

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AÇÃO DE UM NOVO PROTÓTIPO ANTI-HIPERTENSIVO (LASSBio
897) SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE CÃES**

Priscilla Regina Nasciutti

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosângela de Oliveira Alves Carvalho

GOIÂNIA
2014



TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Priscilla Regina Nasciutti		
E-mail:	prinasciutti@gmail.com		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Vínculo empregatício do autor	Nenhum		
Agência de fomento: FAPEG	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior	Sigla:	CAPES
País:	Brasil	UF: GO	CNPJ:
Título:	AÇÃO DE UM NOVO PROTÓTIPO ANTI-HIPERTENSIVO (LASSBio 897) SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE CÃES		
Palavras-chave:	cão, vasodilatador, eletrocardiograma, ecodopplercardiograma		
Título em outra língua:	ACTION OF A NEW PROTOTYPE ANTIHYPERTENSIVE (LASSBio 897) ON THE CARDIOVASCULAR SYSTEM OF DOGS		
Palavras-chave em outra língua:	dog, vasodilator, electrocardiography, echocardiography		
Área de concentração:	Patologia, Clínica e Cirurgia Animal		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	26/02/2014		
Programa de Pós-Graduação:	Programa de Pós-graduação em Ciência Animal		
Orientador (a):	Profª. Dra. Rosângela de Oliveira Alves Carvalho		
E-mail:	roalves@vet.ufg.br		
Co-orientador (a):	Profª. Drª. Valéria de Oliveira – FF/UFG		
	Prof. Dr. Adilson Donizeti Damasceno – EVZ/UFG		
E-mail:	addamasceno@ufg.br		
	valeria@farmacia.ufg.br		

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Priscilla Regina Nasciutti

Assinatura do (a) autor (a)

Data: 25 / 03 / 2014

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

PRISCILLA REGINA NASCIUTTI

**AÇÃO DE UM NOVO PROTÓTIPO ANTI-HIPERTENSIVO (LASSBio
897) SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE CÃES**

Dissertação apresentada para a
obtenção do grau de Mestre em
Ciência Animal junto à Escola de
Veterinária e Zootecnia da
Universidade Federal de Goiás.

Área de concentração:
Patologia, Clínica e Cirurgia Animal

Linha de pesquisa:
Alterações clínicas, metabólicas e
toxêmicas dos animais e meios
auxiliares de diagnóstico.

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. Rosângela de Oliveira Alves Carvalho – EVZ/UFG

Comitê de Orientação:
Prof^a. Dr^a. Valéria de Oliveira – FF/UFG
Prof. Dr. Adilson Donizeti Damasceno – EVZ/UFG

GOIÂNIA

2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
GPT/BC/UFG**

N244a Nasciutti, Priscilla Regina.
Ação de um novo protótipo anti-hipertensivo (LASSBio 897) sobre o sistema cardiovascular de cães [manuscrito] / Priscilla Regina Nasciutti. - 2014.
103 f. : il.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosângela de Oliveira Alves Carvalho.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2014.
Bibliografia.
Inclui lista de figuras, abreviaturas e tabelas.

1. Cães – Hipertensão – Tratamento 2. Cães – Sistema Cardiovascular 3. LASSBio 897 I. Título.

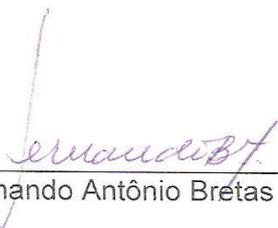
CDU – 636.7:616.12-008.331.1

PRISCILLA REGINA NASCIUTTI

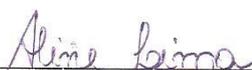
Dissertação defendida e aprovada em **26/02/2014**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



Profa. Dra. Rosângela de Oliveira A. Carvalho
(ORIENTADOR (A))



Prof. Dr. Fernando Antônio Bretas Viana - UFMG/MG



Profa. Dra. Aline Maria Vasconcelos Lima - EVZ/UFG

Dedico esta dissertação à minha querida vovó Raimunda, que nos deixou durante a realização deste trabalho, mas que sempre me apoiou e esteve presente em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por estar sempre presente em minha vida e especialmente durante a realização do mestrado, permitindo que eu concluísse mais este projeto, dando-me força pra seguir até o final.

A minha querida professora orientadora Dra. Rosângela de Oliveira Alves Carvalho, por todos os ensinamentos doados, carinho, confiança e amizade. Por quem sinto grande admiração, um exemplo de pessoa e profissional a ser seguido.

A Prof^ª. Dr^ª. Valéria de Oliveira, pela coorientação e por disponibilizar o seu laboratório na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, fornecendo condições para realização de parte deste trabalho.

Ao Prof. Adilson, da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, pela coorientação e por todos os ensinamentos prestados durante a graduação e a pós-graduação.

Aos Profs. Drs. Eliezer Jesus Barreiro e Carlos Alberto Manssour Fraga, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, por ter nos cedido o protótipo a fármaco LASSBio 897, possibilitando a realização desta pesquisa.

Aos Profs. Drs. Fernando Antônio Bretas Viana e Aline Maria Vasconcelos Lima por comporem a minha banca de defesa e contribuírem para elaboração deste trabalho.

A minha querida família, mãe, pai, irmãs e cunhados que sempre me apoiaram. Pelo carinho, atenção, esforços, compreensão e amor que sempre me dedicaram. Em especial ao meu sobrinho Marcus Vinícius, dono dos sorrisos mais encantadores e motivo de alegria constante. Sem dúvida eles foram o alicerce para que esse projeto pudesse ser realizado.

Ao meu namorado Vinícius Karasek de Alencar, presente em todos os momentos, companheiro e incentivador dos meus estudos e colaborador até mesmo na fase experimental, doando-me parte de seu tempo, apoiando e ajudando sempre. Amo-te e espero poder continuar sempre ao seu lado.

A todos os estagiários que ajudaram durante a realização da parte experimental do projeto, sempre dispostos a participar e que se tornaram grandes amigos pessoais e o melhor grupo da cardiologia: Isabela Plaza Bittar, Fernanda

de Oliveira Carvalho, André Ribeiro Fayad, Gladsthon Divino de Sousa Filho e Monique Machado Louredo Teles.

A minhas amigas de profissão Ana Paula Araújo Costa, Patrícia Nunes de Oliveira e Andréa Cintra Bastos Tôrres Passos que sempre estiveram presentes ajudando sempre que precisei.

Aos meus queridos cães do grupo experimental, os beagles Mel, Luna, Bela, Brigitte, Clara e Marley, que participaram e colaboraram com o desenvolvimento do projeto, tornando os dias de trabalho sempre muito agradáveis. As minhas cachorrinhas, Pérola e Sabrina, sempre uma inspiração para continuar trabalhando e estudando.

As amigas do Petshop Melhor Amigo, Mônica, Mariana e Marina pela amizade e apoio. Além de deixar, por algumas vezes, nossos beagles cheirosos e bem cuidados.

A todos os colegas do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Goiás, professores, residentes, funcionários e estagiários e em especial ao Prof. Dr. Paulo Henrique, diretor do Hospital Veterinário, pela oportunidade de atender os pacientes encaminhados ao Serviço de Cardiologia.

A graduanda Geovana Mendes e a pós-graduanda Telma de Matos pela contribuição para realização de parte do estudo experimental realizado na Faculdade de Farmácia da UFG.

Aos professores Dr. Dirson Vieira e Dr^a. Maria Clorinda, por me concederem a oportunidade de ministrar algumas aulas das disciplinas Semiologia Animal e Cuidados Básicos com Cães e Gatos, nesta instituição.

Agradeço à empresa Nestlé Purina que forneceu o alimento dos cães durante todo o tempo em que foram mantidos na universidade.

A Universidade Federal de Goiás onde concluí minha graduação e tive a oportunidade de cursar a pós-graduação em Ciência Animal, bem como por toda a estrutura disponibilizada para realização do estudo experimental.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), que auxiliou no custeio do experimento por meio da bolsa concedida.

À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pelo apoio financeiro oferecido para execução do projeto por meio dos Editais 05/2012 e 12/2012.

“É justamente a possibilidade de realizar um sonho, o que faz a vida interessante...”

Paulo Coelho. O Alquimista.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE QUADROS	xiv
LISTA DE TABELAS	xv
LISTA DE ABREVIATURAS	xvii
RESUMO DA DISSERTAÇÃO	xix
ABSTRACT	xx
CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
1. Aspectos epidemiológicos da hipertensão arterial sistêmica	1
2. Hipertensão arterial sistêmica nos cães	2
3. Tratamento da hipertensão arterial sistêmica em cães	5
4. Protótipo a fármaco LASSBio 897	8
5. Ensaio para validação de medicamentos	11
6. Avaliações do sistema cardiovascular	14
7. Avaliações laboratoriais para lesão hepática e função renal	16
8. Objetivo geral	18
REFERÊNCIAS	19
CAPÍTULO 2. AÇÃO DE UM NOVO PROTÓTIPO DE FÁRMACO VASODILATADOR (LASSBio 897) SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE CÃES HÍGIDOS	27
RESUMO	27
ABSTRACT	28
1. INTRODUÇÃO	28
2. MATERIAL E MÉTODOS	30
2.1. Local de experimentação	30
2.2. Animais para experimentação	30
2.3. Administração do LASSBio 897	31
2.4. Avaliações da pressão arterial	31
2.5. Avaliações eletrocardiográficas	32
2.6. Avaliações ecodopplercardiográficas	34
2.7. Análise estatística	36
3. RESULTADOS	36
3.1. Avaliações da pressão arterial	36
3.2. Avaliações eletrocardiográficas	39
3.3. Avaliações ecodopplercardiográficas	44
4. DISCUSSÃO	54

5. CONCLUSÕES.....	60
REFERÊNCIAS	61
CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO LABORATORIAL HEPÁTICA E RENAL DE CÃES DA RAÇA BEAGLE APÓS ADMINISTRAÇÃO VIA ORAL DO PROTÓTIPO A FÁRMACO VASODILATADOR LASSBio 897.....	65
RESUMO	65
ABSTRACT	66
1. INTRODUÇÃO.....	66
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	67
2.1. Local de experimentação	67
2.2. Animais para experimentação.....	68
2.3. Administração do LASSBio 897	68
2.4. Avaliação laboratorial para lesão hepática e renal	69
2.5. Análise estatística	71
3. RESULTADOS	72
4. DISCUSSÃO.....	76
5. CONCLUSÕES.....	78
REFERÊNCIAS	79
CAPÍTULO 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82
ANEXOS.....	83

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- FIGURA 1 Algoritmo para avaliação do paciente com suspeita de HAS baseada em mensurações confiáveis de pressão arterial5
- FIGURA 2 Estrutura química do protótipo LASSBio 897, demonstrando a modificação estrutural a partir do LASSBio 294 e a porção produzida a partir do safrol.....9

CAPÍTULO 2

- FIGURA 1 Cães beagle em decúbito lateral direito durante mensuração de pressão arterial não-invasiva A) com aparelho doppler vascular; B) com o dispositivo oscilométrico PetMap®32
- FIGURA 2 A) Aparelho de eletrocardiografia computadorizada TEB, mostrando o traçado eletrocardiográfico na tela do computador. B) Cadela beagle em decúbito lateral direito, durante exame de eletrocardiografia ambulatorial.....33
- FIGURA 3 Cadelas beagle sendo preparadas para monitoração eletrocardiográfica dinâmica (sistema Holter).....34
- FIGURA 4 A) Aparelho de ecodopplercardiografia (My Lab30Vet) e transdutor multifrequencial de 5,0/7,5 MHz do Laboratório de Cardiologia EVZ/UFG. B) Cadela beagle em decúbito lateral direito com transdutor posicionado na janela paraesternal direita.....35
- FIGURA 5 A) Traçado eletrocardiográfico de cadela beagle mostrando arritmia sinusal respiratória e B) arritmia sinusal respiratória com presença de *sinus arrest* (seta).....42
- FIGURA 6 Imagens ecodopplercardiográficas bidimensionais na parte superior e imagens em modo M na parte inferior das figuras, obtidas pela janela paraesternal direita, de cães beagle. A) corte longitudinal, mostrando aorta (Ao) e átrio esquerdo (AE); B) eixo transversal, nível da valva aórtica; C) eixo transversal, nível cordal, mostrando ventrículo direito (1), septo interventricular (2), ventrículo esquerdo (3) e parede livre do ventrículo esquerdo (4); D) eixo transversal, nível da valva mitral, mostrando septo interventricular (1) e ponto E da mitral (2).....45

FIGURA 7 Imagens ecodopplercardiográficas em modo doppler, de cães da raça beagle. A) Fluxo pulmonar, observado pela janela paraesternal direita, eixo transfersal; B) Fluxo mitral, observado pela janela paraesternal esquerda, apical; C) Fluxo aórtico, observado pela janela paraesternal esquerda apical; D) Fluxo tricúspide, observado pela janela paraesternal esquerda apical.....46

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 1

- QUADRO 1 Valores de pressão arterial para cães saudáveis.....2
- QUADRO 2 Fármacos, doses e via de administração utilizados no tratamento da hipertensão arterial sistêmica (HAS) em cães.....8

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- TABELA 1 Médias de pressão arterial sistólica (PAS) obtidas pelo método doppler vascular de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.....37
- TABELA 2 Médias de pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) obtidas pelo dispositivo oscilométrico PetMap® de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.....38
- TABELA 3 Valores médios dos parâmetros eletrocardiográficos obtidos por meio de ECG ambulatorial de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.....39
- TABELA 4 Análise das variáveis obtidas por meio de ECG 24 horas (Sistema Holter) de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG - Goiânia, 2013.....44
- TABELA 5 Valores médios dos parâmetros ecodopplercardiográficos, em modo M de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.....47
- TABELA 6 Valores médios dos parâmetros ecodopplercardiográficos, em modo doppler de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.....50

CAPÍTULO 3

- TABELA 1 Médias da avaliação hematológica (eritrograma) de cães da raça beagle submetidos a três doses únicas por via oral, de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma dose de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.....72

TABELA 2	Médias da avaliação hematológica (leucograma) de cães da raça beagle submetidos a três doses únicas por via oral, de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma dose de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.....	73
TABELA 3	Médias da avaliação bioquímica sérica das enzimas ALT, AST, GGT e ALP e das concentrações de Uréia, Creatinina, Sódio e Potássio em cães da raça beagle submetidos a três doses únicas por via oral, de LASSBio897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.....	74
TABELA 4	Médias dos parâmetros urinários densidade, pH, relação PU/CU, GGT, EF de sódio e potássio em cães da raça beagle submetidos a três doses únicas por via oral, de LASSBio897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

AE	Átrio esquerdo
AE/Ao	Relação entre o átrio esquerdo e a aorta
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina aminotransferase
Ao	Aorta
AST	Aspartato aminotransferase
Bpm	Batimentos por minuto
DC	Débito cardíaco
DVDd	Diâmetro do ventrículo direito em diástole
DIVEd	Diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole
DIVEs	Diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole
E/Am	Relação entre a onda E e A mitral
E/At	Relação entre a onda E e A tricúspide
EF	Excreção fracional
FC	Frequência cardíaca
FE	Fração de ejeção
FS	Fração de encurtamento
GGT	Gama glutamil transferase
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
IECA	Inibidores da enzima conversora de angiotensina
LASSBio	Laboratório de Avaliação de Substâncias Bioativas
Ms	Milisegundos
mV	Milivolts
NO	Óxido nítrico
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PLVEd	Parede livre do ventrículo esquerdo em diástole
PLVEs	Parede livre do ventrículo esquerdo em sístole
PU/CU	Relação proteína urinária/ creatinina urinária
PVAM	Pico de velocidade da onda A mitral

PVAT	Pico de velocidade da onda A tricúspide
PVEM	Pico de velocidade da onda E mitral
PVET	Pico de velocidade da onda E tricúspide
PVFA	Pico de velocidade do fluxo aórtico
PVFP	Pico de velocidade do fluxo pulmonar
RVP	Resistência vascular periférica
SIVd	Septo interventricular em diástole
SIVs	Septo interventricular em sístole
SSPE	Separação septal do ponto E da mitral
VD	Ventrículo direito
VE	Ventrículo esquerdo
VMFA	Velocidade média do fluxo aórtico
VMFM	Velocidade média do fluxo mitral
VMFP	Velocidade média do fluxo pulmonar
VMFT	Velocidade média do fluxo tricúspide
VS	Volume sistólico

RESUMO DA DISSERTAÇÃO

Em cães, assim como nos humanos, a hipertensão arterial é caracterizada por uma elevação excessiva da pressão arterial sistêmica e pode produzir lesões renais, oculares, neurológicas e cardíacas. Atualmente, existem cinco classes de agentes anti-hipertensivos que são utilizados para o tratamento. Um protótipo a fármaco (LASSBio 897) capaz de promover efeitos vasodilatadores foi desenvolvido, tornando-se um possível candidato a uma nova estratégia terapêutica. O objetivo principal foi verificar o efeito vasodilatador, bem como identificar possíveis alterações clínicas, cardiovasculares, renais e hepáticas. Foram utilizados seis cães da raça beagle, adultos, clinicamente saudáveis, que receberam, por via oral, doses de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg do LASSBio 897 e 0,5mg/kg de benazepril, como controle positivo. Foram submetidos à avaliações da função hepática e renal, exames ecodopplercardiográficos, eletrocardiográficos e mensuração da pressão arterial. Não foram observadas alterações clínicas que sugerissem toxicidade aguda e todos os parâmetros mensurados contemplavam valores normais para a espécie canina. Os valores de pressão arterial foram diminuindo gradativamente até o tempo de 120 minutos, quando se observou seu menor valor (120,58mmHg), nas três doses estudadas, semelhante ao observado com o benazepril. Não foram observadas hipotensão ou arritmias. No ecodopplercardiograma os valores de volume sistólico e débito cardíaco foram menores do que os descritos como normais para a espécie, com médias que foram diminuindo até o tempo de 240 minutos. Concluindo, a administração oral do protótipo a fármaco LASSBio 897 nas doses únicas utilizadas produz vasodilatação e é segura, pois não foram observadas alterações importantes nas avaliações hematológicas, bioquímicas renais e hepáticas, bem como da avaliação urinária. O protótipo não causou efeitos adversos, hipotensão ou anomalias do ritmo cardíaco.

Palavras-chave: cão, vasodilatador, eletrocardiograma, ecodopplercardiograma

ABSTRACT

In dogs, as in humans, arterial hypertension is characterized by an excessive increase of systemic blood pressure which can cause renal, ocular, neurological and cardiac lesions. Currently, five classes of antihypertensive agents are commonly used. A drug prototype (LASSBio 897) capable of promoting vasodilation effects was developed and became a possible alternative for new therapeutic strategy. The main goal of this study was to investigate its vasodilatory effect, as well as to identify possible changes in clinical, cardiovascular, renal and hepatic functions. Six adult and healthy beagle dog were used. They received oral doses of 0.5mg/kg, 1.0mg/kg and 2.0mg/kg of LASSBio 897 and 0.5mg/kg of benazepril, as a positive control. Assessments of liver and kidney function, doppler echocardiographic and electrocardiographic examinations and blood pressure measurements, were performed. No clinical changes suggesting acute toxicity were observed and all measured parameters were within the normal values for canine species. Blood pressure values decreased gradually until time of 120min, in which its lowest value was observed (120.58mmHg), among the three studied doses, similar to that observed with benazepril. No hypotension or arrhythmias were observed. In echocardiography, values of stroke volume and cardiac output were lower than those described as normal for the species, with averages that decreased until time of 240min. In conclusion the oral administration of the prototype LASSBio 897, in single doses, causes vasodilation and is safe since no significant changes in haematological, renal and hepatic biochemical evaluations were observed, as well as in urinary review. The prototype does not cause side effects, hypotension or abnormal heart rhythms.

Key-words: dog, vasodilatory, electrocardiography, echocardiography

CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Aspectos epidemiológicos da hipertensão arterial sistêmica

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial (PA). Frequentemente está associada a alterações funcionais e/ou estruturais de órgãos alvo (olhos, coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos) e a alterações metabólicas, gerando conseqüentemente aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não fatais (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010).

A HAS é uma doença crônica altamente prevalente em humanos e gera um elevado custo econômico-social, principalmente em decorrência das suas complicações e com grande impacto na morbimortalidade da população brasileira e do mundo (WOLFF & MILLER, 2007).

Estima-se que exista cerca de um bilhão de indivíduos hipertensos no mundo, sendo a HAS responsável por aproximadamente 7,1 milhões de óbitos por ano (CORRÊA et al., 2005). Entre os norte-americanos acima de 18 anos a prevalência da HAS é de 28,6%, dados obtidos em levantamento realizado nos anos de 2009 e 2010. Sendo que, 6,8% com idade entre 18-39 anos, 30,4% para aqueles com idade entre 40-59 anos e 66,7% para aqueles com 60 anos ou mais (YOON et al., 2012). Em uma revisão sistemática quantitativa, realizada entre os anos de 2003 a 2008 utilizando dados de 35 países, observou-se prevalência de 36,5% em homens e 31,7% em mulheres (PEREIRA et al., 2009).

Nos países em desenvolvimento, o crescimento da população idosa e o aumento da longevidade, associados a mudanças nos padrões alimentares e no estilo de vida, têm tido forte repercussão sobre o padrão de morbimortalidade da HAS. A prevalência da hipertensão arterial no Brasil, estimada por pesquisas realizadas em algumas cidades do país, demonstraram uma variação de 22,3% a 43,9% de indivíduos hipertensos. Pode-se estimar assim, que uma a duas pessoas, entre cinco, é hipertensa. Além disso, a proporção de óbitos por doença

cardiovascular ligada a hipertensão no Brasil no ano de 2007 foi de 29,4% (PASSOS et al., 2006).

A relação entre a HAS e risco de doença cardiovascular tem sido um evento contínuo, consistente e independente de outros fatores de risco. Além disso, trata-se de um importante fator de risco para doenças de etiologia multifatorial (SUDO et al., 2010) correspondendo a 40% das causas de acidentes vasculares cerebrais (WINTER et al., 2013).

2. Hipertensão arterial sistêmica nos cães

Em cães, assim como nos humanos, a HAS é sinônimo de aumento sustentado da PA. Vários estudos têm relatado valores de PA para esta espécie (Quadro 1). Os valores considerados normais podem variar, refletindo diferenças entre populações, técnicas de mensuração e manipulação dos animais (BROWN et al., 2007).

QUADRO 1- Valores de pressão arterial para cães saudáveis.

