las vacunas producidas con muestras virales atenuadas adecuadamente, son eficientes para proteger a los animales contra la infección natural.

Palabras-clave: moquillo canino, *Morbilivirus*, neuropatología, encefalitis, desmielinización.

INTRODUÇÃO

Aspectos etio-epidemiológicos

A cinomose é uma doença infecto-contagiosa, causada por um RNA-vírus da família *Paramyxoviridae*, gênero *Morbilivirus*. Enfermidade que possui três formas de apresentação clínica: aguda, subaguda e crônica, com manifestações gastroentéricas, respiratórias e neurológicas. Foram descritas três formas de encefalite causada pelo vírus da cinomose: encefalite dos cães jovens, encefalite em cães adultos e encefalite do cão velho (CORRÊA E CORRÊA, 1992).

O vírus possui simetria helicoidal, pleomorfismo e muitos são aproximadamente esféricos medindo ao redor de 100-250 nm de diâmetro (GREENE, 2006). A sua estrutura é formada por um nucleocapsídeo contendo o genoma viral, que consiste na nucleoproteína (NP) e no complexo polimerase incluindo proteínas P e L. A membrana está localizada n

13/04/07

13/04/07

Exibe duas glicoproteínas no envelope viral: a maior, hemaglutinina (HA), possui atividade de hemoaglutinação, fixação do vírus na célula hospedeira e é responsável pelo tropismo celular; a proteína de fusão (F) proporciona a ligação entre a membrana celular e o envelope viral e a formação sincicial (STERN et al., 1995; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

Enfermidade de ocorrência mundial afeta animais das famílias Canidae, Mustelidae, Procyonidae, Viverridae, Felidae, Ursidae e mamíferos aquáticos. Porém, é o mais importante agente infeccioso que acomete a população canina (CORRÊA E CORRÊA, 1992; TIPOLD et al., 1992; SUMMERS et al., 1995; HEADLEY E GRAÇA, 2000; GEBARA et al., 2004).

O vírus da cinomose é pantrópico, apresenta diversas cepas, sendo algumas mais neurotrópicas e mais virulentas. Esta enfermidade pode ocorrer em qualquer época do ano, mas acomete os cães principalmente no inverno, sem predileção de sexo ou raça (CORRÊA E CORRÊA, 1992).

A taxa de infecção é maior do que o número dos animais que manifestam a enfermidade, estimando-se em até 75% de cães suscetíveis que eliminam o vírus, sem qualquer sinal clínico da doença (CORRÊA E CORRÊA, 1992; GEBARA et al., 2004).

A transmissão ocorre principalmente por aerossóis e gotículas contaminadas, de secreções respiratórias, fezes e urina (CORRÊA E CORRÊA, 1992).

Patologia

A quebra e a ativação das glicoproteínas, em alguns *Paramyxovirus* e *Ortomyxovirus*, dependem de proteases tissulares específicas, que determinam o tropismo, restringindo a fusão para tecidos selecionados. O processo de fusão inicia com o contato do receptor celular com a proteína HA, que muda sua conformação, transmitindo lateralmente um sinal para a proteína F, que sofre quebra e ativação (Von MESSLING et al., 2001; Von MESSLING et al., 2004).

Durante a exposição natural, o vírus da cinomose se propaga por gotas de aerossóis e entra em contato com o epitélio do trato respiratório superior. Em 24 horas, as partículas virais se replicam nos macrófagos e se disseminam pela via linfática local, para tonsilas e linfonodos brônquicos (VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 1995; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005; GREENE, 2006).

De dois a quatro dias pós-infecção, o número de partículas virais nas tonsilas, linfonodos retrofaríngeos e bronquiais aumenta, porém uma quantidade pequena de células mononucleares infectadas é encontrada em outros órgãos linfóides. No período de quatro a seis dias ocorre a replicação viral no sistema linfóide, medula óssea, timo, baço, linfonodos mesentéricos, placas de Payer, células estomacais, células de Küpffer e células mononucleares ao redor dos vasos pulmonares e bronquiais. A ampla proliferação viral nos órgãos linfóides induz um aumento inicial na temperatura corporal, entre o segundo e o sexto dia, ocorrendo leucopenia, causada por danos virais nas células linfóides (CORRÊA e CORRÊA, 1992; TIPOLD et al., 1992; GREENE, 2006).

Ocorre disseminação do vírus no epitélio e nos tecidos do sistema nervoso central (SNC) no período de 8 a 10 dias pós-infecção, por via hematogena ou pelo líquido, após viremia (JONES et al., 2000; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005; GREENE, 2006).

No cão com níveis intermediários de resposta imune mediada por células e com títulos de anticorpos que aparecem tardiamente, após 9 a 14 dias, o vírus se dissemina pelos tecidos. Os sinais clínicos podem desaparecer com o aumento da titulação de anticorpos e o vírus é eliminado da maioria dos tecidos assim que este título aumentar, podendo persistir por longos períodos em tecidos uveais, neurônios e tegumentos, como nos coxins plantares. A recuperação da infecção está associada com a imunidade a longo prazo e interrupção da replicação viral. A proteção pode ser comprometida se o cão for exposto a uma cepa altamente virulenta, a dose infectante elevada ou sofrer imunossupressão (CORRÊA e CORRÊA, 1992; GREENE, 2006).