Método	Autores	N	Valores		
			PAS	PAD	PAM
Doppler vascular	REMILLARD et al., 1991	5	150±16	-	-
	STEPIEN & RAPOPORT, 1999	28	151±27	-	-
	CABRAL et al., 2010	15	145±20	111,4±20	-
	SOARES et al., 2012	23	154,7±24	-	-
Oscilométrico	STEPIEN & RAPOPORT, 1999	28	150±20	108±15	-
	RATTEZ et al., 2010 (PetMap®)	5	165±18	94±11	-
	CABRAL et al., 2010	15	139,1±19	88,3±13	-
	TEBALDI et al., 2012 (PetMap®)	150	162±30	90,6±20	115,7±24
	FONTOURA et al., 2013	23	145±14	107,1±22	-

Onde: N: número de animais; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PAM: pressão arterial média.

A HAS é geralmente categorizada em três tipos de condições. Pode ser causada por artefato na mensuração (estresse e/ou ansiedade), ocorrer em associação com outros processos patológicos que podem elevar a PA (hipertensão secundária) ou ocorrer na ausência de outros processos patológicos potencialmente causadores de hipertensão (hipertensão idiopática) (BROWN et

al., 2007). TEBALDI et al. (2012) afirmaram que a HAS em 80% dos casos é secundária a outras doenças. Está comumente associada a quadros clínicos como doença renal crônica com insuficiência deste órgão (60-90%), hiperadrenocorticismo (70-80%), *diabetes mellitus* e cardiopatias. Outras enfermidades menos comuns associadas incluem feocromocitoma, acromegalia, hiperaldosteronismo primário e uso de medicamentos hipertensivos (STEPIEN, 2002). TEBALDI et al. (2012) relatam ainda que a hipertensão idiopática é rara na clínica de pequenos animais.

Assim como em humanos, situações de estresse e ansiedade no momento da mensuração podem elevar os valores de PA. Na medicina humana essa alteração é denominada “efeito do jaleco branco”. SOARES et al. (2012) observaram que a média da pressão arterial sistólica (PAS) obtida no hospital veterinário é significativamente maior do que a mensurada em casa, bem como os valores de frequência cardíaca (FC) e concentrações séricas de cortisol, confirmando que condições ambientais influenciam nos valores da PA em cães.

A PAS depende da relação entre o débito cardíaco (DC) e a resistência vascular periférica (RVP) e, portanto, pode ser elevada por doenças que aumentam o DC ou por aquelas que aumentam a RVP (JEPSON & SYME, 2010). Em condições normais a PAS é mantida em um intervalo de limites estreitos pela ação do sistema nervoso autônomo (SNA) (via barorreceptores arteriais) e de diversos sistemas hormonais (sistema renina - angiotensina - aldosterona - SRAA, vasopressinas - hormônio antidiurético e peptídeos natriuréticos), pela regulação do volume sanguíneo pelo rim entre outros fatores (MUCHA & CAMACHO, 2003). Na maioria dos tecidos a pressão capilar é regulada pela vasoconstrição das arteríolas que suprem os capilares. Na HAS crônica esse estímulo de vasoconstrição arteriolar é contínuo, o que promove hipertrofia medial e outras alterações de remodelamento vascular, que podem aumentar ainda mais a RVP. Essas alterações estruturais podem causar hipóxia capilar, dano tecidual, hemorragia e infarto em vários órgãos, culminando em disfunções orgânicas variáveis (WARE, 2010).

A HAS crônica traz, portanto, uma série de complicações, uma vez que o aumento sustentado da PA pode promover danos aos diversos tecidos do organismo. Esses danos são comumente chamados de lesões em órgãos alvo.

As lesões mais observadas são as renais, oculares, neurológicas e cardíacas (MICHINA et al., 1999; BROWN et al., 2007; CABRAL et al., 2010).

Nos rins, a lesão por hipertensão é geralmente manifestada por diminuição da função renal, perda precoce de néfrons e proteinúria (BROWN et al., 2007). Em estudo experimental com cães, realizado por FINCO (2004), foi possível observar uma associação entre o aumento da PA e a lesão renal, relacionando a PA a alterações da taxa de filtração glomerular, proteinúria e dosagem de creatinina.

As lesões oculares também são comumente observadas em cães hipertensos, sendo denominadas retinopatias hipertensivas ou coroidopatias. O achado mais frequentemente observado é o descolamento de retina exsudativo. Outras lesões incluem hemorragia retiniana, edema multifocal de retina, tortuosidade vascular, edema perivascular, papiledema, hemorragia vítrea, hifema, glaucoma secundário e degeneração da retina (sequela tardia) (WARE, 2006; BROWN et al., 2007). Na ausência de qualquer alteração que sugira doença sistêmica é possível que alterações oculares como descolamento de retina e hemorragia sejam resultado apenas da HAS (SANSOM & BODEY, 1997).

A encefalopatia hipertensiva também tem sido relatada em cães hipertensos. É caracterizada por edema na substância branca e lesões vasculares. Os sinais clínicos observados são típicos de doença intracraniana e inclui início agudo de letargia, convulsões, alterações comportamentais, desorientação, desequilíbrio, distúrbios vestibulares, além de distúrbios neurológicos focais associados à isquemia. As anormalidades ligadas ao sistema nervoso central, incluindo hemorragia e infarto, que acompanham a hipertensão crônica em pessoas, também são observadas em cães e gatos (WARE, 2010).

Alterações cardíacas por hipertensão em cães incluem sopros sistólicos, ritmos de galope e hipertrofia ventricular esquerda. A insuficiência cardíaca e outras formas graves de complicações são raras, mas podem ocorrer (JEPSON & SYME, 2010). Em um estudo prospectivo realizado por CORTADELLAS et al. (2006) para determinar a prevalência de HAS em cães com doença glomerular secundária à leishmaniose observou-se que a hipertrofia ventricular esquerda foi a consequência sistêmica mais frequente da HAS, estando presente 91,4% dos cães hipertensos.

3. Tratamento da hipertensão arterial sistêmica em cães

O tratamento da HAS deve ser iniciado com uma avaliação minuciosa e completa do paciente. Os objetivos desta avaliação vão incluir o reconhecimento de condições que possam estar contribuindo para o aumento da PA, identificação e caracterização de lesões em órgãos alvo e determinação de condições simultâneas coexistentes aparentemente não relacionadas, mas que podem complicar a terapia anti-hipertensiva (Figura 1). Doenças que levam a hipertensão secundária devem ser identificadas e tratadas, monitorando sempre a PA. Em geral, o tratamento da HAS não é emergencial, com exceção de casos de hipertensão avançada, coroidopatia ou encefalopatia hipertensiva, uma vez que uma mensuração elevada pode representar hipertensão idiopática, secundária ou ainda ligada apenas ao estresse (efeito do jaleco branco) (BROWN et al, 2007). No esquema da Figura 1 são ilustrados os passos a serem seguidos nessa avaliação.

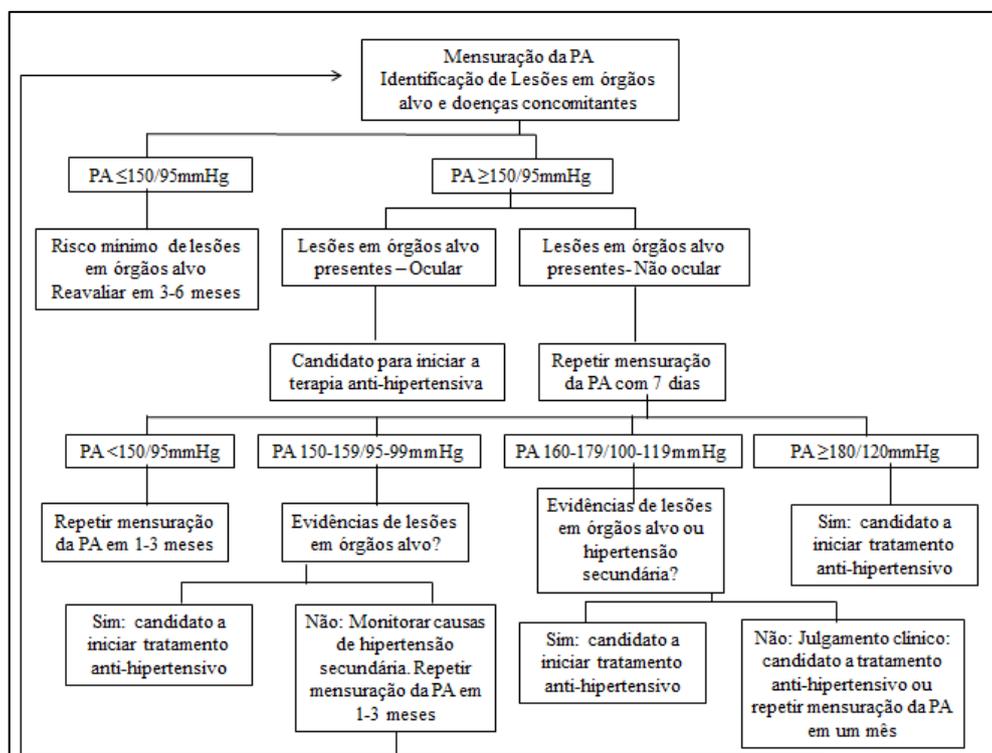


FIGURA 1 – Algoritmo para avaliação do paciente com suspeita de HAS baseada em mensurações confiáveis de pressão arterial.

Fonte: Adaptado de BROWN et al., 2007.

O tratamento com agentes anti-hipertensivos deve ser iniciado com a menor dose terapêutica. Se o fármaco inicial falhar, pode-se aumentar a dose deste agente ou adicionar outro fármaco, com o objetivo de reduzir a PAS a valores menores que 160mmHg (JEPSON & SYME, 2010). WARE (2006) recomenda administrar um fármaco de cada vez e monitorar o animal, o que pode levar duas semanas ou mais (WARE, 2007).

Cinco principais classes de agentes anti-hipertensivos são utilizadas para o tratamento, sozinhos ou em associação. São os inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECAs), bloqueadores dos canais de cálcio, diuréticos, β -bloqueadores e bloqueadores α -adrenérgicos. A redução da PA alcançada com a maioria desses medicamentos é direta ou indiretamente relacionada ao relaxamento do músculo liso vascular (SUDO et al., 2010).

Nos cães, geralmente, recomenda-se iniciar o tratamento com os IECAs (JEPSON & SYME, 2010), contudo o uso destes fármacos é particularmente eficiente em casos de hipertensão moderada, enquanto que em pacientes com hipertensão grave, seu uso deve ser associado a outro agente anti-hipertensivo. Esta classe de fármacos promove a diminuição da PA por meio da redução dos efeitos vasoconstritores provocados pela angiotensina II e diminuem a retenção de sódio e água ao inibirem secundariamente a liberação de aldosterona (TÁRRAGA, 2006). Os fármacos mais utilizados dentro desta classe de vasodilatadores são o captopril, enalapril e o benazepril. Dentre estes, o benazepril apresenta algumas vantagens (maior tempo de atuação, administração uma vez por dia e excreção via biotransformação hepática) e por isso tem sido o de primeira escolha (GORDON & KITTLESON, 2010). Em pacientes com alterações renais sua utilização se torna ainda mais vantajosa, pois além da metabolização via hepática, a vasodilatação induzida por ele resulta em redução da pressão glomerular (TÁRRAGA, 2006).

Os bloqueadores dos canais de cálcio promovem a diminuição da PA por meio da supressão do influxo de cálcio no músculo liso vascular, desse modo promovem vasodilatação nos leitos arteriais coronários e periféricos (ADAMS, 2003). O fármaco desta classe mais utilizado em medicina veterinária é o besilato de amlodipina. Este fármaco é capaz de promover efeitos vasodilatadores nos

cães, como observado no estudo realizado ISHIDA et al. (2003), contudo não é tão estudado nesta espécie quando comparado aos gatos (TISSIER et al., 2005).

Os diuréticos são fármacos com o objetivo terapêutico de promover excreção aumentada de sódio e água, e por isso podem auxiliar na redução do volume de sangue e do DC, com conseqüente redução da PA (LITTMAN, 1997). A furosemida, hidroclorotiazida e a espironolactona são exemplos de diuréticos utilizados em cães (GORDON & KITTLESON, 2010). No entanto, quando utilizados como terapia única, ao contrário do que se observa em humanos, raramente são eficazes no tratamento de cães hipertensos (WARE, 2007).

Os fármacos β -bloqueadores podem atuar diminuindo a PA devido à redução da frequência cardíaca (FC), DC e da liberação renal de renina segundo LITTMAN (1997). Os β -bloqueadores são divididos em seletivos (atenolol) e não seletivos (propranolol) (GORDON & KITTLESON, 2010). Estes fármacos não costumam ser utilizados como monoterapia na HAS em cães, porém podem auxiliar no controle dos casos de hipertensão não-responsiva que requerem “terapia tripla” para controle, servindo como fármaco adicional ao besilato de amlodipina e a um IECA (WARE, 2007).

Os bloqueadores α 1-adrenérgicos promovem a dilatação de arteríolas e veias em oposição aos efeitos vasoconstritores de receptores adrenérgicos, dessa forma diminuem a RVP e a PA (WARE, 2006). A prazosina é o fármaco pertencente a esta classe que pode ser utilizado na hipertensão sistêmica de cães (VIANA et al., 2006). Segundo BROWN et al. (2007) este fármaco deve ser considerado especialmente no tratamento de hipertensão induzida por feocromocitoma em cães.

A terapia de emergência da HAS deve em ser instituída nos casos em que estão presentes sinais clínicos graves (STEPIEN, 2002). Nestes casos, os fármacos vasodilatadores utilizados devem ser os de ação rápida e de ação direta (BROWN et al., 2007). Entretanto, a hospitalização torna-se essencial, já que a monitorização da PA deve ser feita frequentemente enquanto esses fármacos estiverem sendo utilizados (JEPSON & SYME, 2010). Os fármacos mais utilizados na emergência são hidralazina e nitroprussiato de sódio (WARE, 2007).

A hidralazina relaxa diretamente a musculatura lisa nas arteríolas sistêmicas por meio do aumento de prostaciclina, diminuindo a RVP nos leitos

vasculares renais, coronário, cerebral e mesentérico. Já o nitroprussiato é um potente vasodilatador venoso e arteriolar mediado pela liberação de óxido nítrico (NO) (GORDON & KITTLESON, 2010). Outra possibilidade é a administração da acepromazina por via intravenosa, contudo possui efeitos mais duradouros, dificultando o controle da PA e aumentando o risco de sedação e hipotensão em doses elevadas (STEPIEN, 2002).

No Quadro 2 são mostrados os principais fármacos utilizados no tratamento da HAS, com as respectivas doses preconizadas para cães.

QUADRO 2 - Fármacos, doses e via de administração utilizados no tratamento da hipertensão arterial sistêmica (HAS) em cães.

FÁRMACOS	DOSE PARA CÃES
Diuréticos	
Furosemida	1-3mg/kg a cada 8-24h, VO
Hidroclorotiazida	2-4mg/kg a cada 12h, VO
Espironolactona	2mg/kg a cada 12h, VO
β-bloqueadores	
Atenolol	0,2-1,0mg/kg a cada 12-24h, VO
Propranolol	0,1-1,0mg/kg a cada 8h, VO
IECA	
Enalapril	0,5mg/kg a cada 12-24h, VO
Benazepril	0,25-0,5mg/kg a cada 24h, VO
Bloqueador dos canais de cálcio	
Besilato de amlodipina	0,1-0,3mg/kg a cada 12-24h, VO
Bloqueador α1-adrenérgico	
Prazosina	Cão grande porte: 1,0mg a cada 8-12h, VO
Agentes utilizados na emergência hipertensiva	
Hidralazina	0,5-2,0mg/kg a cada 12h, VO
Nitroprussiato de sódio	0,5-1,0 μ g/kg/min inicial até 5-15 μ g/kg/min, EV
Acepromazina	0,05-0,1mg/kg, EV

Fonte: Adaptado de WARE (2006).

4. Protótipo a fármaco LASSBio 897

O LASSBio 897 (3-tienilideno 3,4-metilenodioxibenzoilhidrazina) (Figura 2) derivado *N*-acilidrazônico (NAH), foi desenvolvido a partir da modificação estrutural (substituição de um anel 2-tienil por um anel 3-tienil) na estrutura de um protótipo anteriormente pesquisado (LASSBio 294: 2-tienilideno 3,4-metilenodioxibenzoilhidrazina) capaz de promover efeitos vasodilatadores e

inotrópicos positivos combinados. Esse protótipo, assim como o anterior, foi desenvolvido pelo Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio) e produzido a partir do safrol, um composto extraído do óleo de sassafrás, encontrado em plantas brasileiras como a canela-branca (*Ocotea pretiosa*) (SUDO et al., 2010).

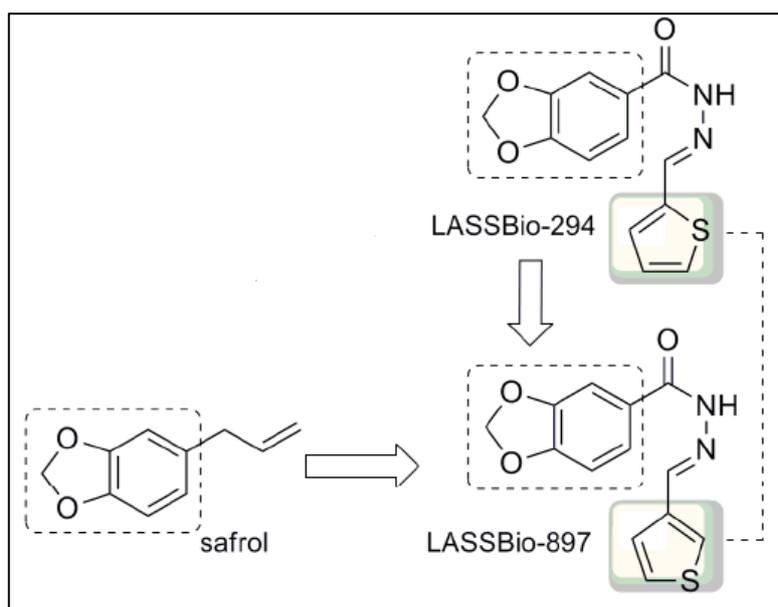


FIGURA 2 - Estrutura química do protótipo LASSBio 897, demonstrando a modificação estrutural a partir do LASSBio 294 e a porção produzida a partir do safrol.

Fonte: Adaptado de KUMMERLE et al., 2009.

Em estudos desenvolvidos por SUDO et al. (2010) o LASSBio 897 foi capaz de promover relaxamento completo da aorta de ratos normotensos com potência 200 vezes maior do que o composto principal (LASSBio 294), além disso, reduziu acentuadamente a PA de ratos após a administração de 1mg/kg por via intravenosa e também foi eficaz por via oral em 1mg/kg por dia durante 14 dias, demonstrando assim seu potencial como um novo candidato a fármaco vasodilatador para o tratamento da HAS.

As pesquisas *in vitro* indicam que a vasodilatação induzida pelo LASSBio 897 é endotélio-dependente e mediada pela ativação da via óxido nítrico/monofosfato cíclico de guanosina (NO/GMPc). O endotélio é o principal regulador da homeostase vascular através da síntese e liberação de vários

fatores, em resposta aos hormônios circulantes, autacóides, citocinas e fármacos, bem como a estímulos físicos e químicos. O NO é uma das mais importantes substâncias vasodilatadoras liberadas pelo endotélio e produz vasodilatação por meio da ativação da guanilatociclase (GMP) e o consequente aumento nos níveis intracelulares de GMPc. Este nucleotídeo cíclico medeia o relaxamento vascular pela ativação da proteína quinase G, reduzindo a sensibilidade dos elementos contráteis para íons cálcio (Ca^{2+}), inibindo o influxo de Ca^{2+} e ativando canais de potássio (K^+), levando à hiperpolarização da membrana. A acetilcolina (ACh) exige a presença de células endoteliais para provocar relaxamento do músculo liso vascular, que é principalmente mediada pela liberação de NO. Tal vasodilatação, induzida pela ACh da aorta de ratos, deve-se principalmente aos receptores muscarínicos (M3) endoteliais, cuja ativação leva a um aumento de Ca^{2+} intracelular e ativação da NO sintase. Estudos utilizando a atropina mostraram que ela reduz significativamente a vasodilatação induzida pelo LASSBio 897, indicando que este composto também pode agir como agonista muscarínico de receptores M3 presentes nas células endoteliais (SUDO et al., 2010). Portanto, os resultados *in vitro* indicaram que este efeito anti-hipertensivo é mediado por receptores muscarínicos e consequente ativação da via NO/GMPc (KUMMERLE et al., 2009).

Segundo SUDO et al. (2010) durante o tratamento agudo ou a longo prazo com o LASSBio 897, os animais não mostraram qualquer alteração no comportamento ou sinais de toxicidade, tais como movimentos involuntários, piloereção, depressão respiratória ou sedação. Agonistas de receptores muscarínicos são normalmente de longa ação congêneres da ACh ou alcalóides naturais que exibem seletividade pequena para o vários subtipos de receptores muscarínicos (M1, M2 e M3). Seu uso clínico é, portanto, limitado devido à falta de seletividade e por promover efeitos colaterais indesejáveis. Existe a hipótese de que o LASSBio 897 seja um agonista seletivo M3 e, conseqüentemente, promova menos efeitos adversos.

5. Ensaio para validação de medicamentos

O processo de pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos está intimamente relacionado à química medicinal e envolve a invenção, descoberta, planejamento, identificação, preparação e a interpretação do mecanismo de ação molecular de compostos biologicamente ativos (GUIDO et al., 2010).

As moléculas candidatas a fármacos são descobertas, em sua maioria, por meio de identificação e elucidação de um alvo para o composto a ser desenvolvido; planejamento racional do fármaco, com base no conhecimento dos mecanismos biológicos, estrutura dos receptores e estrutura própria; modificações químicas de uma molécula conhecida; triagem de grande número de produtos naturais à procura de atividade biológica, bancos de entidades químicas previamente descobertas e grandes bancos de peptídios, ácidos nucleicos e outras moléculas orgânicas; e por meio de biotecnologia e clonagem (BERKOWITZ, 2006).

Uma vez descoberto o composto protótipo, a etapa seguinte é a sua otimização. Nesta etapa são identificadas as distintas contribuições farmacofóricas de todas as subunidades estruturais, de maneira a nortear sua otimização estrutural, visando potencializar sua estrutura. Ao atingir este estágio do processo tem-se uma entidade molecular, o que é significativamente relevante para a elaboração de pedidos de proteção intelectual desta descoberta (BARREIRO & FRAGA, 2005; BARREIRO, 2009).

Independentemente da origem ou da ideia-chave que leva a uma molécula candidata a fármaco, os testes efetuados devem envolver uma sequência de experimentos e caracterização, denominada triagem de protótipos. São utilizados diversos ensaios biológicos em nível molecular, celular, orgânico e com animais para definir a atividade e a seletividade do futuro candidato a fármaco. Em geral, a molécula também será estudada à procura de uma ampla variedade de outras ações, a fim de estabelecer o seu mecanismo de ação e seletividade. Isso tem a vantagem de demonstrar efeitos tóxicos inesperados e, em certas ocasiões, revelar uma ação terapêutica não prevista anteriormente (BARREIRO, 2002).

Os candidatos a fármacos que passam com sucesso pela triagem e estabelecimento do perfil farmacológico devem ser cuidadosamente avaliados por meio de testes pré-clínicos (BERKOWITZ, 2006).

Os estudos pré-clínicos têm como objetivo a avaliação farmacológica em sistemas *in vitro* e em animais (*in vivo*) para a obtenção do maior conhecimento possível acerca das propriedades e dos efeitos adversos e ao mesmo tempo, são testados quanto à farmacocinética e toxicologia (FERREIRA et al., 2009).

As exigências para a realização das pesquisas pré-clínicas são determinadas pelo Conselho Nacional de Saúde. Os estudos devem ser planejados de maneira a obter o máximo de informações, utilizando-se o menor número possível de animais; todos os animais utilizados devem ser criados em biotérios de boa qualidade; os estudos devem ser realizados em três espécies de mamíferos, pelo menos uma de não roedor; os animais devem pertencer a linhagens bem definidas; deve-se utilizar igual número de machos e fêmeas; para os estudos agudos deve-se utilizar pelo menos duas vias de administração; a investigação toxicológica deve incluir estudos de toxicidade aguda (dentro de 24 horas), toxicidade de doses repetidas (dentro de 14 dias), toxicidade subcrônica (mínimo de 30 dias) e toxicidade crônica (mínimo de 90 dias) (CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE, 1988).

Após realização dos estudos pré-clínicos são realizados os estudos clínicos, última fase no processo de pesquisa e desenvolvimento, que correspondem à pesquisa conduzida em pacientes ou em voluntários sadios (LIMA et al., 2003).

Os estudos clínicos são divididos em quatro fases distintas. A fase I da pesquisa clínica visa avaliar a tolerância em seres humanos e determinar a posologia segura. Inicia-se com a administração de uma pequena dose de um agente experimental a poucos voluntários, três ou mais indivíduos, podendo chegar até 80 (FERREIRA et al., 2009). O objetivo é o estabelecimento de parâmetros farmacocinéticos, de dose única e/ou múltiplos e, em especial, a biodisponibilidade absoluta da forma farmacêutica, de modo a estabelecer a dose e regime posológico. Simultaneamente, uma avaliação da segurança da substância é feita (BRICK et al., 2008).

A fase II visa estudar a eficiência terapêutica, intervalo de dose, cinética e metabolismo. Um pequeno número de indivíduos com atenção específica é selecionado (BRICK et al., 2008). As doses estabelecidas nos estudos Fase I são utilizadas para orientar justificativas dos protocolos dos estudos de Fase II. Esses estudos podem envolver de 100 a 300 pacientes (ou mais), subdivididos em IIa e IIb (FERREIRA et al., 2009). O estudo IIa é realizado em população selecionada de pacientes e os estudos IIb nos pacientes com a doença a ser tratada, diagnosticada ou prevenida. Em geral, correspondem a uma demonstração de eficácia sob condições experimentais mais rigorosas, envolvendo um grupo controle comparativo (LIMA et al., 2003).

A fase III destina-se a testar a eficácia e segurança por meio de um grande número de amostras (BRICK et al., 2008), consistem do aumento da amostragem e diversificação da gama de pessoas nos testes. Nesta fase são incluídos tratamentos mais prolongados com o composto, cerca de seis a 12 meses, visando a flexibilidade na dosagem (PIMENTEL et al., 2006). O medicamento em estudo é administrado a uma população de pacientes muito próxima daquela a que se destina após a sua comercialização. São usados grupos-controle que têm placebo como controle negativo (LIMA et al., 2003).

A fase IV, assim como a fase III, destina-se a testar a eficácia e segurança por meio de um grande número de amostras (BRICK et al., 2008). Depois de comercializado, o medicamento continua a ser estudado. Esses estudos também são chamados de farmacovigilância (LIMA et al., 2003). A fase IV é de responsabilidade do órgão regulamentador (PIMENTEL et al., 2006) e é o estudo do uso do fármaco na prática médica. Esta vigilância após a comercialização, que ocorre após a aprovação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é necessária para fornecer *feedback* do uso em grande escala do fármaco. Nessa fase, podem ser descobertos novos efeitos terapêuticos ou tóxicos, incluindo efeitos a longo prazo ou raros que não eram discerníveis em pequeno grupo de indivíduos (SEVALHO, 2001).

6. Avaliações do sistema cardiovascular

O diagnóstico das alterações cardiovasculares em cães depende da realização de exame físico e da utilização de recursos diagnósticos. Os exames complementares mais importantes são a eletrocardiografia, a ecocardiografia e a mensuração da pressão arterial (OHARA, 2003).

O eletrocardiograma (ECG) é o registro gráfico da atividade elétrica gerada pelo coração a partir da superfície corpórea (GABAY, 2003; WILLIS, 2010), sob a forma de ondas específicas que representam estágios de despolarização e repolarização do miocárdio (FERREIRA et al., 2008; LEITÃO et al., 2011). O ECG é o mais importante método diagnóstico das arritmias cardíacas, sendo essencial para a determinação do tipo, origem e severidade das arritmias (TILLEY, 1992; ETTINGER, 1997; FULOP et al., 2006). Ainda pode sugerir informações quanto à dilatação e hipertrofia das câmaras cardíacas, oxigenação do miocárdio, influências do desequilíbrio eletrolítico e ácido básico, oferecendo também informações importantes para o diagnóstico das disfunções cardíacas secundárias a distúrbios sistêmicos (WOLF et al., 2000; VAILAT et al., 2009).

O ECG tem um papel importante na avaliação dos efeitos de fármacos sobre o sistema cardiovascular, por isso é rotineiramente realizado em estudos de toxicidade e farmacologia, fornecendo informações sobre mudanças na função eletrofisiológica do coração, em particular na ritmicidade, condução, despolarização e repolarização, permitindo a detecção precoce de efeitos adversos sobre a função cardíaca (HANTON & RABEMAMPIANINA, 2006).

O ECG por período de 24 horas (Sistema Holter) também fornece detalhes do ritmo cardíaco, além do número total e o tipo de complexos anormais, relacionando-os com o período do dia em que ocorreram. Permite desta forma, uma avaliação quantitativa e qualitativa (morfologia dos complexos) superior, podendo diagnosticar arritmias graves não detectadas no ECG ambulatorial (LEOMIL NETO et al., 2002; NOGUEIRA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2011).

A ecodopplercardiografia (ECO) é definida como o estudo ultrassonográfico do coração (OHARA & AGUILAR, 2003). Por meio desta técnica é possível realizar uma avaliação morfofuncional do coração e estruturas

adjacentes de maneira dinâmica e não invasiva (WARE, 2007; CASTRO et al., 2009).

As imagens ecodopplercardiográficas podem ser obtidas de três modos: o modo B ou bidimensional; o modo M ou movimento; e o modo doppler. O modo bidimensional demonstra um plano ou corte tecidual em profundidade e largura, permitindo a visualização de alterações anatômicas resultantes de diversas doenças e defeitos congênitos (BOON, 2011).

As imagens obtidas com modo M fornecem uma visão unidimensional do coração, representando ecos de várias interfaces teciduais ao longo de um feixe de ultrassom (WARE, 2007). Os pulsos captados ao longo desse feixe são interpretados como um gráfico, que representam os ciclos cardíacos em um eixo horizontal (SOUSA, 2010).

A ecocardiografia doppler permite avaliar a velocidade, direção e caráter do fluxo sanguíneo dentro do coração e dos grandes vasos (MUCHA, 2003). Os tipos de doppler utilizados clinicamente são: doppler pulsado (PW), doppler contínuo (CW) e o mapeamento de fluxo em cores (CF) (WARE, 2010).

A mensuração da PA é um parâmetro determinado pela ação bombadora do coração, resistência periférica, viscosidade do sangue, quantidade de sangue no sistema arterial e elasticidade das paredes arteriais. Esses fatores são controlados por um sistema regulador complexo que, ordinariamente, mantém a PA dentro de limites estreitos. Consiste, portanto em um dos mais importantes parâmetros circulatórios (DETWELER, 1996).

A mensuração da PA pode ser realizada por métodos invasivos (diretos) e não-invasivos (indiretos). Os métodos invasivos oferecem os valores mais precisos e são considerados o padrão ouro para mensuração da PA, contudo são raramente utilizados na clínica devido às dificuldades da técnica. Por outro lado, os métodos não-invasivos são preferíveis para a utilização devido à praticidade do uso e a possibilidade de serem repetidos em intervalos pequenos de tempo sem sedação, porém, são menos precisos quando há vasoconstrição ou quando ocorre movimentação excessiva do animal. As classes de dispositivos não-invasivos atualmente utilizados são o doppler vascular e os aparelhos oscilométricos (CABRAL et al., 2010; PELEGRINO et al., 2010).

Valores de PA são bastante variáveis e podem ser influenciados pela raça, idade, sexo, temperamento, condições patológicas e dieta (PELLEGRINO et al., 2010; WARE, 2010; LIPARELLI, 2013). Podem ainda ocorrer variações a depender do tamanho do manguito escolhido e experiência do avaliador. Por isso, o ideal é seguir um protocolo padrão para a mensuração da PA, proposto em 2007 pelo *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM) (BROWN et al., 2007).

7. Avaliações laboratoriais para lesão hepática e função renal

A maioria dos fármacos que são administrados e absorvidos por via oral, são transportados através da circulação portal para o fígado, onde são submetidos a um processo metabólico hepático, seguido de eliminação pela bile ou rins (LI, 2001). O processo de metabolização se dá por meio da biotransformação. Este processo ocorre em muitos tecidos, contudo o fígado é o órgão mais importante (BRANDON et al., 2003).

As lesões hepáticas associadas ao uso de medicamentos abrangem desde alterações bioquímicas e estruturais adaptativas até lesões morfológicas com danos muitas vezes irreversíveis do metabolismo ou estrutura celular (CENTER, 1999). Muitas vezes essas agressões podem gerar alterações enzimáticas sem ocorrerem alterações morfológicas, por isso a mensuração da atividade das enzimas hepáticas é um dos marcadores mais sensíveis das alterações hepáticas induzidas por fármacos (KERR, 2004). Quando os danos hepáticos induzidos são hepatocelulares, isso promoverá aumento das enzimas transaminases alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase (ALT e AST) e, quando são colestáticos, levará ao aumento de bilirrubinas, fosfatase alcalina (ALP) e gamaglutamiltransferase (GGT) (BERTOLAMI, 2005).

Os rins exercem múltiplas funções caracterizadas como filtração, reabsorção, homeostase, funções endocrinológica e metabólica. A função primordial dos rins é a manutenção da homeostasia, que é obtida por meio da regulação dos líquidos e eletrólitos e a eliminação dos resíduos metabólitos (ureia, creatinina, ácido úrico, ácidos orgânicos, bilirrubina conjugada, fármacos e

toxinas) (MOTTA, 2003; SODRÉ et al., 2007). Desta forma qualquer alteração que cause mudanças no fluxo sanguíneo renal podem alterar a taxa de excreção de substâncias e alterar a dose do medicamento que foi administrada (MADDISON et al., 2010).

Os testes usados para detectar a presença de alteração na estrutura renal incluem a urinálise e exames de imagem. O método rotineiramente utilizado para avaliar a função renal é a mensuração da concentração sérica de substâncias normalmente excretadas pelos rins. Sabe-se que as concentrações séricas de creatinina e ureia são inversamente proporcionais a taxa de filtração glomerular, por isso, as dosagens desses dois marcadores são os testes bioquímicos de triagem mais comumente realizados (NOGUEIRA & POGGIANI, 2013).

A ureia é o principal metabólito nitrogenado derivado da degradação de proteínas pelo organismo, sendo 90% excretada pelos rins e correspondendo a aproximadamente 75% do nitrogênio não-proteico excretado (SODRÉ et al., 2007). Já a creatinina é o produto do metabolismo não enzimático da creatina e fosfocreatina no músculo. A creatinina não sofre reabsorção tubular e também não é influenciada pela atividade hepática, sendo, portanto, fidedigna para avaliação da função renal (ROCCO, 2009).

A detecção de enzimas de origem renal diretamente na urina também possibilita a identificação de injúria renal e tem sido utilizada em estudos de nefrotoxicidade pois sua atividade é aumentada precocemente, antes das alterações nos valores de ureia e creatinina (HENNEMANN et al., 1997). Segundo MENEZES et al. (2010) a mensuração da GGT urinária fornece o diagnóstico da lesão da membrana da borda em escova dos túbulos, que causa diminuição da reabsorção e aumento da excreção de proteínas.

Na avaliação da função renal, é essencial também um minucioso exame do produto final da atividade renal, a urina, que apresentará elementos importantes no diagnóstico de alterações renais (ROCCO, 2009). A urina é avaliada por meio do exame denominado urinálise, este teste consiste na verificação da cor e aspecto da urina; determinação do pH e densidade; pesquisa de proteínas, glicose, corpos cetônicos, urobilinogênio, bilirrubina, sangue, nitrito e leucócitos, além da sedimentoscopia. A sedimentoscopia fornece informações

sobre as células, cilindros, micro-organismos e cristais, dentre outros componentes que possam estar presente na urina (MOTTA, 2003).

Além dos compostos nitrogenados a mensuração de eletrólitos tem grande importância, uma vez que os rins são responsáveis pela eliminação e reabsorção desses componentes (ROCCO, 2009). A excreção fracional (EF) é uma maneira de quantificar o grau de reabsorção ou secreção tubular, correspondendo a um bom parâmetro de avaliação da função tubular, definida como a relação entre a excreção do eletrólito e a excreção de creatinina (DIBARTOLA, 1999).

Outro importante marcador de doença renal é a presença de proteinúria. Em circunstâncias normais, as proteínas filtradas são reabsorvidas totalmente no túbulo contorcido proximal e apenas uma pequena quantidade de proteína é observada na urina. Assim, o aumento de quantidade de proteínas na urina, pode ser verificado quando ocorre uma disfunção glomerular ou doença tubular. O cálculo pelo qual se estabelece a relação entre a proteína e a creatinina urinária em uma amostra de urina permite obter informações semelhantes à obtida com a determinação da proteína urinária em 24 horas, com a vantagem de utilizar apenas uma amostra de urina (LANIS et al., 2008). A relação proteína: creatinina urinária (PU/CU) consiste na divisão da concentração total de proteína urinária pela concentração de creatinina urinária (NOGUEIRA & POGGIANI, 2013). Na ausência de proteinúria pré-renal, hemorragia e inflamação, cães saudáveis apresentam PU/CU menor que 0,5; valores entre 0,5 e 1,0 são questionáveis, podendo apenas sugerir lesão glomerular; valores entre 1,0 e 2,0 são anormais e indicam portanto, lesão tubular (GRAUER, 2011).

8. Objetivo geral

Este estudo teve como objetivo principal avaliar a ação vasodilatadora do LASSBio 897 em cães hípidos, e identificar possíveis alterações clínicas, cardiovasculares, hepáticas e renais.

REFERÊNCIAS

1. ADAMS, H. R. Digitálicos, outros agentes inotrópicos e drogas vasodilatadoras. In: ADAMS, H. R. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap.26, p.377-401.
2. BARREIRO, E. J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. **Revista Química Nova**, Rio de Janeiro, v.25, n.6B, p.1172-1188, 2002.
3. BARREIRO, E. J. A química medicinal e o paradigma do composto-protótipo. **Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro, v.1, n.1, p.26-34, 2009.
4. BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. A questão da inovação em fármacos no Brasil: proposta de criação do programa nacional de fármacos (PORNFAR). **Revista Química Nova**, Rio de Janeiro, v.28, n.1, p.56-63, 2005.
5. BERKOWITZ, B. A. Avaliação Básica e Clínica de Novas Drogas. In: KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica & Clínica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap.5, p.53-61.
6. BERTOLAMI, M. C. Mecanismos de hepatotoxicidade. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v.85, supl. V, p.1-3, 2005.
7. BOON, J. A. **Veterinary echocardiography**. 2.ed. West Sussex: Wiley Blackwell, 2011. 632p.
8. BRANDON, F. A.; RAAP, C. D.; MEIJERMAN, I.; BEIJNEN, J. H.; SCHELLENS, J. H. M. An update on in vitro test methods in human hepatic drug biotransformation research: pros and cons. **Toxicology and applied pharmacology**. San Diego, v.189, n.1, p.233-246, 2003.
9. BRICK, V. S.; HOSSNE, W. S.; HOSSNE, R. S. Clinical research on new drugs (Phase I). Profile of scientific publications: data from the pre-clinical phase and bioethical aspects. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.23, n.6, p.531-535, 2008.
10. BROWN, S.; ATKINS, C.; BAGLEY, R.; CARR, A.; COWGILL, L.; DAVIDSON, M.; EGNER, B.; ELLIOTT, J.; HENIK, R.; LABATO, M.; LITTMAN, M.; POLZIN, D.; ROSS, L.; SNYDER, P.; STEPIEN, R. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lakewood, v.21, n.1, p.542-558, 2007.
11. CABRAL, R. R.; CIASCA, B. D.; OLIVEIRA, V. M. C.; VAZ-CURADO, A. P.; LARSSON, M. H. M. A. Valores de pressão arterial em cães pelos métodos oscilométrico e doppler vascular. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.62, n.1, p.64-71, 2010.
12. CASTRO, M. G.; VEADO, J. C. C.; SILVA, E. F.; ARAÚJO, R. B. Estudo retrospectivo ecodopplercardiográfico das principais cardiopatias diagnosticadas

em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.61, n.5, p.1238-1241, 2009.

13. CENTER, S.A. Fisiopatologia, diagnóstico laboratorial, e afecções do fígado. In: ETTINGER, S. J; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 4. ed. São Paulo: Manole, v. 2, 1999. p. 1745-1899.

14. CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. BRASIL. Resolução n.º 01, de 13 de junho de 1988. Estabelece as normas de pesquisa em saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 13 jun. 1988. Disponível em: <http://www.bioetica.ufrgs.br/r01-88.htm>. Acesso em: 12 dez. 2013.

15. CORRÊA, T. D.; NAMURA, J. J.; SILVA, C. A. P.; CASTRO, M. G.; MENEGHINI, A.; FERREIRA, C. Hipertensão arterial sistêmica: atualidades sobre sua epidemiologia, diagnóstico e tratamento. **Arquivo de Medicina ABC**, São Paulo, v.31, n.2, p.91-101, 2005.

16. CORTADELLAS, O.; DEL PALACIO, M. J.; BAYÓN, A.; ALBERT, A. TALAVERA, J. Systemic hypertension in dogs with leishmaniasis: prevalence and clinical consequences. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v.20, n.4, p.941-947, 2006.

17. DETWEILER, D. K. Mecanismos de controle do sistema circulatório. In: DUKES, H.H. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,1996. cap.10, p.170-208.

18. DIBARTOLA, S. P. Abordagem clínica e avaliação laboratorial da afecção renal. In: ETTINGER, S. J; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 4. ed. São Paulo: Manole, v. 2, 1999. p. 2355-2373.

19. ETTINGER, S.J. Cardiac arrhythmias diagnosis and treatment. In: ETTINGER, E.; BONAGURA, E. **Os Recentes Avanços da Cardiologia Veterinária**. São Paulo: Anais Ettinger e Bonagura. 1997. s.p.

20. FERREIRA, F. S.; VALE, D. F.; RAMOS, R. M.; CARVALHO, C. B. Eletrocardiograma na monitoração anestésico-cirúrgica de cães. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 2, p.121-134, 2008.

21. FERREIRA, F. G.; POLLI, M. C.; OSHIMA FRANCO, Y.; FRACETO, L. F. Fármacos: do desenvolvimento à retirada do mercado. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiás, v.6, n.1, p.14-24, 2009.

22. FINCO, D. R. Association of systemic hypertension with renal injury in dogs with induced renal failure. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v.18, p. 289-294, 2004.

23. FONTOURA, E. G.; FERRO, A. G.; FELIX, A. O. C.; MUELLER, E. N.; NOBRE, M. O. Correlação entre a pressão arterial sistêmica aferida por método

oscilométrico com a idade e o nível sérico de sódio em cães hípidos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.34, n.3, p.1253-1258, 2013.

24. FULOP, L.; BÁNYÁSZ, T.; SZABÓ, G.; TÓTH, I. B.; LÔRINCZ, I.; BALOGH, A.; PETÔ, K.; MIKÓ, I.; NÁNÁSI, P. P. Effects of sex hormones on ECG parameters and expression of cardiac ion channels in dogs. **Acta Physiologica, Scandinavian**, v.188, n.1, p.163-171, 2006.

25. GABAY, A. Eletrocardiografia. In: BELERENIAN, G. C.; MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. **Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais**. 1.ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2003. cap.4, p. 46-51.

26. GORDON, S. G.; KITTLESON, M. D. Medicamentos utilizados no manejo de cardiopatas e arritmias cardíacas. In: MADDISON, J. E.; PAGE, S. W.; CHURCH, D. B. **Farmacologia Clínica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap. 17, p.373-450.

27. GRAUER, G. F. Introduction: proteinuric renal disease. **Topics in Companion Animal Medicine**, Philadelphia, v. 26, n. 3, p.119-120, 2011.

28. GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Revista Estudos Avançados**, São Paulo, v.24, n.70, p.81-98, 2010.

29. HANTON, G.; RABEMAMPIANINA, Y. The electrocardiogram of the beagle dog: reference values and effect of sex, genetic, strain, body position and heart rate. **Laboratory Animals**, London, v.1, n.40, p.123-136, 2006.

30. HENNEMANN, C. R. A.; SILVA, C. F.; SCHOENAU, W.; KOMMERS, G. D.; POLYDORO, A. S.; LEITZKE, M. R. M. Atividade da gamaglutamil transpeptidase urinária, dosagens séricas de uréia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeos em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n.2, p.237-244, 1997.