Patologia do Sistema Nervoso Central

Alguns estudos sugerem que a infecção do sistema nervoso central (SNC) ocorre precocemente, na fase sistêmica da doença. Neste caso, a cinomose progride da forma sistêmica para a neurológica, aparentemente por falha do sistema imune.

Além da resposta imune sistêmica do hospedeiro, a presença de anticorpos antivirais e deposição de imunocomplexos podem facilitar a sua difusão no endotélio vascular do SNC. O vírus livre ou associado às plaquetas ou linfócitos penetra nas células endoteliais vasculares das meninges, nas células do plexo coróide do quarto ventrículo e nas células endimárias lineares do sistema ventricular (GREENE, 2006). A freqüente ocorrência de lesões periventriculares e subpiais, e o fato do vírus ser encontrado facilmente nas células do plexo coróide e do epêndima, sugerem que penetre nos tecidos cerebrais pelo líquido, onde o agente pode ser encontrado em células mononucleares fundidas com células endimárias (VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 1995).

A infecção do epitélio do plexo coróide é produtiva durante todo o curso de infecção com o vírus sendo produzido continuamente. A propagação do vírus pelas vias do SNC explica a distribuição de lesões em córtex cerebral, trato óptico e nervos, véu medular rostral, pedúnculos cerebelares e medula espinhal (GREENE, 2006).

Apesar da ausência de manguitos perivascularares, numerosas células CD8⁺ são encontradas nas lesões agudas desmielinizantes e também distribuídas difusamente no parênquima cerebral, correlacionado de forma desigual com áreas de infecção viral. No líquido destes animais altos títulos de interleucina 8 (IL-8) foram encontrados, sugerindo que a ativação inicial das células da micróglia serve como uma alavanca para a invasão de células T no SNC (VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

A IL-1 é importante na patogênese de todos os tipos de lesões causadas pelo vírus da cinomose e é responsável por estimular a proliferação de astrócitos, que pode significar o início das lesões, como as encontradas na cinomose não inflamatória subaguda, que evidenciam frequentemente astrogliose reativa. Encontrada principalmente nos espaços perivascularares da inflamação subaguda e nas lesões crônicas, a IL-1 age de forma importante na propagação da doença (GRÖNE et al., 2000).

A encefalite aguda, que ocorre inicialmente no curso da infecção em animais jovens ou imunossuprimidos, é caracterizada por lesão viral direta (SUMMERS et al., 1995; GEBARA et al.,

2004; GREENE, 2006). O vírus causa lesão multifocal nas substâncias cinzenta e branca. As lesões na substância cinzenta são resultados de infecção neuronal e necrose, e podem levar a uma poliencfalomalácia. Lesões na substância branca são caracterizadas por danos mielínicos e estão associados com replicação viral nas células da glia. Mudanças inflamatórias são mínimas devido à imunodeficiência resultante de imaturidade fisiológica do sistema imune e/ou decorrente da imunossupressão viral induzida (VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 1995; GEBARA et al., 2004; GREENE, 2006).

No aspecto microscópico é possível observar inclusões intranucleares no interior de astrócitos multinucleados e de certas micróglia. No entanto, raramente podem ser detectados nos neurônios corpúsculos de inclusão citoplasmáticos ou nucleares (SUMMERS et al., 1995; JONES et al., 2000).

Durante a fase inicial da encefalite a expressão do RNA mensageiro (mRNA) e da proteína viral é alta nas áreas afetadas e uma possível consequência é o aumento da produção do Fator de Necrose Tumoral (TNF) pelas células, como astrócitos. A sua importância na progressão das lesões cerebrais é também sustentada pela abundância do vírus na forma imunorreativa presente nas lesões não inflamatórias, que se caracterizam pela desmielinização. O TNF tem sido evidenciado como causa da destruição de oligodendrócitos e perda de mielina (GRÖNE et al., 2000).

A encefalite multifocal em cães adultos acomete frequentemente animais entre os quatro e seis anos, com curso crônico. Esta enfermidade não é precedida nem coincidente com os sinais sistêmicos (CORRÊA e CORRÊA, 1992). O antígeno do vírus fica restrito a poucos astrócitos e a expressão do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) é proeminente em todas as células da micróglia, sendo responsável pela desmielinização contínua e disseminada infiltração mononuclear perivascular. As alterações têm início com hiperplasia dos astrócitos e proliferação microglial em estruturas subpiais e subependimárias na substância branca. Esta forma também está associada com a alta concentração de anticorpos antimielínicos, podendo ser uma reação secundária ao processo inflamatório. Anticorpos contra o vírus interagem com macrófagos infectados em lesões no SNC, causando sua ativação com liberação de radicais livres de oxigênio. Esta atividade por sua vez pode levar à destruição de oligodendrócitos e bainha de mielina (TIPOLD et al., 1992; SUMMERS et al., 1995; GEBARA et al., 2004; GREENE, 2006). Corpúsculos de inclusão viral intranucleares e intracitoplasmáticos estão presentes em astrócitos e células da superfície ependimal (SUMMERS et al., 1995; GEBARA et al., 2004).