31. ISHIDA, Y.; TOMORI, K.; NAKAMOTO, H.; IMAI, H., SUZUKI, H. Effects of antihypertensive drugs on peritoneal vessels in hypertensive dogs with mild renal insufficiency. **Advances in peritoneal dialysis**, Toronto, v.19, n.1, p.10-14, 2003.

32. JEPSON, R.; SYME, H. Systemic hypertension. In: FUENTES, V. L.; JOHNSON, L. R.; DENNIS, S. **BSAVA Manual of Canine e Feline Cardiorespiratory Medicine**. 2.ed. Gloucester: British Library, 2010. cap.27, p.254-263.

33. KERR, M.G. **Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária: Bioquímica Clínica e Hematologia**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003. 436 p.

34. KUMMERLE, A. E.; BEIRAL, H. J. V.; PEREIRA, S. L.; SIMONE, C. A.; PEREIRA, M. A.; SIDO, R. T.; ZAPATA-SUDO, G.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. A Descoberta de LASSBio-897: um potente agente vasodilatador útil no

tratamento da hipertensão arterial. In: REUNIÃO ANUAL SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32., 2009, Fortaleza. **Anais eletrônicos... [online]**. Fortaleza: SBQ, 2009. Disponível em: <http://sec.sbq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T1386-1.pdf>. Acesso em: 03 jan. 2014.

35. LANIS, A. B.; FONSECA, L. A.; ROESLER, T.; ALVES, A.; LOPES, B. Avaliação laboratorial das doenças renais em pequenos animais. **PubVet**, Londrina, v.2, n.28, 2008.

36. LEITÃO, L. M. M.; ROMÃO, F. G.; DE NARDO, C. D. D.; MACHADO, L. H. A.; LOURENÇO, M. L. G.; VAILATI, M. C. F. Eletrocardiograma em cães – revisão. **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, v.1, n.91, p. 32-44, 2011.

37. LEOMIL NETO, M.; LARSSON, M. H. M. A.; PEREIRA, L.; BRITO, F. S. Padronização da monitorização eletrocardiográfica por 24 horas em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n.2, p.1-5, 2002.

38. LI, A. P. Screening for humanADME/Tox drug properties in drug discovery. **Research focus**. New York, v.6, n.7, p.357-366, 2001.

39. LIMA, J. S.; REZA, D. L.; TEIXEIRA, S.; COSTA, C. Pesquisa clínica: fundamentos, aspectos éticos e perspectivas. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, v.16, n.4, p.225-233, 2003.

40. LIPPARELLI, R. Hipertensão em cães e gatos. **Cães & Gatos**, Sorocaba, n.167, v.1, p.20-26, 2013.

41. LITTMAN, M. P. Distúrbios hipotensivos e hipertensivos. In: ETTINGER, S. J. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. São Paulo: Mannie, 1997. cap.19. p.128-135.

42. MADDISON, J. E.; PAGE, S. W.; DYKE, T. M. Farmacocinética clínica. In: MADDISON, J. E.; PAGE, S. W.; CHURCH, D. B. **Farmacologia Clínica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap.2, p.27-40.

43. MENEZES, L. B.; FIORAVANTI, M.C.S.; BRITO E SILVA, M.S.; FRANCO, L.G., SALES, T.P., ANDRASKICKO, M.M., VEADO, J.C.C.; ARAUJO, E.G. Avaliação do efeito da clorpromazina sobre a função renal de cães submetidos à isquemia e reperfusão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Goiás, v.30, n.2, p.108-114, 2010.

44. MICHINA, M.; WATANABE, T.; MATSUOKA, S.; SHIBATA, K.; FUJII, K.; MAEDA, H.; WAKAO, Y. Diurnal variations of blood pressure in dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v.61, n.6, p.643-647, 1999.

45. MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório: Princípios e Interpretações**. 4.ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2003. 532p.

46. MUCHA, C. J. Eletrocardiografia ambulatorial: Sistema Holter. In: CAMACHO, A.A.; BELERENIAN, G.; MANUBENS, J.; MUCHA, C.J. **Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais**. 1.ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2003. cap.5, p.52-57.
47. MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. Hipertensão arterial. In: BELERIAN, G. C.; MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. **Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais**. 1.ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2003. cap.27, p.21-217.
48. NOGUEIRA, R. B.; MUZZI, R. A. L.; HERRERA, D. S.; FALCO, I. R.; CAVALCANTI, G. A. O. Avaliação do ritmo cardíaco em cães da raça boxer saudáveis pela eletrocardiografia contínua (Holter). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.58, n.1, p.133-136, 2006.
49. NOGUEIRA, T. Q.; POGGIANI, S. S. C. Hipertensão sistêmica associada à doença renal crônica, revisão de literatura. **PubVet**, Londrina, v.7, n.1, 2013.
50. OHARA, V. Y. T. Abordagem ao paciente cardiopata. In: CAMACHO, A.A.; BELERENIAN, G.; MANUBENS, J.; MUCHA, C.J. **Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais**. 1.ed. São Caetano do Sul: Interbook , cap.2, 2003. p.34-39.
51. OHARA, V. Y. T.; AGUILAR, R. E. M. Ecocardiografia. In: CAMACHO, A.A.; BELERENIAN, G.; MANUBENS, J.; MUCHA, C.J. **Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais**. 1.ed. São Caetano do Sul: Interbook , cap.6, 2003. p.58-67.
52. OLIVEIRA, M. S.; MUZZI, R. A. L.; ARAÚJO, R. B.; NOGUEIRA, R. B.; MUZZI, L. A. L.; GIANNICO, A. T. Holter em animais de companhia – indicações clínicas e avaliação da variabilidade da frequência cardíaca. **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, v.1, n.92, p.78-86, 2011.
53. PASSOS, V. M. A.; ASSIS, T. D.; BARRETO, S. M. Hipertensão arterial no Brasil: estimativa de prevalência a partir de estudos de base populacional. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Belo Horizonte, v.15, n.1, p.35-45, 2006.
54. PELEGRINO, A.; PETRUS, L. C.; YAMAKI, F. L.; SANTOS, A. L. F.; LARSSON, M. H. M. A. Valores de pressão arterial de cães da raça Golden Retriever clinicamente saudáveis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.47, n.4, p.307-314, 2010.
55. PEREIRA, M.; LUNET, N.; AZEVEDO, A.; BARROS, H. Differences in prevalence, awareness, treatment and control of hypertension between developing and developed countries. **Journal of Hypertension**, London, v.27, n.5, p.963-975, 2009.
56. PIMENTEL, L. C. F.; CHAVES, C. R.; FREIRE, L. A. A.; AFONSO, J. C. O inacreditável emprego de produtos naturais químicos perigosos no passado. **Revista Química Nova**, Rio de Janeiro, v.29, n.5, p.1138-1149, 2006.

57. RATTEZ, E.P.; REYNOLDS, B.S.; CONCORDET, D.; LAYSSOL-LAMOUR, C.J.; SEGALIN, M.M.; CHETBOUL, V.; LEFEBVRE, H.P. Within-day and between-day variability of blood pressure measurement in healthy conscious Beagle dogs using a new oscillometric device. **Journal of Veterinary Cardiology**, Toulouse, v.12, p.35-40, 2010.
58. REMILLARD, R. L.; ROSS, J. N.; EDDY, J. B. Variance of indirect blood pressure measurements and prevalence of hypertension in clinically normal dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.52, n.4, p.561-565, 1991.
59. ROCCO, L. M. **Guia para coleta e interpretação de exames laboratoriais em cães e gatos**. 1.ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2009. 216p.
60. SANSOM, J.; BODEY, A. Ocular signs in four dogs with hypertension. **Veterinary Record**, London, v. 140, n.1, p. 593-598, 1997.
61. SEVALHO, G. Farmacovigilância: bases históricas, conceituais e operacionais. In: GOMES, M. J. V. M.; REIS, A. M. M. **Ciências Farmacêuticas: Uma abordagem em farmácia hospitalar**. 1.ed. São Paulo: Atheneu, 2001, p.109.
62. SOARES, F. A. C.; NEUWALD, E. B.; MOMBACH, V. S.; AVILA, A. E. R.; CONRADO, F. O.; GONZÁLEZ, F. H. D. Systolic blood pressure of dogs at hospital and domestic environment. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.7, p.1243-1248, 2012.
63. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, Rio de Janeiro, n.1, v.95, supl.1, p.1-51, 2010.
64. SODRÉ, F. L.; COSTA, J. C. B.; LIMA, J. C. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v.43, n.5, p.329-337, 2007.
65. SOUSA, M. G. **Princípios da ecocardiografia veterinária**. 1.ed., Araguaína: Universidade Federal do Tocantins, 2010, 9p.
66. STEPIEN, R. L. Hypertension in cats and dogs. In: THE ANNUAL WALTHAM DIETS/OSU SYMPOSIUM – SMALL ANIMAL CARDIOLOGY, 26. 2002, Waltham. **Anais eletrônicos... [online]...** Waltham: College of Veterinary Medicine, 2002. Disponível em: <http://www.bearsrampnewfs.com/health/Waltham%20Center/Hypertension%20in%20Cats%20and%20Dogs.pdf>. Acesso em: 24 nov. 2013.
67. STEPIEN, R. L.; RAPOPORT, G. S. Clinical comparison of the methods to measure blood pressure in nonsedated dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.215, n.11, p.1623-1628, 1999.

68. SUDO, G. Z.; PEREIRA, S. L.; BEIRAL, H. J. V.; KUMMERLE, A. E.; RAIMUNDO, J. M.; ANTUNES, F.; SUDO, R. T.; BARREIRA, E. J.; FRAGA, C. A. M. Pharmacological characterization of (3-Thienylidene)-3,4-Methylenedioxybenzoylhydrazide: a novel muscarinic agonist with anti-hypertensive profile. **American Journal of Hipertension**, Louisville, v.23, n.1, p.135-141, 2010.
69. TÁRRAGA, K. M. Medicamentos que atuam no sistema cardiovascular: inotrópicos positivos e vasodilatadores. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap.24, p.299-312.
70. TEBALDI, M.; LOURENÇO, M. L. G.; MACHADO, L. H. A.; SUDANO, M. J.; CARVALHO, L. R. Estudo da pressão arterial pelo método indireto oscilométrico (petmap[®]) em cães domésticos não anestesiados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.64, n.6, p.1456-1464, 2012.
71. TILLEY, L. P. **Essentials of canine and feline eletrocardiography**. 4.ed. Philadelphia: Lea &Febiger, 1992. 470p.
72. TISSIER, R.; PERROT, S.; ENRIQUEZ, B. Amlodipine: one of the main anti-hypertensive drugs in veterinary therapeutics. **Journal of Veterinary Cardiology**, Amsterdam, v.7, n.1, p.53-58, 2005.
73. VAILAT, M. C. F.; CAMACHO, A. A.; SCHWARTZ, D. S.; LOURENÇO, M. L. G.; TAKAHIRA, R. K.; FRANCO, S. R. V. S. Características eletrocardiográficas de cães da raça boxer. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.4, p. 698-707, 2009.
74. VIANA, F. A. B.; OLIVEIRA, J.; PALHARES, M. S.; BORGES, K. D. A. **Fundamentos de Terapêutica Veterinária**. 1.ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2006, 286p.
75. WARE, W.A., Doenças do Sistema Cardiovascular. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. cap.2, p.1-16.
76. WARE, W. A. **Cardiovascular disease in small animal medicine**. London: Manson Publishing Ltd, 2007. 396p.
77. WARE, W.A., Doenças do Sistema Cardiovascular. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap.2, p.184-190.
78. WILLIS, R. Electrocardiography and ambulatory monitoring. In: FUENTES, V. L.; JOHNSON, L. R.; DENNIS, S. **BSAVA Manual of Canine e Feline Cardiorespiratory Medicine**. 2.ed. Gloucester: British Library, 2010. cap.9, p.67-73.

79. WINTER, K. H.; TUTTLE, L. A.; VIEIRA, A. J. Hypertension. **Primary Care Clinical Office Practice**, Philadelphia, v.40, n.1, p.179-194, 2013.
80. WOLF, R.; CAMACHO, A. A.; SOUZA, R. C. A. Eletrocardiografia computadorizada em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.52, n.6, p.610-615, 2000.
81. WOLF, T.; MILLER, T. Evidence for the reaffirmation of the U.S. preventive services task force recommendation on screening for high blood pressure. **Clinical Guidelines**, Paris, v.147, n.11, p.787-791, 2007.
82. YOON, R. N. S. S.; BURT, R. N. V.; LOULS, T. M. S.; CARROLL, M. D. Hypertension among adults in the United States, 2009-2010. **National Center for Health Statistics Data Brief**, Atlanta, v.1, n.107, p.1-8, 2012.

CAPÍTULO 2. AÇÃO DE UM NOVO PROTÓTIPO DE FÁRMACO VASODILATADOR (LASSBio 897) SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE CÃES HÍGIDOS

CHAPTER 2. ACTION OF A NOVEL VASODILATORY DRUG PROTOTYPE (LASSBio 897) ON THE CARDIOVASCULAR SYSTEM OF HEALTHY DOGS

RESUMO

O LASSBio 897 é um protótipo de fármaco produzido a partir do substrato do safrol, um composto extraído do óleo de sassafrás, encontrado em plantas brasileiras como a "canela-branca" (*Ocotea pretiosa*) e que já mostrou efeitos vasodilatadores em testes *in vitro* (aorta de ratos normotensos) e *in vivo* (ratos). Devido ao seu perfil farmacológico e a possibilidade de uma nova estratégia terapêutica, realizou-se uma investigação de seus prováveis efeitos sob o sistema cardiovascular de cães. Foram utilizados seis cães da raça beagle, adultos clinicamente saudáveis. Os cães foram submetidos a quatro tratamentos, recebendo, por via oral, doses pontuais de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg do LASSBio 897 e 0,5mg/kg de benazepril, como controle positivo. Foram submetidos a exames ecodopplercardiográficos, eletrocardiográficos e mensuração da pressão arterial. Na avaliação ecodopplercardiográfica foram observados valores de volume sistólico e débito cardíaco menores do que os descritos como normais para a espécie, com médias que vão diminuindo até o tempo de 240 minutos. Da mesma forma, os valores da pressão arterial sistólica vão diminuindo gradualmente até o tempo de 120 minutos, momento em que ocorre o menor valor para a pressão arterial (120,58mmHg), nas três doses estudadas, resultado semelhante ao observado com a administração do benazepril. Pode-se concluir que o protótipo produz vasodilatação nas três doses únicas estudadas, não causa efeitos adversos, hipotensão ou arritmias.

Palavras-chave: cão, vasodilatador, eletrocardiograma, ecodopplercardiograma

ABSTRACT

LASSBio 897 is a drug prototype produced from safrole substrate, a compound extracted from the sassafras oil found in Brazilian plants such as "canela-branca" (*Ocotea pretiosa*), which has shown vasodilatory effects in *in vitro* (aorta of normotensive rats) and *in vivo* (mice) tests. Due to its pharmacological profile and the possibility of a new therapeutic strategy, an investigation of the effects on the cardiovascular system of dogs was performed. Six adult and healthy beagle dogs were used. They received oral doses of 0.5mg/kg, 1.0mg/kg and 2.0mg/kg of LASSBio 897 and 0.5mg/kg of benazepril, as a positive control. Doppler echocardiographic, electrocardiographic examinations and arterial blood pressure assessment were performed. In Doppler echocardiographic examination, values of stroke volume and cardiac output were smaller than those described as normal for the species with averages decreasing until the time of 240 minutes. Likewise, values of blood pressure gradually decreased until time 120 minutes, at which the lowest value for blood pressure occurs (120,58mmHg) when administering any of the three doses, similar to that observed with benazepril. We could conclude that the prototype, with the usage of all three single doses investigated, produces vasodilation, does not cause side effects, hypotension or heart rhythm abnormalities.

Key-words: dog, vasodilatory, electrocardiography, echocardiography

1. INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial (PA) (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010). Estima-se que exista cerca de um bilhão de indivíduos hipertensos no mundo, sendo a HAS responsável por aproximadamente 7,1 milhões de óbitos por ano (CORRÊA et al., 2005).

Nos cães, assim como em humanos, a HAS é sinônimo de aumento sustentado da PA. É geralmente categorizada em três tipos de condições. Pode ser causada por artefato na mensuração (induzida por estresse e/ou ansiedade), ocorrer em associação com outros processos patológicos que podem elevar a PA (hipertensão secundária) ou ocorrer na ausência de outros processos patológicos potencialmente causadores de hipertensão (hipertensão idiopática) (BROWN et al., 2007).

A terapia anti-hipertensiva em humanos tem sido associada a reduções significativas de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e insuficiência cardíaca. Para os cães, cinco principais classes de agentes anti-hipertensivos são adequadas para o tratamento, sozinhos ou em combinação: antagonistas do cálcio; inibidores da enzima conversora de angiotensina; antagonistas dos receptores da angiotensina e β -bloqueadores (MUCHA & CAMACHO, 2003). Assim, o desenvolvimento de novos medicamentos vasodilatadores específicos com potencial para uso clínico é importante (SUDO et al., 2010).

Um novo protótipo a fármaco (LASSBio 897) capaz de promover efeitos vasodilatadores foi desenvolvido pelo Laboratório de Avaliação de Substâncias Bioativas (LASSBio) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). O LASSBio 897, derivado *N*-acilidrazônico (NAH), foi desenvolvido a partir da substituição de um anel 2-tienil por um anel 3-tienil na estrutura de um protótipo anteriormente pesquisado (LASSBio 294) capaz de promover efeitos vasodilatadores e inotrópicos positivos combinados. Esse protótipo assim como o anterior, foi produzido a partir do safrol, um composto extraído do óleo de sassafrás, encontrado em plantas brasileiras como a canela-branca (*Ocotea pretiosa*) (SUDO et al., 2010).

Os exames complementares mais importantes no diagnóstico das alterações cardiovasculares em cães são eletrocardiografia, a ecodopplercardiografia e a mensuração da PA (OHARA, 2003). O eletrocardiograma (ECG) é um exame importante ao se avaliar os efeitos de fármacos sobre o sistema cardiovascular, pois fornece informações sobre alterações na função eletrofisiológica, em particular nos efeitos que um composto em teste pode produzir sobre a ritmicidade cardíaca e a despolarização e repolarização do miocárdio (HANTON & RABEMAMPIANINA, 2006). Da mesma forma, a ecodopplercardiografia (ECO) pode ser particularmente útil em farmacologia toxicológica, com base na quantidade de informações que podem ser obtidas sobre as causas e as consequências dos efeitos provocados por um fármaco sobre o sistema cardiovascular (PIETRO et al., 2010). A mensuração da PA torna-se primordial neste contexto, uma vez que, além de consistir em um dos mais importantes parâmetros circulatórios, permite verificar a ação primária do protótipo em questão (DETWEILER, 1996).

Diante do exposto, a realização desse estudo permitiu continuar o desenvolvimento de um novo fármaco e objetivou avaliar a ação vasodilatadora do protótipo LASSBio 897, bem como outras possíveis ações sobre o sistema cardiovascular, em cães hígdidos, considerando que o cão é um bom modelo experimental para estudos envolvendo o sistema cardiovascular.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local de experimentação

Toda a metodologia empregada obedeceu aos preceitos da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório e foi previamente analisada e aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais de Laboratório da Universidade Federal de Goiás (UFG) (Protocolo 16/12 aprovado em 27/02/1012) (ANEXO 1).

O estudo experimental foi realizado nos canis do galpão de experimentação do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal (PPGCA) e no Laboratório de Cardiologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG (HV/EVZ/UFG).

2.2. Animais para experimentação

O estudo experimental foi realizado com seis cães, adultos (5-9 anos), com peso entre 7kg e 14kg, da raça beagle, clinicamente saudáveis. Os animais foram previamente vacinados e desverminados e a alimentação consistiu do fornecimento de ração normocalórica (Proplan Medium Adult[®] – Nestlé Purina) em duas refeições diárias e água à vontade.

Os cães foram alojados em baias individuais, medindo 2,85 x 0,75m, construídas em alvenaria, com paredes e piso revestidos com cimento liso, além de ter acesso à outra área descoberta, revestida por cimento rústico. Ao término do experimento os cães foram doados a proprietários previamente cadastrados.

2.3. Administração do LASSBio 897

O LASSBio 897 foi sintetizado pelo LASSBio (Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas, Rio de Janeiro – Brasil) e as cápsulas foram manipuladas pela Farmácia - Escola da Faculdade de Farmácia da UFG. Todos os cães receberam doses únicas de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg de LASSBio 897 e 0,5mg/kg de benazepril (Lotensin[®] 5mg – Novartis, Brasil), por via oral, com intervalo de 15 dias entre as doses.

As mensurações da PA não invasiva foram realizadas antes da administração dos compostos (0min), após quinze (15min), trinta minutos (30min), uma (60min), uma e meia (90min), duas (120min), quatro (240min), seis (360min) e doze horas (720min) após administração oral.

As avaliações eletrocardiográficas e ecodopplercardiográficas foram realizadas antes da administração dos compostos (0min), após uma (60min), duas (120min), quatro (240min), seis (360min) e doze horas (720min).

2.4. Avaliações da pressão arterial

A PA foi mensurada por meio de dois métodos não-invasivos, utilizando os aparelhos PetMap[®] (método oscilométrico) e Microem DV 10 (método doppler).

Em ambiente tranquilo e climatizado os cães foram colocados em decúbito lateral direito sobre uma mesa. Para mensuração com o aparelho PetMap[®] o manguito foi posicionado na região radio-ulnar, abaixo da articulação do cotovelo no membro torácico esquerdo e o manguito foi escolhido com base na demarcação do tamanho ideal, sendo utilizado o de 4,5cm. Para mensuração com o aparelho Microem DV 10 o manguito foi posicionado como no método anterior e o transdutor sobreposto à região palmar esquerda, próximo a articulação carpometacárpica. Para determinação do tamanho ideal do manguito utilizado foi medida a circunferência do membro torácico esquerdo (largura do manguito= 40% da circunferência do membro) (HENIK et al., 2005; BROWN et al., 2007) (Figura 1).