Na retina ocorre congestão e edema. Também pode estar presente uma inflamação do nervo óptico acompanhada de alterações microscópicas como a formação de manguitos perivasculares com linfócitos, degeneração de células ganglionares, desmielinização e gliose. As inclusões intranucleares podem ser encontradas na glia da retina e do nervo óptico (JONES, et al., 2000).

Os estudos de Bürge et al. (1989) demonstraram que os anticorpos antivirais estimulam a produção de radicais livres de oxigênio (ROS) em culturas cerebrais de cães infectadas com o vírus da cinomose. Os ROS fazem degradação de fosfolípidios na parte cortical do cérebro, destruindo proteínas da bainha de mielina e interferindo na produção da mielina.

Nesta fase da doença, nos infiltrados perivasculares encontram-se CD8+, CD4+ e linfócitos B, e citocinas pro-inflamatórias, IL-1, IL-6 e IL-12, indicando uma resposta imune-mediada (WÜNSCHMANN et al., 1999; MARKUS et al., 2002).

A produção de TNF e também de IL-1 e IL-6 pelas células locais é importante na indução de moléculas de adesão endotelial como pré-requisito para a migração de células inflamatórias para o SNC e a progressão das lesões no estágio crônico, caracterizadas por inflamação severa. Além disso, a produção de TNF por células inflamatórias não é responsável apenas pelo processo de desmielinização pela destruição direta de oligodendrócitos, mas pode levar a mobilização de mais leucócitos (GRÖNE et al., 2000).

Os estudos realizados por Vandeveld e Zurbriggen (1995) mostraram que o vírus persiste em áreas na substância branca que não apresentam lesões inflamatórias desmielinizantes, ou periféricamente a estas. Isto acontece no desenvolvimento progressivo da doença crônica se a resposta imune for mais lenta do que a replicação viral. A persistência viral é a chave para a patogênese das lesões crônicas (ZURBRIGGEN et al., 1995a; ZURBRIGGEN et al., 1995b; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

É possível que o vírus reduza sua expressão nestas áreas do SNC, em analogia a panencefalite subaguda esclerosante em humanos. A persistência está associada com a diminuição da regulação dos

genes que codificam proteínas de membrana e superfície. Estas células persistentemente infectadas podem continuar a sobreviver, pois a infecção é restrita e a difusão viral não provoca lise celular.

Sugere-se que a infecção de astrócitos pelo vírus da cinomose não inicie uma reação inflamatória, por uma ação viral em limitar o seu desenvolvimento com a diminuição da destruição celular, impedindo a exposição de proteínas virais e debris celulares no meio extracelular. A persistência do vírus é favorecida pela estratégia do mesmo, que se dissemina sem ser detectado pelo sistema imune (ZURBRIGGEN et al., 1995a; ZURBRIGGEN et al., 1995b; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

A encefalite do cão velho é comumente observada em cães com mais de seis anos, porém já foi encontrada em animais mais novos. Caracteriza-se por ser principalmente uma panencefalite e é uma forma rara, crônica, de caráter inflamatório progressivo na camada cinzenta dos hemisférios cerebrais e do tronco encefálico, resultante da persistência viral nos neurônios após infecção aguda pelo vírus da cinomose. Esta enfermidade acomete animais que são imunocompetentes e que apresentam a persistência viral no SNC, com lesões caracterizadas por infiltração perivascular disseminada com linfócitos (células T) e plasmócitos, proliferação difusa da micróglia, astrogliose, degeneração neuronal, neuronofagia e a resposta imune é caracterizada por um aumento da expressão do MHC. Estas lesões estão em todo córtex cerebral e também no núcleo basal, tálamo e hipotálamo (SUMMERS et al., 1995; GREENE, 2006). Geralmente o cerebelo não é acometido nesta forma (CORRÊA e CORRÊA, 1992). Podem ser encontrados corpúsculos de inclusão intranucleares nas células gliais e nos neurônios (JONES, et al., 2000).

Desmielinização

O início das lesões desmielinizantes ocorre aproximadamente três semanas pós-infecção e durante o período de intensa imunossupressão e ausência de inflamação. Coincide com a replicação viral nas células da glia, com predileção por algumas regiões como cerebelo, sistema óptico e medula espinhal (TIPOLD et al., 1992; SUMMERS et al., 1995; VANDEVELDE, 2004; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

O sistema matrix metaloproteases (MMP) está envolvido na patogênese da desmielinização, por abrir a barreira hemato-encefálica pela quebra de componentes da membrana basal, favorecendo a migração de células inflamatórias para o interior do SNC, desencadeando a liberação de TNF- α , que desintegra a bainha de mielina (MIAO et al., 2003; VANDEVELDE, 2004).

No estudo realizado por Khuth et al. (2001) foi possível observar o aumento da expressão de MMP e seus inibidores tissulares (TIMP) em locais específicos, principalmente na região rostral do cérebro, córtex, hipocampo e hipotálamo. Concomitantemente há um aumento da regulação ou indução de citocinas pro-inflamatórias, havendo uma relação entre a replicação viral no SNC, a produção de citocinas inflamatórias e esse aumento da quantidade de MMP e TIMP. Sugere-se que a indução de citocinas inflamatórias é causada pela replicação viral, sendo estas responsáveis em parte pela regulação de MMP e TIMP.

Desmielinização aguda - lesão induzida pelo vírus

O exato mecanismo do início das lesões da mielina no estágio agudo imunossupressor da cinomose ainda é incerto (STEIN et al., 2004; VANDEVELDE, 2004; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005). Segundo Gröne et al. (2000), as áreas com desmielinização aguda e sem inflamação são consideradas uma consequência da replicação viral no interior de oligodendrócitos levando a destruição celular e a perda de habilidade para manter a bainha de mielina (MIAO et al., 2003; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

A explicação segundo Vandeveld e Zurbriggen (1995) para o fenômeno de desmielinização é similar, porém o estudo em microscopia óptica mostra que a maioria das células infectadas são astrócitos. A microscopia eletrônica revela que a infecção de oligodendrócitos é rara na cinomose, e concluem em seus estudos que o vírus causa uma infecção restrita nos oligodendrócitos, que mesmo assim pode ser responsável pelo fenômeno de desmielinização.

Em estudo ultraestrutural foram constatadas microvacuolização e perda de organelas por degeneração de oligodendrócitos. As mudanças morfológicas são precedidas por disfunções

metabólicas nestas células, com a diminuição drástica da atividade da cerebrosídeo sulfo-transferase (enzima específica de oligodentrócitos) após infecção viral. É possível que a transcrição do vírus interfira nas funções especializadas destas células, que são necessárias para manutenção das membranas mielínicas (VANDEVELDE, 2004; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

Nos achados de Stein et al. (2004), o vírus induziu a ativação das células da micróglia, que podem ter um importante impacto na patogênese de desmielinização aguda da cinomose, devido a um difuso aumento da regulação do MHC na camada branca. A ativação de tais células libera fatores tóxicos que podem induzir a destruição da mielina (MIAO et al., 2003; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

Desmielinização crônica - complicações imunológicas

Coincidente com a recuperação do sistema imune seis a sete semanas pós-infecção, manguitos perivascularres com linfócitos, células plasmáticas e monócitos ocorrem inicialmente nas lesões induzidas pelo vírus no cérebro. A reação inflamatória nas lesões desmielinizantes pode levar a progressão da destruição do tecido e é possível que astrócitos, o primeiro alvo do vírus, participem da amplificação desta resposta imune (VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

Lesões crônicas desmielinizantes são caracterizadas pela redução ou possível perda das proteínas virais, com aumento da regulação do MCH e infiltração massiva de CD8+, CD4+ e células B (MIAO et al., 2003; VANDEVELDE, 2004).

A inflamação está associada com a síntese de anticorpos citotóxicos-dependentes, que podem induzir a desmielinização por ação dos anticorpos anti-mielina. Vandeveld e Zurbriggen (1995) concluíram que as reações auto-imunes na cinomose são provavelmente um epifenômeno e que não são primárias no processo crônico de desmielinização (TIPOLD et al., 1992; VANDEVELDE, 2004).

O experimento realizado por Krakowka et al. (1973) descreve a presença de anticorpos anti-mielina no soro de cães infectados apresentando encefalomielite desmielinizante. A demonstração de imunoglobulinas nas lesões desmielinizantes no SNC de cães infectados é uma tentativa de provar que estas possuem um papel ativo na progressão da doença. Os autores concluíram que estes anticorpos são fatores que contribuem na patogênese da desmielinização e funcionam amplificando as lesões básicas não inflamatórias induzidas pelo vírus no cérebro.

Anticorpos anti-mielina são produzidos no local das lesões cerebrais inflamatórias e podem ser encontrados no líquido de cães infectados. Resposta mediada por células contra a proteína básica da mielina foi encontrada em cães experimentalmente infectados. Entretanto, nem anticorpos anti-mielina ou reações mediadas por células estão relacionados com o curso da doença (VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

No entanto, Summers et al. (1995), descreve que fragmentos de mielina são fagocitados, principalmente por células da micróglia, menos por astrócitos e raramente por oligodentrócitos, induzindo a retirada pelos macrófagos.