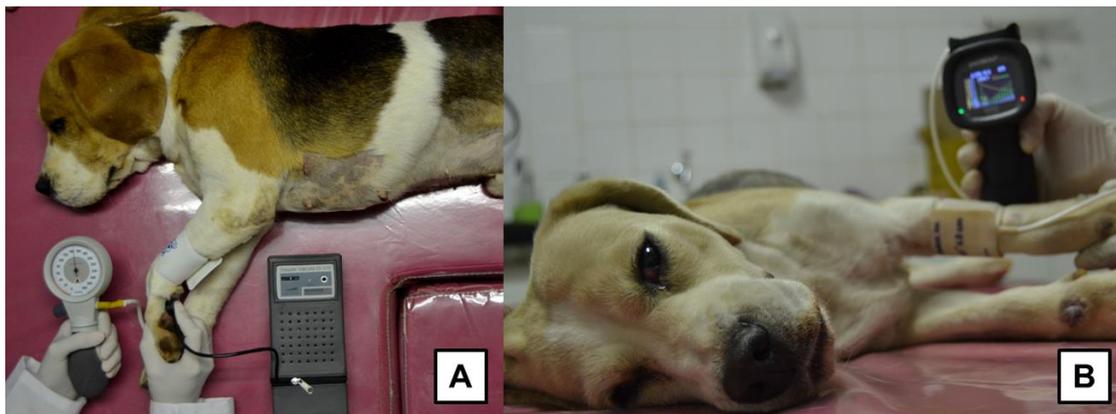


FIGURA 1 - Cães beagle em decúbito lateral direito durante mensuração de pressão arterial não invasiva A) com aparelho doppler vascular; B) com o dispositivo oscilométrico PetMap®.

Em cada avaliação foram obtidas cinco medições consecutivas da pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) de cada animal com o dispositivo PetMap®, e cinco medições consecutivas da PAS com o doppler vascular descartando a maior e a menor mensuração e considerando como valor final a média aritmética das três mensurações restantes.

2.5. Avaliações eletrocardiográficas

Para a obtenção do eletrocardiograma (ECG), foi utilizado aparelho computadorizado – módulo de aquisição de ECG para computador/ECG-PC, versão Windows 98/ Tecnologia Eletrônica Brasileira –TEB, (Figura 2A) na velocidade de 50 mm/s, sendo os registros arquivados em um computador. Os animais foram contidos em decúbito lateral direito e em cada membro locomotor foi acoplado um eletrodo (eletrodo amarelo acoplado ao membro torácico esquerdo, vermelho acoplado no membro torácico direito, verde acoplado ao membro pélvico esquerdo e preto acoplado ao membro pélvico direito) (Figura 2B), desta forma foram obtidos simultaneamente traçados eletrocardiográficos nas derivações bipolares DI, DII, DIII, e nas unipolares aVR, aVL e aVF.

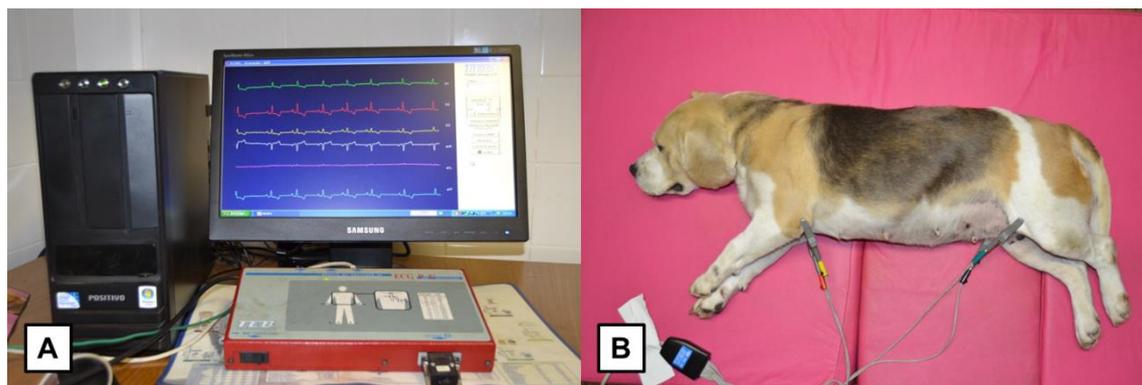


FIGURA 2 - A) Aparelho de eletrocardiografia computadorizada TEB, mostrando o traçado eletrocardiográfico na tela do computador. B) Cadela beagle em decúbito lateral direito, durante exame de eletrocardiografia ambulatorial.

As análises dos registros eletrocardiográficos foram realizadas na derivação DII, segundo a técnica descrita por TILLEY (1992), com obtenção dos seguintes parâmetros: ritmo e frequência cardíaca (bpm), duração em milissegundos (ms) e amplitude em milivolts (mV) da onda P e do complexo QRS, duração dos intervalos P-R e Q-T, nivelamento do segmento S-T, amplitude onda T e utilizando as derivações I e III foi determinado o eixo cardíaco elétrico médio no plano frontal, expresso em graus.

A eletrocardiografia em 24 horas (sistema Holter) foi realizada por meio do aparelho de “Holter” ECG Cardiolight[®] em duas derivações pré-cordiais (rV2 e V4). Eletrodos adesivos foram posicionados lateralmente na parede torácica, após tricotomia da região e limpeza com álcool e éter para retirar a oleosidade da pele. Os eletrodos foram posicionados nos locais padronizados para as derivações precordiais rV2 e V4 (vermelho e preto do lado direito e branco e verde do lado esquerdo). Posteriormente, foram colocadas fitas do tipo esparadrapo sobre os eletrodos e atadura crepom envolvendo o tórax para garantir maior fixação. O aparelho foi então acondicionado em um colete de tecido, leve e confortável, oferecendo total liberdade de movimentos aos cães, objetivando a proteção dos cabos que foram ligados aos eletrodos adesivos (Figura 3). Foram registrados três canais eletrocardiográficos a partir destas derivações torácicas modificadas (PETRIE, 2005; OLIVEIRA et al., 2011).



FIGURA 3 - Cadelas beagle sendo preparadas para monitoração eletrocardiográfica dinâmica (sistema Holter).

O horário foi ajustado no momento da colocação (tempo zero) e o aparelho desligou-se automaticamente ao término de 24 horas. As informações foram gravadas no cartão de memória do aparelho e posteriormente transferidas para o software de leitura para interpretação dos dados.

2.6. Avaliações ecodopplercardiográficas

O estudo ecodopplercardiográfico foi realizado utilizando o aparelho de ecodopplercardiografia (My Lab30Vet - Pie Medical) e transdutor multifrequencial de 5,0/7,5MHz (Figura 4A) do Laboratório de Cardiologia do HV/EVZ/UFG. Utilizando-se este transdutor multifrequencial e posicionando-o na janela paraesternal direita (terceiro ao quinto espaços intercostais), foram obtidas, no eixo longitudinal, as imagens das quatro câmaras e via de saída do ventrículo esquerdo (VE) e, no eixo transversal, as imagens ao nível apical, papilar e mitral, com as medidas das estruturas cardíacas sendo realizadas em modo M nesta janela ecocardiográfica, mediante orientação pelo modo bidimensional (exposição simultânea na tela). A partir da janela paraesternal caudal (apical) esquerda, as

imagens foram analisadas no eixo longitudinal a partir dos cortes apicais quatro e cinco câmaras (KIENLE & THOMAS, 2005; SOUSA, 2010).

Para a realização dos ecodopplercardiogramas, os animais foram posicionados em decúbito lateral direito e posteriormente esquerdo, em uma mesa para ecocardiografia, seguindo-se a aplicação de gel acústico para uma melhor condução das ondas (Figura 4B) (BOON, 2011).

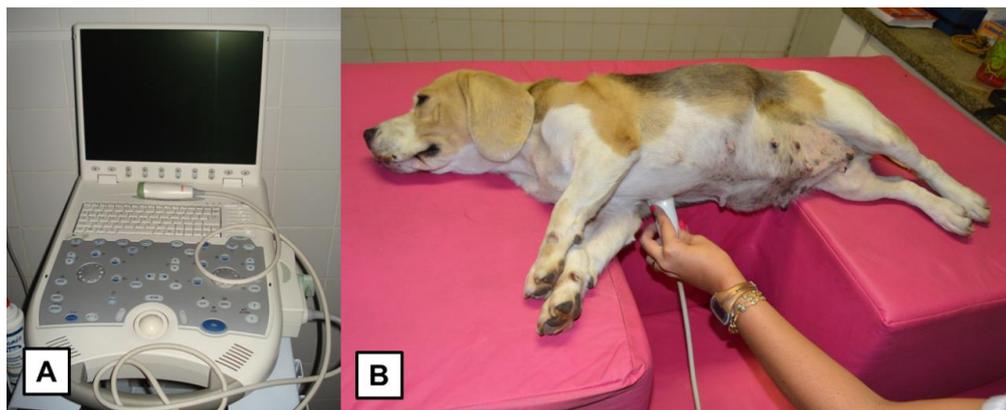


FIGURA 4 - A) Aparelho de ecodopplercardiografia (My Lab30Vet) e transdutor multifrequencial de 5,0/7,5 MHz do Laboratório de Cardiologia EVZ/UFG. B) Cadela beagle em decúbito lateral direito com transdutor posicionado na janela paraesternal direita.

Foram utilizados os modos bidimensional, modo M e doppler, pulsado (PW), contínuo (CW) e de fluxo em cores (CF). A avaliação qualitativa do coração foi obtida pelo modo bidimensional, fornecendo informações quanto ao movimento, anatomia cardíaca e relação espacial, bem como servindo de orientação para as imagens em modo M, por meio do qual foi realizada análise quantitativa, em sístole e diástole, das dimensões das câmaras cardíacas, espessura da parede livre do ventrículo esquerdo e do septo interventricular e avaliação dos movimentos valvares, permitindo, assim, cálculos de índices funcionais como a fração de encurtamento, fração de ejeção, volume sistólico e débito cardíaco (WARE, 2006; SOUSA, 2010).

Por meio da ecocardiografia doppler, foram identificados os fluxos sanguíneos no coração e nos grandes vasos e quantificados quanto à direção, velocidade e turbulência, estabelecendo a presença ou ausência de insuficiência valvar decorrente de regurgitações. O doppler de fluxo em cores foi empregado

nas imagens apicais quatro e cinco câmaras que permitiram uma melhor e mais adequada identificação e avaliação direta do fluxo sanguíneo, bem como auxiliou o posicionamento do cursor para a mensuração da velocidade do mesmo por meio de doppler pulsado (KIENLE & THOMAS, 2005).

Os ecodopplercardiogramas foram realizados e analisados de acordo com os critérios da Sociedade Americana de Ecocardiografia e do Comitê de Ecocardiografia do Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (THOMAS et al., 1994; BOON, 2011).

2.7. Análise estatística

Os cães foram distribuídos em experimento inteiramente casualizado, sendo os tratamentos as parcelas (doses) e os períodos de avaliação as subparcelas (0min, 15min, 30min, 60min, 90min, 120min, 240min, 360min, 720min). Cada animal foi uma unidade experimental. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, adotando-se nível de significância de 5%. As análises foram realizadas com o auxílio do *software* estatístico R[®] (R CORE TEAM, 2013).

3. RESULTADOS

3.1. Avaliações da pressão arterial

Os resultados obtidos por meio da avaliação da PA com o uso do doppler vascular e dispositivo PetMap[®] antes e após a administração das doses de 0,5 mg/kg, 1mg/kg e 2mg/kg do LASSBio897, e de 0,5mg/kg de benazepril por via oral, estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1 - Médias de pressão arterial sistólica (PAS) obtidas pelo método doppler de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
PAS doppler (mmHg)	15min	127,73	127,96	128,58	122,31	126,64 AB	0,4948	0,0090	0,3490
	30min	124,50	129,08	120,31	123,41	124,32 AB			
	60min	122,31	126,63	117,96	122,75	122,41 AB			
	90min	125,96	121,51	117,95	123,08	122,12 AB			
	120min	120,20	122,06	121,31	118,75	120,58 B			
	240min	124,85	126,75	120,75	118,38	122,68 AB			
	360mn	126,41	120,51	125,18	128,31	125,10 AB			
	720min	129,30	126,82	132,30	126,76	128,79 A			
	Médias	125,16 a	125,17 a	123,04 a	122,97 a				

Onde: PAS: pressão arterial sistólica.

Letras minúsculas: diferenças estatísticas entre tratamentos.

Letras maiúsculas: diferenças estatísticas entre tempos.

p*: diferença estatística entre tratamentos; p**: diferença estatística entre tempos; p***: diferença estatística na interação tempo/tratamento.

Na avaliação da PAS com a utilização do doppler não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos e na interação tempos/tratamentos. Entretanto, foram observadas diferenças estatísticas entre tempos, com queda gradativa das médias até o tempo 120min, onde se observa o menor valor para a PAS.

Para os valores de PAS obtidos com o PetMap[®], o comportamento da variável foi semelhante à mensuração com o método doppler, entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas entre os tempos de avaliação e na interação tratamentos/tempos. Contudo, houve diferença estatística entre os tratamentos. Em relação às médias da PAS, foi constatado o maior valor para dose de 0,5mg/kg do LASSBio 897, sendo que nos outros tratamentos as médias da PAS foram semelhantes entre si.

Na mensuração da PAD pelo mesmo método não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos e na interação tratamentos/tempos. Já entre os tempos, foi possível observar que o tempo de 90min apresentou valores mais altos em relação aos tempos de 60min, 120min e 360min. Em relação à PAM não foram observadas diferenças significativas entre tempos e na interação tempos/tratamentos, mas houve diferença estatística entre os

tratamentos, tendo o grupo benazepril apresentado os menores valores e o grupo 0,5mg/kg de LASSBio897 os maiores valores.

TABELA 2 - Médias de pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) obtidas pelo dispositivo oscilométrico PetMap® de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
PAS Pet Map® (mmHg)	15min	145,18	142,68	138,28	133,39	139,88 A	0,0032	0,0948	0,4052
	30min	138,91	133,12	132,89	136,30	135,30 A			
	60min	137,80	136,98	137,34	128,01	135,03 A			
	90min	139,71	135,63	129,55	128,70	133,40 A			
	120min	140,01	129,79	135,12	123,48	132,10 A			
	240min	139,78	132,04	133,53	133,18	134,63 A			
	360mn	142,25	128,53	132,90	140,35	136,00 A			
	720min	144,01	136,43	138,36	133,78	138,15 A			
	Médias	140,96 a	134,40 b	134,75 b	132,15 b				
PAD PetMap® (mmHg)	15min	75,30	74,73	72,86	70,06	73,24 AB	0,2412	0,0126	0,9522
	30min	70,86	72,68	71,15	72,70	71,85 AB			
	60min	71,31	70,23	72,65	68,25	70,61 B			
	90min	78,20	74,13	75,03	72,86	75,06 A			
	120min	73,30	68,35	71,76	68,5	70,47 B			
	240min	78,23	73,05	72,72	74,75	74,68 AB			
	360mn	74,08	68,20	71,97	67,73	70,49 B			
	720min	77,35	71,13	73,96	67,35	72,45 AB			
	Médias	74,83 a	71,56 a	72,77 a	70,27 a				
PAM PetMap® (mmHg)	15min	97,48	101,13	93,75	92,03	96,10 A	0,0166	0,0755	0,7053
	30min	92,85	91,18	91,03	90,51	91,30 A			
	60min	94,25	93,30	91,30	88,11	91,74 A			
	90min	100,15	95,41	91,59	90,91	94,52 A			
	120min	95,70	90,13	94,53	86,18	91,63 A			
	240min	98,08	93,65	94,08	95,11	95,23 A			
	360mn	96,98	91,36	91,30	92,63	93,07 A			
	720min	100,68	92,75	94,91	88,70	94,26 A			
	Médias	97,02 a	93,61 ab	92,81 ab	90,52 b				

Onde: PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PAM: pressão arterial média.

Letras minúsculas: diferenças estatísticas entre tratamentos.

Letras maiúsculas: diferenças estatísticas entre tempos.

p*: diferença estatística entre tratamentos; p**: diferença estatística entre tempos; p***: diferença estatística na interação tempo/tratamento.

3.2. Avaliações eletrocardiográficas

Os resultados obtidos após análise dos dados de ECG ambulatoriais, comparando os tratamentos (0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg de LASSBio 897 e 0,5mg/kg de benazepril) e os tempos avaliados estão apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 – Valores médios dos parâmetros eletrocardiográficos obtidos por meio de ECG ambulatorial de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
Frequência Cardíaca (bpm)	0min	75,77 abC	86,66 aA	75,39 abB	71,55 bB	77,34	0,0890	<0,0001	<0,0001
	60min	98,83 aA	95,44 aA	92,61 aA	105,83 aA	98,18			
	120min	91,16 aAB	94,22 aA	80,88 aAB	81,22 aB	86,87			
	240min	90,50 aAB	97,39 aA	84,22 aAB	83,77 aB	88,97			
	360min	73,61 aC	83,61 aA	73,94 aB	72,89 aB	76,01			
	720min	80,72 aBC	61,55 bB	69,83 abB	76,83 aB	72,23			
	Médias	85,10	86,48	79,48	82,01				
Onda P (ms)	0min	38,66	38,22	37,55	38,77	38,30 C	0,0008	0,0003	0,3268
	60min	39,16	39,00	38,50	39,50	39,04 AC			
	120min	39,00	39,33	37,83	38,27	38,61 BC			
	240min	39,66	39,50	39,55	39,66	39,59 A			
	360min	39,66	39,22	39,50	38,66	39,15 AB			
	720min	39,00	39,00	38,39	40,00	39,09 AB			
	Médias	39,19 a	39,04 a	38,48 b	39,14 a				
Segmento PR (ms)	0min	87,10 bD	90,55 abB	91,77 abCD	95,16 aCD	91,27	0,0024	<0,0001	0,0005
	60min	89,10 aCD	86,55 aB	87,05 aD	89,22 aD	88,11			
	120min	101,99 bA	106,55 abA	110,94 aA	106,33 abA	106,45			
	240min	91,00 abCD	88,44 bB	97,22 aBC	95,16 abCD	92,95			
	360min	97,38 bAB	104,27 aA	99,83 abB	102,83 abAB	101,08			
	720min	96,27 abAC	103,00 aA	95,44 bBC	98,94 abBC	98,41			
	Médias	93,98	96,56	97,04	97,94				
Segmento QRS (ms)	0min	56,16 cAB	58,55 bcAB	65,89 aA	64,77 abA	61,34	0,0012	<0,0001	<0,0001
	60min	54,61 aB	51,33 abC	53,61 aC	48,00 bD	51,88			
	120min	57,11 aAB	58,05 aA	57,89 aB	59,77 aAB	58,20			
	240min	54,55 aB	54,33 aBC	54,55 aC	55,00 aC	54,61			
	360min	56,72 aAB	56,55 aAB	59,11 aB	57,22 aBC	57,40			
	720min	58,83 bA	59,50 bA	63,77 aA	61,00 abAB	60,77			
	Médias	56,33	56,38	59,13	57,63				

TABELA 3 – Valores médios dos parâmetros eletrocardiográficos obtidos por meio de ECG ambulatorial de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

(Continuação)

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
Segmento QT (ms)	0min	226,22 aA	220,00 aB	228,89 aAB	222,55 aBC	224,41	0,0248	<0,0001	<0,0001
	60min	211,33 aC	220,22 aB	217,16 aCD	213,61 aC	215,58			
	120min	215,27 abBC	212,94 abB	207,16 bD	218,16 aBC	213,88			
	240min	224,77 bAB	237,61 aA	234,11 abA	238,33 aA	233,70			
	360min	231,89 abA	236,66 aA	222,11 bBC	225,39 bB	229,01			
	720min	227,49 abA	234,11 aA	223,22 bAC	224,55 abB	227,34			
	Médias	222,83	226,92	222,83	223,76				
Onda P (mV)	0min	0,13 aC	0,15 aBC	0,12 aC	0,12 aD	0,13	0,0063	<0,0001	<0,0001
	60min	0,14 bC	0,18 aB	0,17 abB	0,15 abCD	0,16			
	120min	0,22 aA	0,22 aA	0,19 aAB	0,21 aAB	0,21			
	240min	0,18 cB	0,24 aA	0,21 bcA	0,22 abA	0,21			
	360min	0,18 aB	0,17 abBC	0,17 abB	0,14 bD	0,16			
	720min	0,16 abBC	0,13 bcC	0,12 cC	0,18 aBC	0,15			
	Médias	0,17	0,18	0,16	0,17				
Onda R (mV)	0min	1,01 aAB	0,94 abC	0,93 abCD	0,86 bC	0,93	0,0016	<0,0001	<0,0001
	60min	1,06 bA	1,11 abB	1,18 aA	1,03 bB	1,09			
	120min	1,04 aA	1,07 aB	1,02 aBC	1,05 aB	1,04			
	240min	0,92 abB	0,97 aC	0,84 bD	0,91 abC	0,91			
	360min	1,09 bA	1,22 aA	1,06 bB	1,06 bB	1,10			
	720min	1,08 bA	1,19 abAB	1,12 abAB	1,24 aA	1,16			
	Médias	1,03	1,08	1,02	1,02				
Segmento PR (ms)	0min	87,10 bD	90,55 abB	91,77 abCD	95,16 aCD	91,27	0,0024	<0,0001	0,0005
	60min	89,10 aCD	86,55 aB	87,05 aD	89,22 aD	88,11			
	120min	101,99 bA	106,55 abA	110,94 aA	106,33 abA	106,45			
	240min	91,00 abCD	88,44 bB	97,22 aBC	95,16 abCD	92,95			
	360min	97,38 bAB	104,27 aA	99,83 abB	102,83 abAB	101,08			
	720min	96,27 abAC	103,00 aA	95,44 bBC	98,94 abBC	98,41			
	Médias	93,98	96,56	97,04	97,94				
Segmento QRS (ms)	0min	56,16 cAB	58,55 bcAB	65,89 aA	64,77 abA	61,34	0,0012	<0,0001	<0,0001
	60min	54,61 aB	51,33 abC	53,61 aC	48,00 bD	51,88			
	120min	57,11 aAB	58,05 aA	57,89 aB	59,77 aAB	58,20			
	240min	54,55 aB	54,33 aBC	54,55 aC	55,00 aC	54,61			
	360min	56,72 aAB	56,55 aAB	59,11 aB	57,22 aBC	57,40			
	720min	58,83 bA	59,50 bA	63,77 aA	61,00 abAB	60,77			
	Médias	56,33	56,38	59,13	57,63				

TABELA 3 – Valores médios dos parâmetros eletrocardiográficos obtidos por meio de ECG ambulatorial de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

(Continuação)

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
Segmento QT (ms)	0min	226,22 aA	220,00 aB	228,89 aAB	222,55 aBC	224,41	0,0248	<0,0001	<0,0001
	60min	211,33 aC	220,22 aB	217,16 aCD	213,61 aC	215,58			
	120min	215,27 abBC	212,94 abB	207,16 bD	218,16 aBC	213,88			
	240min	224,77 bAB	237,61 aA	234,11 abA	238,33 aA	233,70			
	360min	231,89 abA	236,66 aA	222,11 bBC	225,39 bB	229,01			
	720min	227,49 abA	234,11 aA	223,22 bAC	224,55 abB	227,34			
	Médias	222,83	226,92	222,83	223,76				
Onda P (mV)	0min	0,13 aC	0,15 aBC	0,12 aC	0,12 aD	0,13	0,0063	<0,0001	<0,0001
	60min	0,14 bC	0,18 aB	0,17 abB	0,15 abCD	0,16			
	120min	0,22 aA	0,22 aA	0,19 aAB	0,21 aAB	0,21			
	240min	0,18 cB	0,24 aA	0,21 bcA	0,22 abA	0,21			
	360min	0,18 aB	0,17 abBC	0,17 abB	0,14 bD	0,16			
	720min	0,16 abBC	0,13 bcC	0,12 cC	0,18 aBC	0,15			
	Médias	0,17	0,18	0,16	0,17				
Onda R (mV)	0min	1,01 aAB	0,94 abc	0,93 abCD	0,86 bC	0,93	0,0016	<0,0001	<0,0001
	60min	1,06 bA	1,11 abB	1,18 aA	1,03 bB	1,09			
	120min	1,04 aA	1,07 aB	1,02 aBC	1,05 aB	1,04			
	240min	0,92 abB	0,97 aC	0,84 bD	0,91 abC	0,91			
	360min	1,09 bA	1,22 aA	1,06 bB	1,06 bB	1,10			
	720min	1,08 bA	1,19 abAB	1,12 abAB	1,24 aA	1,16			
	Médias	1,03	1,08	1,02	1,02				
Segmento ST (ms)	0min	0,00 aB	0,00 aC	0,00 aC	0,00 aC	0,00	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	60min	0,11 bA	0,15 aA	0,09 bA	0,16 aA	0,13			
	120min	0,00 bB	0,07 aB	0,04 aB	0,07 aB	0,04			
	240min	0,00 aB	0,01 aC	0,00 aC	0,00 aC	0,00			
	360min	0,00 bB	0,10 aB	0,00 bC	0,00 bC	0,02			
	720min	0,00 aB	0,02 aC	0,00 aC	0,00 aC	0,00			
	Médias	0,01	0,06	0,02	0,04				
Eixo Elétrico Médio	0min	40,77	47,33	42,16	39,94	42,55 C	0,5075	<0,0001	0,3209
	60min	44,66	37,83	46,66	36,33	41,37 C			
	120min	39,83	54,55	56,33	49,22	49,98 BC			
	240min	68,50	70,33	74,44	71,22	71,12 A			
	360min	59,33	55,55	53,94	61,00	57,45 A			
	720min	66,89	70,66	63,55	64,77	76,47 A			
	Médias	53,33 a	56,04 a	56,18 a	53,75 a				

TABELA 3 – Valores médios dos parâmetros eletrocardiográficos obtidos por meio de ECG ambulatorial de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

(Continuação)

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
Segmento QTc (ms)	0min	253,44 abB	263,66 aB	254,72 abBC	242,00 bB	253,47	0,0010	<0,0001	<0,0001
	60min	270,88 aAB	276,89 aB	269,27 aAB	282,83 aA	274,97			
	120min	265,44 aAB	265,55 aB	240,05 bC	251,11 abB	255,54			
	240min	276,05 bA	304,50 aA	276,72 bA	280,27 bA	284,38			
	360min	256,11 bAB	277,72 aB	245,99 bC	247,50 bB	256,83			
	720min	263,61 aAB	236,33 bC	239,22 bC	250,66 abB	247,45			
	Médias	264,25	270,77	254,33	259,07				

Letras minúsculas: diferenças estatísticas entre tratamentos.

Letras maiúsculas: diferenças estatísticas entre tempos.

p*: diferença estatística entre tratamentos; p**: diferença estatística entre tempos; p***: diferença estatística na interação tempo/tratamento.

Observando os registros de ECG ambulatoriais obtidos antes, durante e após a administração do LASSBio 897 e do benazepril, nenhum cão apresentou anormalidades de ritmo, sendo a arritmia sinusal respiratória com marcapasso migratório e *sinus arrest* o ritmo predominante (52,78%) (Figura 5).

Quanto à avaliação da frequência cardíaca (FC) observou-se diferença estatística entre os tempos e na interação tempo/tratamento. Para todos os tratamentos, observou-se discreta elevação da FC entre 60min e 240min após a administração do protótipo.

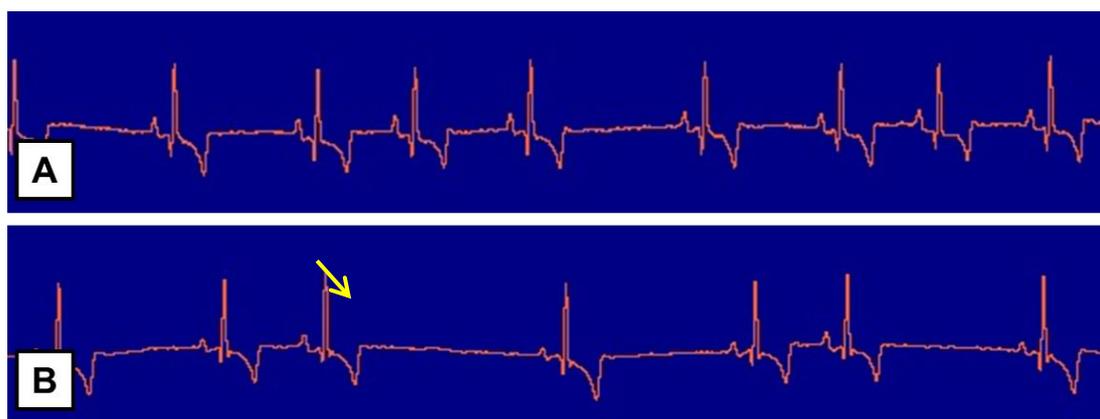


FIGURA 5 - A) Traçado eletrocardiográfico de cadela beagle mostrando arritmia sinusal respiratória e B) arritmia sinusal respiratória com presença de *sinus arrest* (seta).

Os outros parâmetros obtidos por meio de avaliação ECG ambulatorial e submetidos à análise estatística, como amplitude (mV) da onda P e R, duração (ms) dos complexos QRS, intervalos P-R e Q-T, Q-T corrigido e amplitude do segmento S-T, apresentaram diferenças estatísticas entre os tempos, entre os tratamentos e na interação tempo/tratamento.

Analisando as médias marginais obtidas, observou-se que a amplitude da onda P apresentou valores mais altos em 120min e 240min. A amplitude da onda R apresentou o valor mais alto em 720min. A duração do complexo QRS apresentou valor mais elevado na primeira avaliação (0min). A duração do intervalo P-R apresentou valor mais elevado em 120min. A duração do intervalo Q-T e no Q-T corrigido apresentaram valores mais elevados em 240min. O segmento S-T apresentou o valor mais alto em 60min.

A duração (ms) da onda P, apresentou diferença estatística entre os tempos e entre os tratamentos, porém não houve diferença na interação tempo/tratamento. Considerando os tempos, o valor mais alto foi observado em 240min. Já em relação aos tratamentos, a dose de 2,0mg/kg do protótipo apresentou diferença estatística quando comparada as outras doses, sendo nesta o menor valor observado.

O eixo cardíaco elétrico médio apresentou diferença estatística apenas entre os tempos, com os maiores valores nos tempos 240min, 360min e 720min.

Considerando a onda T, não houve diferença estatística, pois todos os registros eletrocardiográficos dos cães em todos os tempos e tratamentos apresentaram onda T bifásica.

Os dados obtidos após interpretação dos registros da eletrocardiografia em 24 horas (sistema Holter) estão apresentados na Tabela 4. Não houve diferença estatística entre os tratamentos utilizados.

TABELA 4 – Análise das variáveis obtidas por meio de ECG 24 horas (Sistema Holter) de cães da raça beagle submetidos à administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

Variáveis	Tratamentos				p*
	0,50	1,00	2,00	Benazepril	
Quantidade de QRS's	111517,70 a	112739,70 a	110010,80 a	107603,30 a	0,6736
FC mínima (bpm)	36,16 a	34,33 a	35,16 a	36,00 a	0,8490
FC máxima (bpm)	239,66 a	231,33 a	236,33 a	239,66 a	0,4878
FC média (bpm)	85,50 a	84,50 a	81,83 a	83,66 a	0,7370
Tempo de pausas	3,30 a	3,76 a	3,93 a	4,33 a	0,0900
Quantidade de elevações de ST	20,83 a	17,83 a	19,50 a	25,00 a	0,4961
Quantidade de depressões de ST	7,00 a	5,50 a	4,33 a	5,83 a	0,8205

Onde: QRS: complexos QRS; FC: frequência cardíaca; ST: segmento ST.

p* - valor estatístico da diferença entre os tratamentos

3.3. Avaliações ecodopplercardiográficas

A avaliação em modo bidimensional mostrou anatomia cardíaca e relação espacial do coração dentro da normalidade para todos os cães, considerando todos os tempos e tratamentos estudados. Algumas imagens ecodopplercardiográficas realizadas durante as fases e tratamentos experimentais estão representadas nas Figuras 6 e 7.

Os resultados obtidos após a análise das imagens ecodopplercardiográficas e medição das estruturas e fluxos, em modo M e doppler, respectivamente, comparando os tratamentos e os tempos utilizados estão apresentados nas Tabelas 5 e 6.

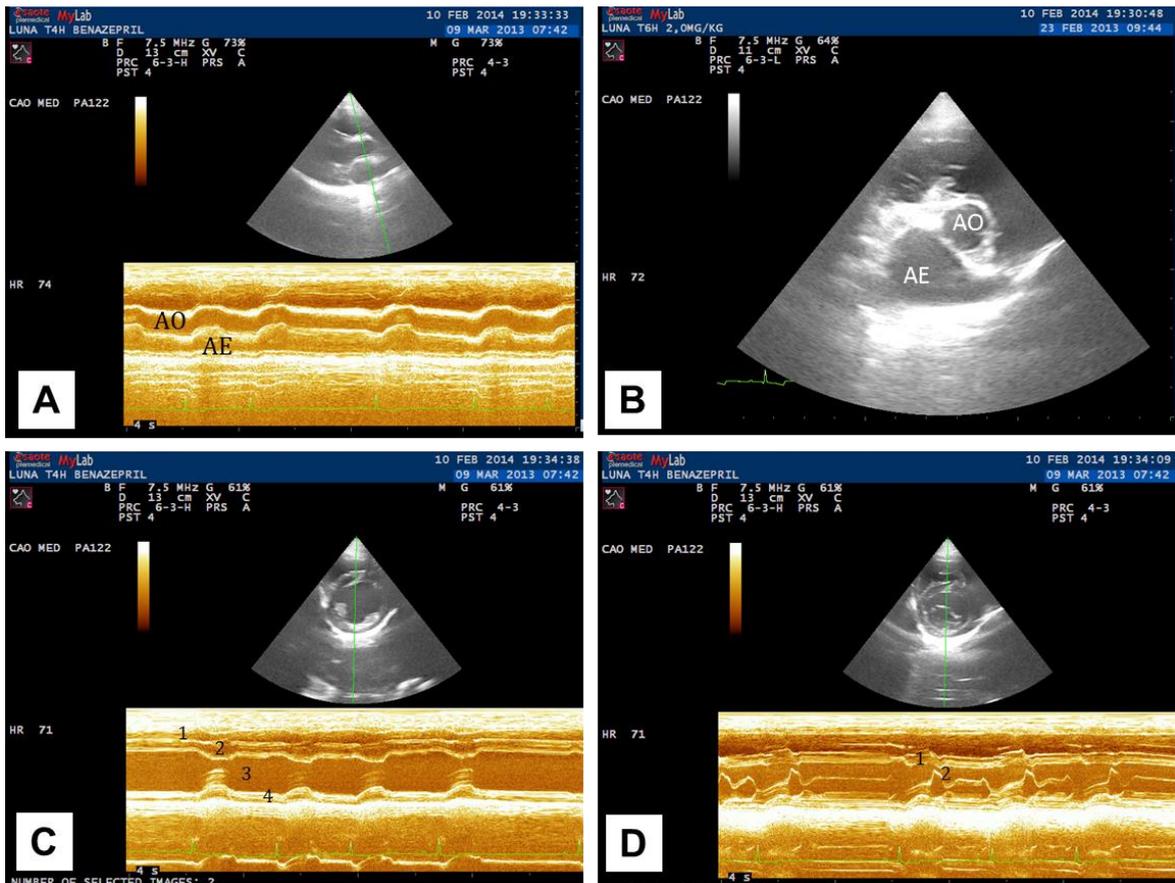


FIGURA 6 - Imagens ecodopplercardiográficas bidimensionais na parte superior e imagens em modo M na parte inferior das figuras, obtidas pela janela paraesternal direita, de cães beagle. A) corte longitudinal, mostrando aorta (Ao) e átrio esquerdo (AE); B) eixo transversal, nível da valva aórtica; C) eixo transversal, nível cordal, mostrando ventrículo direito (1), septo interventricular (2), ventrículo esquerdo (3) e parede livre do ventrículo esquerdo (4); D) eixo transversal, nível da valva mitral, mostrando septo interventricular (1) e ponto E da mitral (2).

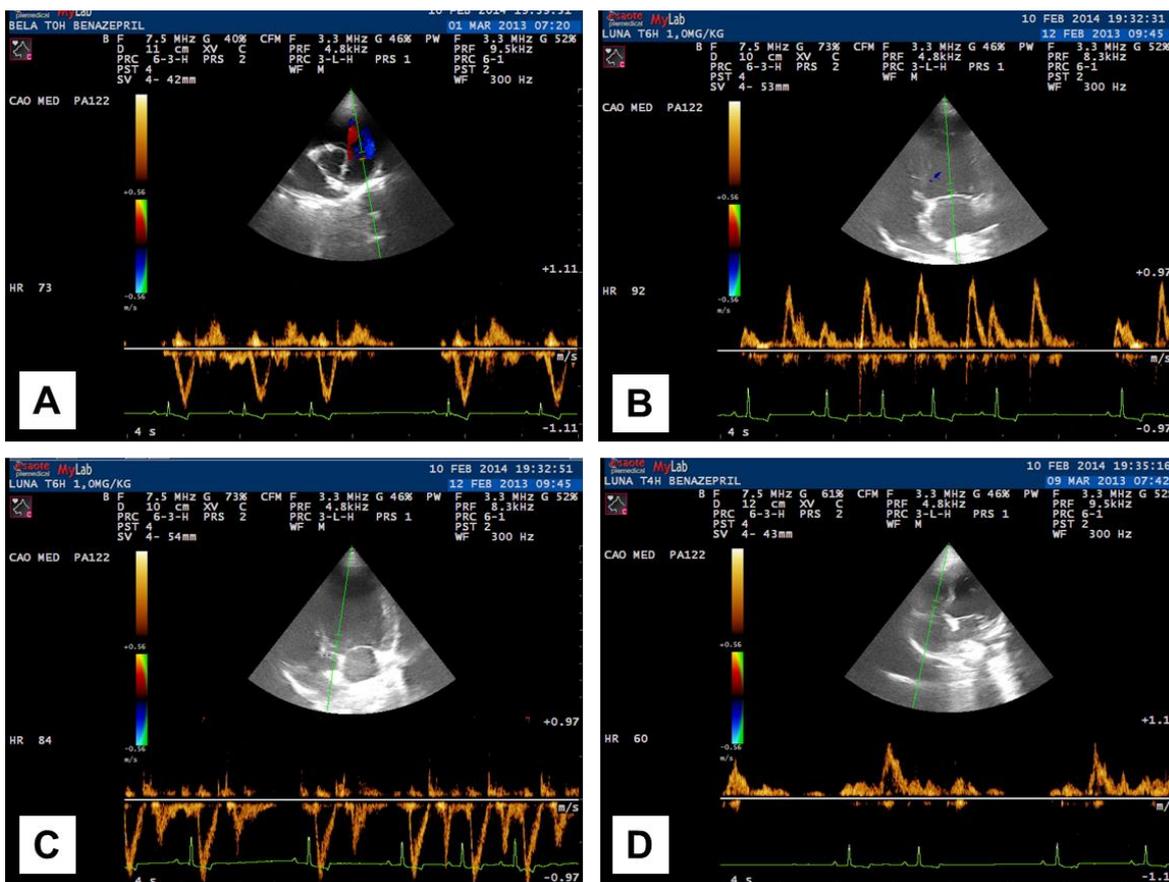


FIGURA 7 - Imagens ecodopplercardiográficas em modo doppler, de cães da raça beagle. A) Fluxo pulmonar, observado pela janela paraesternal direita, eixo transversal; B) Fluxo mitral, observado pela janela paraesternal esquerda, apical; C) Fluxo aórtico, observado pela janela paraesternal esquerda apical; D) Fluxo tricúspide, observado pela janela paraesternal esquerda apical.

TABELA 5 – Valores médios dos parâmetros ecodopplercardiográficos, em modo M de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
Ao (mm)	0 min	17,23	18,43	18,01	18,63	18,08 A	0,0914	<0.0001	0,0591
	60min	14,50	14,71	16,16	14,38	14,94 D			
	120min	14,98	16,73	16,68	18,81	16,80 BC			
	240min	15,56	15,90	15,41	15,85	15,68 D			
	360min	15,91	15,13	15,39	16,53	15,74 CD			
	720 min	17,30	17,68	16,01	16,85	16,96 B			
	Médias	15,91 a	16,43 a	16,28 a	16,84 a				
AE (mm)	0 min	21,60 bAB	24,45 aA	23,95 abA	24,83 aA	23,70	0,0145	<0.0001	0,0036
	60min	20,05 aB	19,56 aC	19,78 aC	19,40 aC	19,70			
	120min	21,87 abAB	20,86 bBC	21,20 bBC	24,23 aA	22,04			
	240min	21,47 aAB	22,20 aAB	20,55 aC	21,61 aBC	21,46			
	360min	22,53 aA	21,31 aBC	21,38 aBC	22,63 aAB	21,96			
	720 min	23,70 aA	23,80 aA	23,28 aAB	24,21 aA	23,74			
	Médias	21,87	22,03	21,69	22,82				
AE/Ao	0 min	1,26	1,32	1,32	1,34	1,31 C	0,1413	0,0001	0,1033
	60min	1,38	1,33	1,22	1,35	1,32 BC			
	120min	1,44	1,25	1,28	1,29	1,31BC			
	240min	1,38	1,39	1,37	1,37	1,37 AB			
	360min	1,40	1,40	1,38	1,37	1,39 A			
	720 min	1,36	1,34	1,44	1,42	1,39 A			
	Médias	1,37 a	1,34 a	1,33 a	1,35 a				
SSPE (mm)	0 min	1,78	1,76	1,75	1,65	1,73 B	0,5125	<0,0001	0,3626
	60min	1,21	1,30	1,3	1,3	1,27 C			
	120min	1,71	1,58	1,7	1,76	1,69 B			
	240min	1,93	1,88	1,81	1,93	1,89 A			
	360min	1,65	1,65	1,81	1,8	1,72 B			
	720 min	1,68	1,65	1,71	1,65	1,67 B			
	Médias	1,66 a	1,63 a	1,68 a	1,68 a				
DIVEs (mm)	0 min	20,75 bB	22,70 abA	22,75 abA	23,75 aA	22,48	0,0019	<0,0001	<0,0001
	60min	18,68 aCD	18,30 abB	16,70 bC	18,61 abBC	18,07			
	120min	19,95 abBC	19,08 bB	21,31 aAB	20,26 abB	20,15			
	240min	17,60 aD	17,61 aB	17,63 aC	15,41 bD	17,06			
	360min	17,98 aCD	18,70 aB	16,73 aC	18,28 aC	17,92			
	720 min	23,76 aA	22,28 abA	20,71 bC	23,03 aA	22,45			
	Médias	19,79	19,78	19,30	19,89				

TABELA 5 – Valores médios dos parâmetros ecodopplercardiográficos, em modo M de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

(Continuação)

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
DIVEd (mm)	0 min	37,69 aA	37,93 aA	37,75 aA	38,01 aA	37,84	0,0084	<0,0001	0,0060
	60min	30,88 aBC	29,91 aBC	28,15 aC	30,26 aC	29,80			
	120min	33,31 aB	32,43 aB	34,05 aB	34,60 aB	33,59			
	240min	28,76 aC	28,95 aC	28,98 aC	26,20 aD	28,22			
	360min	30,43 aBC	30,49 aBC	29,20 aC	30,96 aC	30,27			
	720 min	39,73 aA	36,60 bA	35,58 bAB	38,49 abA	37,60			
	Médias	33,47	32,72	32,28	33,09				
SIVs (mm)	0 min	15,80 aA	14,81 aA	14,66 abA	13,01 bAB	14,57	0,0443	<0,0001	0,0171
	60min	11,78 aC	12,01 aC	11,88 aC	11,76 aB	11,86			
	120min	14,08 aAB	14,00 aAB	14,20 aAB	14,16 aA	14,11			
	240min	11,86 aC	11,80 aC	12,56 aBC	11,70 aB	11,98			
	360min	12,51 aBC	12,92 aBC	11,47 aC	11,31 aB	12,05			
	720 min	14,33 aA	13,01 aBC	13,95 aAB	12,74 aAB	13,51			
	Médias	13,39	13,09	13,12	12,45				
SIVd (mm)	0 min	10,64 aA	10,83 aA	10,43 abA	8,83 bA	10,18	0,0169	<0,0001	0,0062
	60min	8,46 bBC	9,36 abAB	10,18 aAB	9,05 abAB	9,26			
	120min	8,58 aBC	8,68 aBC	8,18 aBC	8,10 aAC	8,67			
	240min	6,98 aC	7,16 aC	8,18 aC	8,10 aC	7,60			
	360min	8,43 aBC	8,23 aBC	7,37 aBC	7,36 aBC	7,85			
	720 min	9,91 aAB	8,81 aBC	8,61 aBC	8,18 aBC	8,88			
	Médias	8,83	8,84	8,95	8,33				
PLVEs (mm)	0 min	10,74	10,36	10,36	10,83	10,57 B	0,2121	<0,0001	0,0554
	60min	8,28	7,95	8,66	8,71	8,40 C			
	120min	12,04	10,61	10,61	10,78	11,01 AB			
	240min	11,21	11,38	11,45	12,60	11,66 A			
	360min	10,11	11,41	12,28	11,36	11,29 AB			
	720 min	10,18	10,35	10,71	10,61	10,46 B			
	Médias	10,43 a	10,34 a	10,68 a	10,81 a				
PLVEd (mm)	0 min	7,01 aBD	6,41 aAB	6,21 aBC	7,50 aB	6,78	0,0053	<0,0001	0,006
	60min	6,06 aD	5,55 aB	5,68 aC	5,50 aC	5,70			
	120min	8,45 aAB	7,08 aAB	6,90 aAC	6,81 aBC	7,31			
	240min	8,05 abBC	7,66 bA	8,28 abA	9,56 aA	8,38			
	360min	9,90 aA	7,78 bA	7,94 bAB	7,25 bB	8,22			
	720 min	6,56 aCD	6,31 aAB	6,81 aAC	6,55 aBC	6,56			
	Médias	7,67	6,80	6,97	7,19				

TABELA 5 – Valores médios dos parâmetros ecodopplercardiográficos, em modo M de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

(Continuação)

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
DVDd (mm)	0 min	6,49	4,53	5,08	11,1	6,80 A	0,2025	0,0052	0,1152
	60min	4,80	3,98	3,86	4,68	4,33 B			
	120min	5,62	7,40	7,10	7,41	6,88 A			
	240min	5,51	4,98	6,23	5,31	5,51 AB			
	360min	5,28	5,01	5,35	5,26	5,23 AB			
	720 min	4,41	5,76	4,85	4,95	4,99 AB			
	Médias	5,35 a	5,27 a	5,41 a	6,45 a				
FE (%)	0 min	77,09	71,50	71,83	71,50	72,98 A	0,0911	0,4970	0,2330
	60min	71,16	69,83	73,16	70,33	71,12 A			
	120min	72,30	73,16	68,33	73,50	71,82 A			
	240min	71,00	71,50	71,33	74,00	71,95 A			
	360min	72,31	71,08	73,30	72,66	71,95 A			
	720 min	71,16	70,33	73,2	72,43	71,78 A			
	Médias	72,50 a	71,23 a	71,86 a	72,40 a				
FS (%)	0 min	45,12	40,33	39,66	39,16	41,07 A	0,0286	0,2006	0,2100
	60min	39,50	37,50	40,66	38,66	39,08 A			
	120min	40,27	41,00	37,33	41,66	40,06 A			
	240min	38,66	39,16	39,00	41,16	39,50 A			
	360min	40,80	38,83	39,19	40,73	39,89 A			
	720 min	40,16	39,00	41,43	41,14	40,43 A			
	Médias	40,75 a	39,30 b	39,54 ab	40,42 ab				

Onde: Ao: aorta; AE: átrio esquerdo; AE/Ao: relação átrio esquerdo/aorta; SSPE: separação septal do ponto E da mitral; DIVES: diâmetro interno do ventrículo esquerdo em sístole; DIVEd: diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole; SIVs: septo interventricular em sístole; SIVd: septo interventricular em diástole; PLVEs: parede livre do ventrículo esquerdo em sístole; PLVEd: parede livre do ventrículo esquerdo em diástole; DVDd: diâmetro do ventrículo direito em diástole; FE: fração de ejeção; FS: fração de encurtamento.