Macrófagos, que estão em grande número nas lesões de cinomose, possuem um papel importante. A interação dos anticorpos antivirais e dos macrófagos resulta na produção de radicais livres de oxigênio que podem ser responsáveis pela destruição de oligodentrócitos e compartimentos de mielina. Quimicamente a produção de radicais livres de oxigênio no sistema xantina/xantina-oxidase, seletivamente destrói culturas de oligodentrócitos, que são ricos em compostos ferrosos (VANDEVELDE, 2004; VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 2005).

Existem algumas evidências experimentais que o vírus induz alterações nas funções de macrófagos. A produção de IL-1 por macrófagos *in vitro* pode diminuir e de prostaglandina E aumentar como resultado da infecção viral. A fagocitose, dependente ou independente de receptores Fc, assim como a habilidade de liberar radicais livres de oxigênio e a atividade procoagulante dos macrófagos também é alterada após a infecção. Considerando a relação entre o sistema de coagulação e funções inflamatórias, essas observações mostram que a infecção pelo vírus da cinomose pode desencadear uma atividade destrutiva dos macrófagos e é possível sugerir a hipótese que a desmielinização “espectadora” ocorra na cinomose crônica (VANDEVELDE e ZURBRIGGEN, 1995).

Sinais clínicos da doença neurológica

O vírus da cinomose causa doença multissistêmica freqüentemente com sinais neurológicos. Estes sinais podem apresentar-se tardiamente, semanas, meses ou anos após a recuperação de infecções inaparentes, ou após a recuperação da fase sistêmica da cinomose aguda (TIPOLD et al., 1992; GREENE, 2006).

Os sinais neurológicos são múltiplos e refletem a distribuição do vírus e as lesões no SNC. Experimentalmente, o curso clínico e o padrão neurológico da encefalomielite podem mostrar-se variáveis com a cepa viral e com a idade que o animal foi infectado.

Hiperestesia, rigidez cervical e para-espinhal podem ser encontrados em cães como resultado de inflamação das meninges, entretanto, sinais de lesões no parênquima são predominantes em relação aos sinais meningeais (GREENE, 2006). Quando há acometimento da medula espinhal sinais, como parestesia e incordenação de membros são os únicos achados neurológicos.

A doença vestibular pode levar a presença de sinais como movimento de cabeça, nistagmo, déficits em outros nervos cranianos e da propriocepção, e a doença cerebelar se manifesta por ataxia, hipermetria e balançar de cabeça. Cegueira uni ou bilateral, às vezes com midríase, ocorrem devido o freqüente envolvimento do trato e nervo óptico. Atrofia muscular generalizada é rara como apresentação clínica de lesão focal no córtex (CORRÊA e CORRÊA, 1992; TIPOLD et al., 1992; GREENE, 2006).

Podem ocorrer convulsões parciais ou generalizadas. Porém, a convulsão do tipo “goma de mascar” freqüentemente ocorre em cães que desenvolvem poliencefalomalácea nos lobos temporais (GREENE, 2006).

As mioclonias são os sinais mais comuns da cinomose e podem estar presentes na ausência de outros sinais neurológicos. Acometem um único músculo ou um grupo de músculos, como auriculares, temporais, reto abdominal e flexores dos membros (CORRÊA e CORRÊA, 1992; SUMMERS et al., 1995; GREENE, 2006). O mecanismo neural para as mioclonias origina-se com irritação local pela presença do vírus em neurônios motores inferiores da medula espinhal ou do núcleo do nervo craniano (TIPOLD et al., 1992; GREENE, 2006).

Na encefalite do cão velho, o sinal neurológico mais comum é a diminuição visual. A enfermidade é progressiva e acompanhada pelo desenvolvimento de depressão mental, andar compulsivo em círculos, mioclonias, hipercinesia e pressão de cabeça contra paredes ou objetos. Sinais de envolvimento do tronco cerebral são raros (CORRÊA e CORRÊA, 1992; SUMMERS et al., 1995; VITE, 2005).

Patologia clínica

Exame do líquido

Segundo Gama et al. (2005), as características físico-químicas do líquido tais como, coloração, aspecto, densidade, pH e níveis de glicose, não são capazes de contribuir para indicar qualquer anormalidade, nas diferentes fases da cinomose. Por outro lado, o componente protéico e a celularidade mostraram alterações importantes na presença de sinais neurológicos. Durante o estágio de desmielinização aguda, não ocorrem reações inflamatórias e as proteínas e as células do líquido podem estar normais (TIPOLD et al., 1992; GREENE, 2006).

No estágio crônico, com a inflamação pode ocorrer aumento de proteína (acima de 25 mg/dl), principalmente representado por IgG antivírus e aumento do número de células (mais que 10/ μ l) com predomínio de linfócitos (CORRÊA e CORRÊA, 1992; TIPOLD et al., 1992; SUMMERS et al., 1995; GREENE, 2006).

O aumento dos anticorpos anti-vírus no líquido oferece uma evidência definitiva da encefalite pela cinomose, porque estes anticorpos são produzidos no local, e este aumento não é encontrado em animais vacinados ou na cinomose sistêmica sem alterações neurológicas (GREENE, 2006).