Letras minúsculas: diferenças estatísticas entre tratamentos.

Letras maiúsculas: diferenças estatísticas entre tempos.

p*: diferença estatística entre tratamentos; p**: diferença estatística entre tempos; p***: diferença estatística na interação tempo/tratamento.

TABELA 6 – Valores médios dos parâmetros ecodopplercardiográficos, em modo doppler de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
VS (mL/bat.)	0 min	23,81	25,55	28,66	24,00	25,50 AB	0,3463	<0,0001	0,0560
	60min	26,28	24,81	24,51	24,51	25,03 AB			
	120min	20,74	23,46	24,05	24,30	23,14 B			
	240min	14,50	14,83	16,05	12,90	14,57 C			
	360min	18,16	18,38	15,57	13,45	16,39 C			
	720 min	28,16	25,33	22,4	28,04	25,98 C			
	Médias	21,87 a	22,06 a	21,87 a	21,20 a				
DC (L/min)	0 min	1,96	2,06	2,31	1,90	2,06 A	0,9008	<0,0001	0,0661
	60min	2,14	2,13	2,11	2,21	2,14 A			
	120min	1,65	2,10	1,85	1,93	1,88 A			
	240min	1,14	1,28	1,48	1,15	1,26 B			
	360min	1,39	1,54	1,29	1,15	1,34 B			
	720 min	2,31	1,71	1,81	2,44	2,07 A			
	Médias	1,77 a	1,80 a	1,81 a	1,80 a				
PVEM (cm/s)	0 min	76,42	77,38	75,18	74,71	75,92 B	0,3127	<0,0001	0,0771
	60min	65,78	63,81	67,45	67,56	66,15 D			
	120min	79,35	85,83	88,63	88,81	85,66 A			
	240min	68,66	69,36	74,96	67,88	70,22 C			
	360min	76,26	77,59	72,51	76,01	75,59 B			
	720 min	85,85	79,95	83,43	85,61	83,71 A			
	Médias	75,39 a	75,65 a	77,02 a	76,76 a				
PVAM (cm/s)	0 min	37,07	36,86	31,43	35,60	35,24 C	0,9437	<0,0001	0,8637
	60min	44,28	40,21	43,31	44,61	43,10 AB			
	120min	46,29	44,85	44,88	43,46	44,87 A			
	240min	46,5	46,08	45,31	45,35	45,81 A			
	360min	36,8	37,92	39,87	38,86	36,36 C			
	720 min	37,76	38,83	40,75	39,28	39,15 BC			
	Médias	41,45 a	40,79 a	40,92 a	41,19 a				
VMFM (cm/s)	0 min	27,80	29,23	27,36	28,35	28,18 C	0,6807	<0,0001	0,4420
	60min	34,21	33,01	34,25	34,83	34,07 A			
	120min	32,90	35,38	34,88	35,60	34,69 A			
	240min	30,35	32,86	35,08	29,16	31,86 AB			
	360min	29,25	28,60	29,97	27,31	28,78 BC			
	720 min	33,08	32,78	32	35,09	33,23 A			
	Médias	31,26 a	31,98 a	32,26 a	31,72 a				

TABELA 6 – Valores médios dos parâmetros ecodopplercardiográficos, em modo doppler de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

(Continuação)

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
E/A Mitral	0 min	2,07	2,18	2,31	2,12	2,17 A	0,7803	<0,0001	0,4106
	60min	1,48	1,58	1,56	1,52	1,54 C			
	120min	1,79	1,92	2,00	2,05	1,94 B			
	240min	1,47	1,51	1,68	1,51	1,54 C			
	360min	2,04	2,03	1,81	1,96	1,96 B			
	720 min	2,29	2,07	2,11	2,22	2,17 A			
	Médias	1,86 a	1,88 a	1,91 a	1,90 a				
PVEM (cm/s)	0 min	76,42	77,38	75,18	74,71	75,92 B	0,3127	<0,0001	0,0771
	60min	65,78	63,81	67,45	67,56	66,15 D			
	120min	79,35	85,83	88,63	88,81	85,66 A			
	240min	68,66	69,36	74,96	67,88	70,22 C			
	360min	76,26	77,59	72,51	76,01	75,59 B			
	720 min	85,85	79,95	83,43	85,61	83,71 A			
	Médias	75,39 a	75,65 a	77,02 a	76,76 a				
PVAM (cm/s)	0 min	37,07	36,86	31,43	35,60	35,24 C	0,9437	<0,0001	0,8637
	60min	44,28	40,21	43,31	44,61	43,10 AB			
	120min	46,29	44,85	44,88	43,46	44,87 A			
	240min	46,5	46,08	45,31	45,35	45,81 A			
	360min	36,8	37,92	39,87	38,86	36,36 C			
	720 min	37,76	38,83	40,75	39,28	39,15 BC			
	Médias	41,45 a	40,79 a	40,92 a	41,19 a				
VMFM (cm/s)	0 min	27,80	29,23	27,36	28,35	28,18 C	0,6807	<0,0001	0,4420
	60min	34,21	33,01	34,25	34,83	34,07 A			
	120min	32,90	35,38	34,88	35,60	34,69 A			
	240min	30,35	32,86	35,08	29,16	31,86 AB			
	360min	29,25	28,60	29,97	27,31	28,78 BC			
	720 min	33,08	32,78	32	35,09	33,23 A			
	Médias	31,26 a	31,98 a	32,26 a	31,72 a				
VMFA (cm/s)	0 min	54,14	48,98	53,91	48,15	51,29 A	0,0756	<0,0001	0,3462
	60min	54,66	52,18	50,16	50,98	52,00 A			
	120min	52,17	55,01	49,55	50,01	51,69 A			
	240min	42,76	44,13	46,56	41,80	43,81 B			
	360min	52,36	52,69	47,48	51,88	51,10 A			
	720 min	51,8	46,66	47,21	49,03	48,67 A			
	Médias	51,31 a	49,94 a	49,15 a	48,64 a				

TABELA 6 – Valores médios dos parâmetros ecodopplercardiográficos, em modo doppler de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

(Continuação)

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
PVFA (cm/s)	0 min	90,41	86,60	93,13	84,40	88,63 A	0,7011	<0,0001	0,3161
	60min	87,00	84,23	84,68	84,31	85,05 A			
	120min	85,60	96,38	93,01	89,45	91,11 A			
	240min	71,20	71,35	77,38	70,00	72,48 B			
	360min	85,88	91,56	78,54	88,01	85,99 A			
	720 min	91,76	89,40	88,35	90,98	90,12 A			
	Médias	85,31 a	86,58 a	85,84 a	84,52 a				
VMFT (cm/s)	0 min	26,21	28,76	27,36	27,25	27,40 BC	0,5116	<0,0001	0,2405
	60min	30,65	28,46	30,46	27,38	29,24 AB			
	120min	27,36	30,98	30,61	30,66	29,90 AB			
	240min	26,75	27,83	30,03	30,40	28,75 AB			
	360min	24,50	24,69	26,52	26,81	25,63 C			
	720 min	32,35	31,18	30,45	31,04	31,25 A			
	Médias	27,97 a	28,65 a	29,24 a	28,92 a				
E/A Tricúspide	0 min	1,74	2,04	1,91	1,84	1,88 B	0,2720	<0,0001	0,6002
	60min	1,61	1,7	1,81	1,71	1,71 C			
	120min	1,64	1,65	1,75	1,74	1,70 C			
	240min	1,61	1,66	1,53	1,48	1,57 C			
	360min	1,99	2,17	1,92	2,04	2,03 AB			
	720 min	2,20	2,25	2,16	2,19	2,20 A			
	Médias	1,80 a	1,91 a	1,85 a	1,83 a				
VMFP (cm/s)	0 min	62,70	58,70	57,76	49,78	57,23 A	0,0532	<0,0001	0,4319
	60min	50,28	53,08	49,06	48,30	50,18 B			
	120min	49,40	50,70	46,70	44,20	47,75 B			
	240min	45,35	47,35	46,50	46,60	46,45 B			
	360min	52,96	48,67	45,47	46,81	47,21 B			
	720 min	52,96	51,95	50,01	48,32	50,81 B			
	Médias	51,43 a	51,74 a	49,25 a	47,33 a				
PVFP (cm/s)	0 min	101,9	98,96	94,28	82,61	94,44 A	0,0228	<0,0001	0,5770
	60min	77,68	82,20	74,85	75,75	77,62 B			
	120min	82,45	85,38	77,48	74,73	80,01 B			
	240min	77,81	73,01	76,08	76,88	75,95 B			
	360min	79,24	83,93	76,38	78,50	79,51 B			
	720 min	82,58	83,50	83,16	77,19	81,61 B			
	Médias	83,61 ab	84,50 a	80,37 ab	77,61 b				

TABELA 6 – Valores médios dos parâmetros ecodopplercardiográficos, em modo doppler de cães da raça beagle submetidos a administração oral de três doses únicas de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

(Continuação)

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
PVET (cm/s)	0 min	57,86	67,31	61,28	61,75	62,05 CD	0,0028	<0,0001	0,0686
	60min	58,13	56,25	60,38	59,51	58,57 D			
	120min	61,62	71,10	71,03	70,20	68,48 B			
	240min	59,45	60,30	65,10	61,90	61,68 CD			
	360min	60,60	65,27	64,78	72,10	65,69 BC			
	720 min	72,70	73,71	71,81	75,38	73,40 A			
	Médias	61,72 b	65,65 a	65,73 a	66,80 a				
PVAT (cm/s)	0 min	34,22	33,33	32,30	33,91	33,44 B	0,5977	<0,0001	0,1628
	60min	44,40	33,33	33,55	34,86	36,53 AB			
	120min	37,90	43,61	40,95	40,71	40,79 A			
	240min	37,11	36,96	42,66	41,93	39,67 A			
	360min	32,09	29,87	33,66	35,98	32,90 B			
	720 min	33,05	33,00	33,63	34,62	33,57 B			
	Médias	36,46 a	35,02 a	36,12 a	37,00 a				

Onde: VS: volume sistólico; DC: débito cardíaco; PVEM: pico de velocidade da onda E mitral; PVAM: pico de velocidade da onda A mitral; VMFM: velocidade média do fluxo mitral; E/A mitral: relação entre as ondas E e A mitral; VMFA: velocidade média do fluxo aórtico; PVFA: pico de velocidade do fluxo aórtico; VMFT: velocidade média do fluxo tricúspide; E/A tricúspide: relação entre as ondas E e A tricúspide; VMFP: velocidade média do fluxo pulmonar; PVFP: pico de velocidade do fluxo pulmonar; PVET: pico de velocidade da onda E tricúspide; PVAT: pico de velocidade da onda A tricúspide.

Letras minúsculas: diferenças estatísticas entre tratamentos.

Letras maiúsculas: diferenças estatísticas entre tempos.

p*: diferença estatística entre tratamentos; p**: diferença estatística entre tempos; p***: diferença estatística na interação tempo/tratamento.

Quanto à análise estatística dos parâmetros em modo M houve diferença em relação aos tratamentos, tempos e na interação tempo/tratamento à exceção das variáveis: diâmetro da aorta (Ao), relação átrio esquerdo/aorta (AE/Ao), separação septal do ponto E da mitral (SSPE), parede livre do ventrículo esquerdo em sístole (PLVEs), diâmetro do ventrículo direito em diástole (DVDd) que apresentaram diferenças apenas em relação aos tempos.

Considerando os valores médios marginais, as menores médias encontradas para o AE foram no tempo 60min e no tratamento 0,5 e 2,0mg/kg do LASSBio 897. As médias do DIVEs foram maiores nos tempos 0min e 720min e menores no tempo 240min. Em relação aos tratamentos, a dose de 2,0mg/kg do protótipo proporcionou as menores médias. O DIVEd mostrou médias maiores nos tempos 0min e 720min e no tratamento 0,5mg/kg do LASSBio 897 e menores no tempo 240min e na dose de 2,0mg/kg do protótipo. Observando as médias do SIV na sístole e diástole foram encontradas maiores médias no tratamento

0,5mg/kg para o SIVs e 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg do LASSBio 897 para o SIVd. Para o PLVEs e o PLVEd foram observadas as menores médias no tempo 60min.

As maiores médias marginais para os valores obtidos por meio do modo M: Ao, AE/Ao, SSPE, PLVEs e DVDd, foram observadas nos tempos 0min; 360 e 720min; 240min; 120min, 240min e 360min; 60min, respectivamente.

A fração de encurtamento (FS) apresentou diferença estatística apenas entre os tratamentos, com a menor média observada na dose de 1,0mg/kg e a maior na dose de 0,5mg/kg, ambas do LASSBio 897. Não houve diferença estatística para a variável fração de ejeção (FE).

As variáveis mensuradas em modo doppler, apresentaram diferenças apenas em relação aos tempos.

As menores médias marginais para os valores: VS, DC, PVEM, PVAM, VMFM, E/Am, VMFA, PVAT, VMFT, E/At, VMFP e PVFP, foram observadas nos tempos 240min e 360min; 240min e 360min; 60min; 0min e 360min; 0min e 360min; 60min e 240min; 240min; 240min; 360min; 60min, 120min e 240min; a partir de 60min, respectivamente.

Para os parâmetros pico de velocidade da onda E do fluxo tricúspide (PVET) foram observadas diferenças estatísticas entre tratamentos e tempos. As médias do PVET foram maiores no tempo 720min e menores na dose de 0,5mg/kg do LASSBio 897.

4. DISCUSSÃO

A administração por via oral do protótipo LASSBio 897 não provocou efeitos adversos ou sinais de intoxicação agudos, assim como observado por NASCIUTTI et al. (2013), em estudo piloto com cão e em estudo toxicológico realizado em ratos por SUDO et al., (2010).

Os valores de PAS obtidos por meio do doppler vascular em todos os tempos e tratamentos contemplaram os valores considerados normais para os cães, considerando o dispositivo utilizado para a mensuração (REMILLARD et al., 1991; STEPIEN & RAPOPORT, 1999; SOARES et al., 2012). Contudo, WARE

(2007) relata que podem ocorrer variações da PAS relacionadas com a idade, sexo e estado reprodutivo, bem como com o dispositivo utilizado para a mensuração, a ansiedade do paciente e a experiência do avaliador. No tempo de 720min observaram-se os valores mais altos para PAS, este fato se deve, provavelmente, à diminuição da biodisponibilidade do protótipo a fármaco ou ainda ao estresse dos animais, devido às seguidas contenções.

CABRAL et al. (2010) realizando estudo comparativo entre os métodos indiretos doppler vascular e oscilométrico na mensuração da PA de cães constataram que a média das aferições com o doppler (128,2mmHg) foram maiores do que as obtidas com o método oscilométrico (125,68mmHg), diferente do que pode ser observado nos resultados deste estudo. Entretanto, os aparelhos oscilométricos utilizados para mensuração foram diferentes.

TEBALDI et al. (2012) avaliaram a PA de 150 cães utilizando o mesmo dispositivo oscilométrico (PetMap[®]) e obtiveram médias da PAS, PAD e PAM maiores do que as obtidas no presente estudo. Contudo, os cães incluídos no grupo experimental destes autores não foram avaliados quanto à sua higidez. Já RATTEZ et al. (2010) estudando a PA de cães da mesma raça e com o mesmo dispositivo obtiveram médias maiores do que as obtidas nesta pesquisa, contudo as mensurações no estudo dos autores, foram realizadas por veterinários generalistas que fizeram o treinamento por apenas uma hora e com animais que não estavam habituados a serem contidos.

Na avaliação da PAS com a utilização do doppler vascular foi possível observar que, apesar de não ter havido diferença estatística entre os tratamentos, a dose de 2,0mg/kg de LASSBio 897 foi a que mais se aproximou do efeito vasodilatador quando comparada ao benazepril. O benazepril pertence à classe de fármacos preconizados para o início do tratamento da HAS em cães (WARE, 2006), sendo um dos fármacos vasodilatadores mais comumente utilizados nesta espécie (BONAGURA & STEPIEN, 2008). Utilizando-se o dispositivo PetMap[®], a dose que mais se aproximou aos efeitos do benazepril foi a de 1,0mg/kg, assemelhando-se aos resultados anteriormente obtidos no estudo piloto realizado por NASCIUTTI et al. (2013). A dose de 0,5mg/kg foi a mais ineficiente com a utilização deste dispositivo.

Analisando-se os valores de PAS encontrados com os dois dispositivos de mensuração não-invasiva observou-se que, apesar dos valores obtidos com o doppler vascular serem menores dos que os obtidos com o PetMap[®], todos eles se encontram dentro dos valores de normalidade para a espécie canina, não sendo observado superestimação deste parâmetro, característica que foi descrita por TEBALDI et al. (2012). Sendo assim, o dispositivo PetMap[®] mostra-se eficiente para mensuração da PAS, além de fornecer valores de PAD e PAM. Ressaltando que, este dispositivo fornece dados mais confiáveis quando o avaliador é bem treinado para utilizar o aparelho e quando os cães permanecem em repouso no momento da mensuração.

Analisando o comportamento da curva pressórica em 12 horas de avaliação, foi possível confirmar o efeito vasodilatador e a segurança do protótipo LASSBio897 em cães da raça beagle saudáveis, pois promoveram vasodilatação semelhante ao observado com o benazepril, contudo não gerou hipotensão, mesmo na maior dose testada.

Contextualizando a segurança atribuída ao protótipo testado, segundo STEPIEN (2010) a hipotensão é diagnosticada quando são encontrados valores de PAS menores que 100mmHg na maioria das espécies, e esta condição pode estar relacionada com o uso excessivo de fármacos vasodilatadores. O efeito vasodilatador e a ausência de hipotensão com a utilização do benazepril, fármaco já utilizado no tratamento de cães com HAS e insuficiência cardíaca congestiva, foi também constatado em estudo realizado por PEREIRA et al., (2005).

Não foram observados eventos arrítmicos nos cães submetidos aos tratamentos com o protótipo LASSBio 897 e com o benazepril, resultado anteriormente observado em estudo piloto realizado por NASCIUTTI et al. (2013). Todos os cães apresentaram arritmia sinusal respiratória com marcapasso migratório, ritmo considerado normal para a espécie em estudo. Alguns deles, em algumas avaliações, apresentaram ainda *sinus arrest* ou parada sinusal, esta particularidade também pode ser considerada normal, pois em situações de repouso podem ocorrer aumento do tônus vagal e intensificação da arritmia sinusal respiratória (TILLEY, 1992).

A FC é um parâmetro altamente variável em cães como relatado por HANTON & RABEMAMPIANINA (2006) e observado no presente estudo. Várias

condições podem alterar a FC, como por exemplo, o tratamento com fármacos e condições experimentais, principalmente ligadas ao estresse e excitação. Entretanto, mesmo apresentando diferenças estatísticas entre tempos e na interação tempo/tratamento, os valores obtidos foram semelhantes aos descritos como normais para a espécie canina (KITTLESON, 1998; GABAY, 2003). Observa-se que no tempo de 240min a FC aumenta, tempo imediatamente após o momento em que a PA encontra-se mais baixa, este aumento da FC pode ocorrer em virtude de mecanismos compensatórios que atuam com a finalidade de manter um DC adequado quando ocorrem quedas na PA (DESMARÁS & MUCHA, 2003).