Prognóstico

O prognóstico é reservado na fase sistêmica da enfermidade, pois pode progredir para a fase nervosa. Torna-se desfavorável nesta fase, pois a mesma comumente é progressiva, raramente estacionando, ou levando à morte de forma aguda ou crônica. Caso isso não ocorra, o animal pode ficar com seqüelas que sejam incapacitantes ou incompatíveis com a vida (CORRÊA e CORRÊA, 1992).

Diagnóstico

No sistema nervoso central o vírus causa lesões caracterizadas por áreas de necrose bem delimitadas, desmielinização e inclusões intranucleares principalmente em astrócitos. A observação dessas lesões em cortes histológicos confirma o diagnóstico da infecção pelo vírus (SUMMERS et al., 1995; JONES et al., 2000; GEBARA et al., 2004; GREENE, 2006).

A técnica de isolamento viral em cultivo celular é específica, porém demorada e difícil, podendo resultar em falso-negativo se o animal não estiver na fase aguda da doença. A formação de células gigantes é a característica citopática efetiva do vírus da cinomose em várias culturas de tecido e pode ser detectada dois a cinco dias após a infecção.

Atualmente, a técnica da reação em cadeia pela polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR) vem sendo empregada com sucesso na detecção do vírus em diferentes tipos de amostras biológicas provenientes de cães com sinais clínicos sistêmicos e neurológicos. Segundo Gebara et al. (2004), é possível detectar o ácido nucléico do vírus em urina de cães tanto com encefalite aguda quanto crônica, evidenciando a virúria. Estes resultados demonstram que a técnica de RT-PCR é um método eficiente para realização do diagnóstico rápido, precoce e *in vivo* (GEBARA et al., 2004; SATIO et al., 2005).

O diagnóstico final, na fase aguda, é baseado na demonstração de antígenos virais em esfregaços sangüíneos e fluído corporais como raspado de conjuntiva, lavado traqueal, sedimento urinário, células do líquido e medula óssea. O antígeno viral pode ser difícil de detectar em outros tecidos nos casos de cinomose em fase nervosa sem acometimento de outros sistemas. O mesmo pode ser detectado nas células do líquido com o teste de anticorpos fluorescentes indiretos usando anticorpos anti-vírus (TIPOLD et al., 1992; GREENE, 2006). Na pele, tecido uveal, coxins plantares e sistema nervoso central o vírus pode ser encontrado pela fluorescência direta em um período de 60 dias após a infecção (GREENE, 2006).

O aumento de títulos de anticorpos neutralizantes no soro pode ser mensurado em cães que sobreviveram à fase aguda de infecção, no entanto, a presença de IgM é específica para infecções recentes ou após vacinação. O aumento dos títulos de IgM e de IgG no soro é ambíguo e ambos podem indicar infecções passadas e presentes com ou sem vacinação para cinomose. A análise dos níveis de IgG específica no líquido pode ser usada para mensurar anticorpos na fase crônica da infecção do SNC (GREENE, 2006).

Co-infecção com Toxoplasmose

Cães enfermos podem apresentar imunossupressão, permitindo a infecção por agentes oportunistas, como o *Toxoplasma gondii*. No Brasil, a cinomose é considerada enzoótica em algumas regiões e pode estar associada com co-infecção por toxoplasmose (MORETTI et al., 2006).

A toxoplasmose é considerada uma enfermidade oportunista, caracterizada por sinais neuromusculares, respiratórios e gastroentéricos, ou por infecções generalizadas associada com sintomatologia neurológica (CORRÊA e CORRÊA, 1992; MORETTI et al., 2006).

A sorologia de toxoplasmose é rotineiramente requisitada em animais com sintomatologia neurológica e a obtenção de título igual a 1024 sugere que *Toxoplasma gondii* é um importante agente no processo da doença neurológica (MORETTI et al., 2006).

Segundo Brito et al. (2002), não é possível ter certeza que todos os casos de doença neurológica sejam toxoplasmose clínica. Quando há sintomatologia neurológica a suspeita é direcionada para outras infecções, como a cinomose, podendo, desta forma, a toxoplasmose se tornar

um risco para saúde pública.

A infecção por *Neospora caninum* é descrita em animais com toxoplasmose. Tipold et al. (1992) relatam a infecção combinada de cinomose com *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* (MORETTI et al., 2006).

Tratamento e prevenção

A falta de um tratamento antiviral para a infecção do vírus da cinomose requer um tratamento suporte e sintomático (TIPOLD et al., 1992; CORRÊA e CORRÊA, 1992).

Na encefalite multifocal progressiva causadora de tetraplegia, semicoma e incapacitação a eutanásia é recomendada. Nos casos de animais com convulsão os anticonvulsivantes podem ser utilizados, como o fenobarbital na dose de 2 mg/Kg pelas vias intravenosa, intramuscular e oral, a cada 12 horas. Corticosteróides, como a dexametasona na dose de 2,2 mg/Kg, por via intravenosa, podem ser utilizados por causa da imunopatologia das lesões neuronais e para reduzir o edema cerebral, mantendo a terapia com doses antiinflamatórias e posteriormente reduzindo a dose até o final do tratamento. A imunossupressão causada pelos esteróides é a principal desvantagem, porque a resposta inflamatória é responsável pela retirada do vírus do organismo. A terapia com glicocorticóides, com dosagens antiinflamatórias, pode ter algum sucesso no controle da dilatação pupilar causada pela neurite óptica ou de alguns sinais associados à inflamação crônica da encefalite. A prednisolona é comumente escolhida entre os glicocorticóides na dose de 2 – 4 mg/Kg, a cada 24 horas, por via oral. A mioclonia é normalmente intratável e irreversível (TIPOLD, 1992; GREENE, 2006).

Como os macrófagos e seus produtos são importantes na indução da destruição do tecido nervoso, antioxidantes como vitamina E e vitamina C podem ser utilizados terapêuticamente (TIPOLD, 1992).

Segundo Vandeveld (2004), o desenvolvimento de estratégias terapêuticas deve estar relacionado com a modulação imunológica. Terapias antivirais específicas contra *Morbilivirus* não foram avaliadas ainda. Por isso a mais importante intervenção veterinária é a prevenção.

Vacinas produzidas com as amostras do vírus da cinomose isoladas de cães naturalmente infectados, adequadamente atenuadas em culturas de células, são eficientes em induzir o estado de imunidade dos animais protegendo-os contra a infecção natural.

O cão deve ser vacinado quando se tornar soronegativo dos anticorpos maternos, assegurando-se a máxima resposta sorológica pós-vacinal. Recomendam-se várias aplicações de vacinas, administradas a intervalos de três a quatro semanas, devido as dificuldades de mensurar os títulos de anticorpos do filhote de forma rotineira. Após a administração da primeira dose de vacina, os cães já apresentam títulos de anticorpos em níveis protetores e, após a revacinação anual, os títulos perduram por mais de 12 meses (BIAZZONO et al., 2001).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora, a cinomose seja uma enfermidade muito estudada, não existem pesquisas sobre tratamento antiviral específico. Atualmente, o tratamento é basicamente de suporte e sintomático, dependendo diretamente da imunidade do animal. A utilização de soro hiperimune está restrita à fase virêmica da doença, onde ainda existem vírus livres e é uma conduta bastante discutível.

Muitos estudos priorizam a prevenção da doença, considerando que as vacinas podem reduzir bastante à incidência da mesma. Recentemente, a pesquisa de vacinas com seqüência de DNA está sendo desenvolvida com objetivo de minimizar os problemas pós-vacinais, como a encefalite causada pelo vírus vacinal pouco atenuado.

O uso das vacinas está diretamente relacionado com conscientização e condição econômica da população. A produção de novas vacinas mais seguras e eficientes, as tornam cada vez menos acessíveis à população de baixa renda, sendo observado um aumento da incidência da enfermidade nos animais por ela mantidos.

Os objetivos dos estudos sobre cinomose realizados no Brasil deveriam priorizar o estabelecimento de protocolos terapêuticos, para evitar a alta taxa de mortalidade; ao mesmo tempo cuidar da conscientização da população e a busca de vacinas ainda mais efetivas.

REFERÊNCIAS

- BIAZZONO, L.; HAGIWARA, M. K.; CORRÊA, A. R. Avaliação da resposta imune humoral em cães jovens imunizados contra a cinomose com vacina de vírus atenuado. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 5, p. 245-250, 2001.
- BRITO, A. F. et al. Epidemiological and serological aspects in canine toxoplasmosis in animals with nervous symptoms. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 1, p. 31-5, jan. 2002.
- BÜRGE, T. et al. Antiviral Antibodies Stimulate Production of Reactive Oxygen Species in Cultured Canine Brain Cells Infected with Canine Distemper Virus. **Journal of Virology**, v. 63, n. 6, p 2790-2797, jun. 1989.
- CORRÊA, C. N. M. Cinomose. In: CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. (Eds). **Enfermidades Infeciosas dos Mamíferos Domésticos**. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. p. 655-670.
- GAMA, F. G. V. et al. Caracteres físico-químicos e citológicos do líquido de cães em diferentes fases da cinomose. **Ciência Rural**, v.35, n. 3, p. 596-601, mai./jun. 2005.
- GEBARA, C. M. S., et al. Lesões histológicas no sistema nervoso central de cães com encefalite e diagnóstico molecular da infecção pelo vírus da cinomose canina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 2, p 168-174, abr. 2004.
- GREENE, C. E.; APPEL, M. J. Canine Distemper In: GREENE, C. E. (Eds). **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. Philadelphia: Elsevier, 2006. p 25-41.
- GRÖNE, A.; ALLDINGER, S.; BAUMGÄRTNER, W. Interleukin-1 β , -6, -12 and tumor necrosis factor- α expression in brains of dogs with canine distemper virus infection. **Journal of Neuroimmunology**, v. 110, p 20-30, 2000.
- HEADLEY, S. A., GRAÇA, D. L. Canine distemper: epidemiological findings of 250 cases. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, p. 136-140, 2000.
- JONES, T. C., HUNT, R. D., KING, N. W. **Patologia Veterinária**. São Paulo: Manole, 2000. p. 1415.
- KHUTH, S. T., et al. Morbillivirus Infection of the Mouse Central Nervous System Induces Region-Specific Upregulation of MMPs and TIMPs Correlated to Inflammatory Cytokine Expression. **Journal of Virology**, v. 75, n. 17, p. 8268-8282, set. 2001.
- KRAKOWKA, S. et al. Myelin-Specific Autoantibodies Associated with Central Nervous System Demyelination in Canine Distemper Virus Infection. **Infection and Immunity**, v. 8, n. 5, p 819-827, nov. 1973.
- MARKUS, S., FAILING, K., BAUMGÄRTNER, W. Increased expression of pro-inflammatory cytokines and lack of up-regulation of anti-inflammatory cytokines in early distemper CNS lesions. **Journal of Neuroimmunology**, v. 125, p 30-41, 2002.
- MIAO, Q. et al. Phase-dependent expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in demyelinating canine distemper encephalitis. **Acta Neuropathologica**, v. 106, p 486-494, ago. 2003.
- MORETTI, L. D. et al. *Toxoplasma gondii* genotyping in a dog co-infected with distemper virus and ehrlichiosis Rickettsia. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 6, p. 359-363, nov/dez. 2006.

MORO, L.; VASCONCELOS, A. C. Patogenia da imunossupressão na cinomose canina. **A Hora Veterinária**, v. 17, n. 102, p. 53-7, mar/abr. 1998.

SATIO, T. B. et al. Detection of canine distemper virus by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in the urine of dogs with clinical signs of distemper encephalitis. Disponível em: www.sciencedirect.com – mar. 2005.

STEIN, V. M. et al. A. Microglial cell activation in demyelinating canine distemper lesions. **Journal of Neuroimmunology**, v. 153, p. 122-131, mai. 2004.

STERN, L. B. L. et al. The Hemagglutinin Envelope Protein of Canine Distemper Virus (CDV) Confers Cell Tropism as Illustrated by CDV and Measles Virus Complementation Analysis. **Journal of Virology**, v. 69, n. 3, p 1661-1668, mar. 1995.

SUMMERS, B. A., CUMMINGS, J. F., LAHUNTA, A. **Veterinary Neuropathology**. Mosby, 1995, p. 102-110.

TIPOLD, A., VANDEVELDE, M., JAGGY, A. Neurological manifestations of canine distemper virus infection. **Journal of Small Animal Practice**, v. 33, n. 10, p. 466-470, 1992.

VANDEVELDE, M. The Pathogenesis of Nervous Distemper. Disponível em: www.vin.com/proceedings/proceedings.plx?CID=WSAVA&PID out, 2004, acesso em 15/01/2007.

VANDEVELDE, M., ZURBRIGGEN, A. The neurobiology of canine distemper virus infection. **Veterinary Microbiology**, v. 44, n. 2-4, p 271-280, jan. 1995.

VANDEVELDE, M.; ZURBRIGGEN, A. Demyelination in canine distemper virus infection: a review. **Acta Neuropathologica**, v. 109, p 56-68, jan. 2005.

VITE, C. H. Inflammatory Disease of the Central Nervous System. In: VITE, C. H. **Braund's Clinical Neurology in Small Animals: Localization, Diagnosis and Treatment** (Eds.) New York: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), fev. 2005.

Von MESSLING, V. et al. The hemagglutinin of Canine Distemper Virus Determines Tropism and Cytopathogenicity. **Journal of Virology**, v. 75, n. 14, p 6418-6427, jul. 2001.

Von MESSLING, V. et al. Canine Distemper Virus and Measles Virus Fusion Glycoprotein Trimers: Partial Membrane-Proximal Ectodomain Cleavage Enhances Function. **Journal of Virology**, v. 78, n. 15, ago. 2004.

WÜNSCHMANN, A. et al. Identification of CD4+ and CD8+ T cell subsets and B cell in the brain of dogs with spontaneous acute, subacute-, and chronic-demyelinating distemper encephalitis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 67, p 101-116, 1999.

ZURBRIGGEN, A. et al. Canine Distemper Virus Persistence in the Nervous System Is Associated with Noncytolytic Selective Virus Spread. **Journal of Virology**, v. 69, n. 3, p. 1678-1686, mar. 1995a.

ZURBRIGGEN, A. et al. Selective spread and reduced virus release leads to canine distemper virus persistence in the nervous system. **Veterinary Microbiology**, v. 44, p 281-288, 1995b.

Recebido em: 13/09/2007

Aceito em: 20/02/2008