Em relação aos parâmetros duração (ms) e amplitude (mV) das ondas P e dos complexos QRS, duração dos intervalos P-R e Q-T, Q-T corrigido, amplitude do segmento S-T e da onda T, todos estavam normais para a espécie canina (TILLEY, 1992; WARE, 2007). Em estudo realizado por GAVA et al. (2011), utilizando o mesmo aparelho de ECG e mesma raça de cães, foram obtidas médias semelhantes às observadas no presente estudo para parâmetros como duração do intervalo P-R, do complexo QRS e do intervalo Q-T, para as outras variáveis, as médias observadas neste estudo foram menores.

Segundo HANTON & RABEMAMPIANINA (2006) variáveis como intervalo Q-T e morfologia das ondas T são geralmente consideradas importantes na monitoração cardiovascular em estudos toxicológicos e farmacológicos realizados em cães, o que reforça que o protótipo LASSBio 897 é seguro, já que não foram observadas arritmias nem alterações nesses parâmetros.

As médias referentes ao eixo elétrico, variável que descreve a orientação média da despolarização ventricular (GABAY, 2003), são semelhantes aos valores encontrados por WOLF et al. (2000). Embora algumas médias isoladas estejam abaixo dos valores considerados normais pra espécie, esta alteração, isoladamente, não representa importância clínica e pode ser observada em cães normais (TILLEY, 1992).

Em relação às análises do Holter, considerando o parâmetro FC (mínima, máxima e média) e tempo máximo de pausas não foram observadas diferenças estatísticas e todas as médias encontradas estão dentro dos intervalos considerados normais, sendo que a FC mínima pode ser de até 17bpm e a

máxima de 300bpm (PETRIE et al., 2005). Segundo TILLEY (1992) em períodos de sono ou repouso a predominância do estímulo vagal pode resultar em grandes pausas, o que caracteriza parada sinusal. Os resultados obtidos nesse estudo confirmam essa característica, detectando a arritmia sinusal como ritmo predominante nos registros avaliados e pausas de até 4,33 segundos no tratamento com o benazepril, corroborando com o que foi anteriormente observado por meio da eletrocardiografia ambulatorial.

Avaliando a quantidade de complexos QRS observados em 24 horas de monitoração também não foram observadas diferenças estatísticas, contudo as médias encontradas neste estudo foram superiores aos do estudo realizado por LEOMIL NETO et al. (2002) em cães da raça cocker spaniel, boxer e dobermans. Em relação aos valores de elevação e depressão do segmento S-T as médias estavam dentro dos valores considerados normais para os cães (TILLEY, 1992).

Quando foram avaliados os resultados obtidos pelo ECG ambulatorial em relação aos obtidos com o ECG em 24 horas (sistema Holter) foi possível observar que o método dinâmico apresentou valores semelhantes ao método ambulatorial, entretanto tais médias não apresentaram diferenças estatísticas diante da pequena variabilidade em 24 horas, podendo inferir segundo OLIVEIRA et al. (2011) que a análise do sistema Holter proporciona melhores resultados, uma vez que consiste em uma avaliação qualitativa e quantitativa superior, quando comparada ao ECG ambulatorial.

Apesar dos parâmetros relacionados às avaliações ecodopplercardiográficas apresentarem diferenças estatísticas, seja entre tempos, tratamentos ou na interação tempo/tratamento, todos os valores encontrados estão normais, quando comparados a outros autores em estudo com cães da raça beagle, com exceção do DC e VS, que estão abaixo dos valores indicados como normais para a espécie (WARE, 2007; BOON, 2011).

Nota-se ainda que, para esses parâmetros (DC e VS) as médias vão decrescendo até o tempo de 240min, tempo imediatamente posterior à observação do menor valor para a PA. Vale ressaltar que o DC é o volume de sangue bombeado dos ventrículos ao longo do tempo, dependendo diretamente da FC e do VS e este é o volume de sangue ejetado em cada contração (WARE,

2007). Assim, considerando que a PA é o resultado de uma série de mecanismos reguladores que trabalham de forma inter-relacionada para manter adequadamente a perfusão do organismo, quando ocorre queda na PA produz-se como resposta, pela via simpática, vasoconstrição periférica e aumento da FC (MUCHA & CAMACHO, 2003). Levando-se em consideração que o protótipo a fármaco promoveu vasodilatação a partir do tempo de 120min o aumento da FC subsequente pode ter ocorrido como uma resposta fisiológica. Entretanto, quando há aumento da FC o enchimento ventricular acontece de forma rápida, sem que haja a contração atrial. Esse encurtamento da diástole compromete momentaneamente o preenchimento ventricular, promovendo diminuição da pré-carga, caracterizada por valores menores de VS e DC (DESMARÁS & MUCHA, 2003). Adicionalmente, levando-se em consideração que a PA é resultado do DC multiplicado pela RVP, quedas na PA podem ser provocadas tanto por diminuição do DC quanto por redução na RVP e promovem como consequência queda na pós-carga (JEPSON & SYME, 2010).

Ainda é possível verificar que nos momentos em que o DC e o VS estão menores as dimensões ventriculares esquerdas consequentemente diminuem (DESMARÁS & MUCHA, 2003), o que seria esperado, considerando que as duas substâncias (LASSBio 897 e benazepril) utilizadas foram capazes de reduzir, de forma similar, tanto a pré-carga quanto a pós-carga.

Não foi constatado aumento dos índices de FE e FS em nenhum momento após administração por via oral do protótipo LASSBio 897, diferente dos resultados obtidos com o protótipo LASSBio 294 (OLIVEIRA ALVES et al., 2012), composto que deu origem ao LASSBio 897, sugerindo que este protótipo em estudo não possui efeitos inotrópicos positivos.

5. CONCLUSÕES

Levando em consideração as condições experimentais do presente estudo e os resultados obtidos pelo mesmo, pode-se afirmar que a administração das três doses únicas do LASSBio 897, por via oral, causam vasodilatação, com menores valores de PAS observados 120 minutos após sua ingestão. Além disso, o débito cardíaco e o volume sistólico diminuem, em virtude do efeito vasodilatador do protótipo, 240 minutos após a sua administração em doses únicas, por via oral. Ainda, a administração via oral do protótipo candidato a fármaco LASSBio 897 nas doses únicas de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg, 2,0mg/kg não provoca hipotensão ou arritmias em cães da raça beagle hípidos.

REFERÊNCIAS

1. BOON, J. A. **Veterinary echocardiography**. 2.ed. West Sussex: Wiley Blackwell, 2011. 632p.
2. BONAGURA, J. D.; STEPIEN, R. L. Doenças vasculares. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunders de Clínica de Pequenos Animais**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2008. cap.153, p.1608-1622.
3. BROWN, S.; ATKINS, C.; BAGLEY, R.; CARR, A.; COWGILL, L.; DAVIDSON, M.; EGNER, B.; ELLIOTT, J.; HENIK, R.; LABATO, M.; LITTMAN, M.; POLZIN, D.; ROSS, L.; SNYDER, P.; STEPIEN, R. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lakewood, v.21, n.1, p.542-558, 2007.
4. CABRAL, R. R.; CIASCA, B. D.; OLIVEIRA, V. M. C.; VAZ-CURADO, A. P.; LARSSON, M. H. M. A. Valores de pressão arterial em cães pelos métodos oscilométrico e doppler vascular. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.62, n.1, p.64-71, 2010.
5. CORRÊA, T. D.; NAMURA, J. J.; SILVA, C. A. P.; CASTRO, M. G.; MENEGHINI, A.; FERREIRA, C. Hipertensão arterial sistêmica: atualidades sobre sua epidemiologia, diagnóstico e tratamento. **Arquivo de Medicina ABC**, São Paulo, v.31, n.2, p.91-101, 2005.
6. DESMARÁS, D.; MUCHA, C. J. Hipertensão arterial. In: BELERIAN, G. C.; MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. **Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais**. 1.ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2003. cap.1, p.18-33.
7. DETWEILER, D. K. Mecanismos de controle do sistema circulatório. In: DUKES, H.H. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. cap.10, p.170-208.
8. GABAY, A. Eletrocardiografia. In: BELERIAN, G. C.; MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. **Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais**. 1.ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2003. cap.4, p. 46-51.
9. GAVA, F.N.; PAULINO-JUNIOR, D.; PEREIRA-NETO, G.B.; PASCON, J.P.E.; SOUSA, M.G.; CHANPION, T.; CAMACHO, A.A. Eletrocardiografia computadorizada em cães da raça Beagle. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.63, n.2, p.317-321, 2011.
10. HANTON, G & RABEMAMPIANINA, Y. The electrocardiogram of the Beagle dog: reference values and effect of sex, genetic strain, body position and heart rate. **Laboratory Animals**, London, v.40, n.1, p. 123–136, 2006.
11. HENIK, R. A.; DOLSON, M. K.; WENHOLZ, L.J. How to obtain a blood pressure measurement. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, Maddison, v.20, n.3, p.144-150, 2005.

12. JEPSON, R.; SYME, H. Systemic hypertension. In: FUENTES, V. L.; JOHNSON, L. R.; DENNIS, S. **BSAVA Manual of Canine e Feline Cardiorespiratory Medicine**. 2.ed. Gloucester: British Library, 2010. cap.27, p.254-263.
13. KIENLE, R. D.; THOMAS, G. N. Ecocardiografia. In: NYLAND, T.; MATTOON, J. **Ultrassom diagnóstico em pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2005. cap.18. p.363-438.
14. KITTLESON, M. D. Electrocardiography: basic concepts, diagnosis of chamber enlargement, and intraventricular conduction disturbances. In KITTLESON, M. D.; KIENLE, R. D. **Small Animal Cardiovascular Medicine**. 1.ed. St. Louis: Mosby, 1998. cap.5, p.72-94.
15. LEOMIL NETO, M.; LARSSON, M. H. M. A.; PEREIRA, L.; BRITO, F. S. Padronização da monitorização eletrocardiográfica por 24 horas em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n.2, p.1-5, 2002.
16. MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. Hipertensão arterial. In: BELERIAN, G. C.; MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. **Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais**. 1.ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2003. cap.27, p.21-217.
17. NASCIUTTI, P.R; BITTAR, I.P; CARVALHO, F.O; SOUSA FILHO, G.D; TELES, M.M.L; GUIMARAES, T.M; DE OLIVEIRA, V; FRAGA, A.M; OLIVEIRA ALVES,R. Pharmacological Profile of the Cardioactive Prototype LASSBio-897: A Preliminary Study of its Potential Vasodilatory Activity. **Online Proceedings ACVIM Forum 2013**, Seattle WA, 2013.
18. OHARA, V. Y. T. Abordagem ao paciente cardiopata. In: CAMACHO, A.A.; BELERIAN, G.; MANUBENS, J.; MUCHA, C.J. **Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais**. 1.ed. São Caetano do Sul: Interbook, cap.2, 2003. p.34-39.
19. OLIVEIRA ALVES, R.; TORRES, A. C. B.; NASCIUTTI, P. R.; BRASIL, R. C. O. L.; SOUZA, M. C. BITTAR, I. P.; DE OLIVEIRA, V.; BARREIRO, E. J. The action of a new prototype cardiogenic drug (LASSBio 294) on the cardiovascular system of dogs. **Online Proceedings ACVIM Forum 2012**, New Orleans LO, 2012.
20. OLIVEIRA, M. S.; MUZZI, R. A. L.; ARAÚJO, R. B.; NOGUEIRA, R. B.; MUZZI, L. A. L.; GIANNICO, A. T.; **Holter em animais de companhia – indicações clínicas e avaliação da variabilidade da frequência cardíaca**. Clínica Veterinária. São Paulo, n. 92, p. 78-86, 2011.
21. PEREIRA, P. M., CAMACHO, A. A., MORAIS, H. A. Tratamento da insuficiência cardíaca com benazepril em cães com cardiomiopatia dilatada e endocardiose. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n.1, p. 1-6, 2005.

22. PETRIE, J. P. Practical application of holter monitoring in dogs e cats. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, Maddison, v. 20, n.1, p.173-181, 2005.
23. PIETRO, I. D.; RODRÍGUEZ, M. B. G.; GRANJA, M. A. R.; RÁBANO, M. J. C.; PENABAD, M. P.; GARCÍA, C. C. P. M-mode echocardiographic changes in growing beagles. **Journal of the Association for Laboratory Animal Science**, Schaumburg, v.49, n.1, p.31-35, 2010.
24. RATTEZ, E.P.; REYNOLDS, B.S.; CONCORDET, D.; LAYSSOL-LAMOUR, C.J.; SEGALEN, M.M.; CHETBOUL, V.; LEFEBVRE, H.P. Within-day and between-day variability of blood pressure measurement in healthy conscious Beagle dogs using a new oscillometric device. **Journal of Veterinary Cardiology**, Toulouse, v.12, p.35-40, 2010.
25. R CORE TEAM (2013). R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL: <http://www.R-project.org/>.
26. REMILLARD, R. L.; ROSS, J. N.; EDDY, J. B. Variance of indirect blood pressure measurements and prevalence of hypertension in clinically normal dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.52, n.4, p.561-565, 1991.
27. SOARES, F. A. C.; NEUWALD, E. B.; MOMBACH, V. S.; AVILA, A. E. R.; CONRADO, F. O.; GONZÁLEZ, F. H. D. Systolic blood pressure of dogs at hospital and domestic environment. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.7, p.1243-1248, 2012.
28. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, Rio de Janeiro, n.1, v.95, supl.1, p.1-51, 2010.
29. SOUSA, M. G. **Princípios da ecocardiografia veterinária**. 1.ed., Araguaína: Universidade Federal do Tocantins, 2010, 9p.
30. STEPIEN, R. L. Blood pressure measurement. In: FUENTES, V. L.; JOHNSON, L. R.; DENNIS, S. **BSAVA Manual of Canine and Feline Cardiorespiratory Medicine**. 2.ed. Gloucester: British Library, 2010. cap.13. p.103-107.
31. STEPIEN, R. L.; RAPOPORT, G. S. Clinical comparison of the methods to measure blood pressure in nonsedated dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.215, n.11, p.1623-1628, 1999.
32. SUDO, G. Z.; PEREIRA, S. L.; BEIRAL, H. J. V.; KUMMERLE, A. E.; RAIMUNDO, J. M.; ANTUNES, F.; SUDO, R. T.; BARREIRA, E. J.; FRAGA, C. A. M. Pharmacological characterization of (3-Thienylidene)- 3,4-Methylenedioxybenzoylhydrazide: a novel muscarinic agonist with anti-hypertensive profile. **American Journal of Hipertension**, Louisville, v.23, n.1, p.135-141, 2010.

33. TEBALDI, M.; LOURENÇO, M. L. G.; MACHADO, L. H. A.; SUDANO, M. J.; CARVALHO, L. R. Estudo da pressão arterial pelo método indireto oscilométrico (petmap[®]) em cães domésticos não anestesiados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.64, n.6, p.1456-1464, 2012.
34. THOMAS, W. P.; GARBER, C. E.; JACOBS, G. J. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. The echocardiography Committee of the Specialty of Cardiology, American College of Veterinary Internal Medicine. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v.7, n.4, p.247-252, 1994.
35. TILLEY, L. P. **Essentials of canine and feline eletrocardiography**. 4.ed. Philadelphia: Lea &Febiger, 1992. 470p.
36. WARE, W.A., Doenças do Sistema Cardiovascular. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. cap.2, p.1-16.
37. WARE, W. A. **Cardiovascular disease in small animal medicine**. London: Manson Publishing Ltd, 2007. 396p.
38. WOLF, R.; CAMACHO, A. A.; SOUZA, R. C. A. Eletrocardiografia computadorizada em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.52, n.6, p.610-615, 2000.

CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO LABORATORIAL HEPÁTICA E RENAL DE CÃES DA RAÇA BEAGLE APÓS ADMINISTRAÇÃO VIA ORAL DO PROTÓTIPO A FÁRMACO VASODILATADOR LASSBio 897

CHAPTER 3. HEPATIC AND RENAL EVALUATIONS OF BEAGLE DOGS AFTER ORAL ADMINISTRATION OF THE VASODILATORY DRUG PROTOTYPE LASSBio 897

RESUMO

A maioria dos fármacos administrados e absorvidos por via oral são transportados por meio da circulação portal para o fígado, onde são submetidos a um processo metabólico hepático, seguido de eliminação pela bile ou rins. O LASSBio 897 é um novo protótipo de fármaco vasodilatador produzido a partir do substrato do safrol, encontrado em plantas brasileiras como a "canela-branca" (*Ocotea pretiosa*). Devido ao seu perfil farmacológico e a possibilidade de uma nova estratégia terapêutica, foram utilizados seis beagles, adultos, clinicamente saudáveis para avaliar sua segurança, considerando seus efeitos sobre as funções hepáticas e renais. Os cães foram submetidos a quatro tratamentos, recebendo, por via oral, doses de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg do LASSBio 897 e 0,5mg/kg de benazepril, como controle positivo. Foram submetidos a coletas de sangue e urina para avaliações da função hepática e renal. Não foram observadas alterações clínicas que sugerissem toxicidade aguda, alguns parâmetros hematológicos e de bioquímica sérica apresentaram diferenças estatísticas, porém todos contemplavam valores normais para a espécie canina. As médias encontradas para as hemácias foram menores, porém próximas do que normalmente se observa em cães. Pode-se concluir que a administração oral do protótipo a fármaco LASSBio 897 nas doses únicas utilizadas é segura, pois não foram observadas alterações importantes nas avaliações hematológicas, bioquímicas renais e hepáticas, bem como da avaliação urinária.

Palavras-chave: cão, vasodilatador.

ABSTRACT

Most drugs administered and absorbed orally is carried through the portal circulation to the liver, where they undergo a metabolic process, followed by elimination in bile or through kidneys. LASSBio 897 is a new vasodilatory drug prototype produced from safrole substrate found in Brazilian plants such as "canela-branca" (*Ocotea pretiosa*). Due to its pharmacological profile and the possibility of a new therapeutic strategy, six adult healthy beagles were used to evaluate its safety considering hepatic and renal effects. The dogs underwent four different treatments receiving oral doses of 0.5mg/kg, 1.0mg/kg and 2.0mg/kg of LASSBio 897 and 0.5mg/kg of benazepril, as a positive control. Collection of blood and urine for assessments of liver and kidney function were performed. No clinical changes suggesting acute toxicity were observed, some haematological and serum biochemistry parameters showed statistical differences but were within normal values for canine species. The average found for red blood cells count was close to the minimum value of the normal range observed in dogs. We could conclude that oral administration of the drug prototype LASSBio 897, at single doses, is safe since no significant changes in haematological, renal and hepatic biochemical evaluations were observed, as well as in urinary review.

Key-words: dog, vasodilatory

1. INTRODUÇÃO

O metabolismo de alguns fármacos abrange o conjunto de reações enzimáticas que biotransformam fármacos e outros compostos estranhos (xenobióticos) em metabólitos de polaridade crescente, para que sejam excretados pela urina. O metabolismo desempenha, assim, um importante papel em sua eliminação e impede que estes compostos permaneçam por tempo indefinido no organismo (PEREIRA, 2007). A maioria dos fármacos que são administrados e absorvidos por via oral são transportados através da circulação portal para o fígado, onde são submetidos a um processo metabólico hepático, seguido de eliminação pela bile ou rins (LI, 2001).

As lesões hepáticas associadas ao uso de medicamentos abrangem desde alterações bioquímicas e estruturais adaptativas até lesões morfológicas com danos muitas vezes irreversíveis do metabolismo ou da estrutura celular, tornando-se essencial seu monitoramento (CENTER, 1999).

Os rins exercem múltiplas funções caracterizadas como filtração, reabsorção, homeostase, funções endocrinológica e metabólica. A função primordial dos rins é a manutenção da homeostasia, que é obtida por meio da regulação dos líquidos e eletrólitos e a eliminação dos resíduos metabólitos (uréia, creatinina, ácido úrico, ácidos orgânicos, bilirrubina conjugada, fármacos e toxinas) (MOTTA, 2003; SODRÉ et al., 2007). Desta forma qualquer alteração que cause mudanças no fluxo sanguíneo renal podem modificar a taxa de excreção de substâncias e alterar a dose do medicamento que foi administrada (MADDISON et al., 2010). Por esses motivos, a análise clínica renal deve fazer parte do processo de descoberta e desenvolvimento de um novo fármaco, devendo ser avaliadas a sua estrutura e função (LANIS et al., 2008).

Dentro deste processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, a percepção de alterações hepáticas ou renais em virtude de seu metabolismo, torna possível eliminar, ainda nas fases iniciais do processo, candidatos nocivos. Diante disso, os objetivos do presente estudo foram monitorar a função renal e a atividade das enzimas hepáticas, além de possíveis alterações clínicas após administração, via oral, do LASSBio 897 em doses únicas para cães beagles hípidos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local de experimentação

Toda a metodologia empregada obedeceu aos preceitos da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório e foi previamente analisada e aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais de Laboratório da Universidade Federal de Goiás (UFG) (Protocolo 16/12 aprovado em 27/02/1012) (ANEXO 1).

O estudo experimental foi realizado nos canis do galpão de experimentação do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal (PPGCA), no Laboratório de Cardiologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG (HV/EVZ/UFG) e no Laboratório Multiusuário do PPGCA da EVZ/UFG.

2.2. Animais para experimentação

O estudo foi realizado com seis cães da raça beagle, adultos (5-9 anos), com peso entre 7kg e 14kg, clinicamente saudáveis. Os animais foram previamente vacinados e desverminados e a alimentação consistiu do fornecimento de ração normocalórica (Proplan Medium Adult[®] – Nestlé Purina) em duas refeições diárias e água à vontade.

Os cães foram alojados em baias individuais, medindo 2,85 x 0,75m, construídas em alvenaria, com paredes e piso revestidos com cimento liso, além de ter acesso à outra área descoberta, revestida por cimento rústico. Ao término do experimento os cães foram doados a proprietários previamente cadastrados.

2.3. Administração do LASSBio 897

O LASSBio 897 foi sintetizado pelo LASSBio (Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas, Rio de Janeiro – Brasil) e as cápsulas foram manipuladas pela Farmácia Escola da Faculdade de Farmácia da UFG. Os cães receberam doses únicas de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg de LASSBio 897 e 0,5mg/kg de benazepril (Lotensin[®] 5mg – Novartis, Brasil), por via oral.

As coletas de sangue para os estudos farmacocinéticos foram realizadas antes da administração dos compostos (0min), após quinze (15min), trinta (30min) e sessenta minutos (60min), uma e meia (90min), duas (120min), quatro (240min), seis (360min) e doze horas (720min) após (dados não publicados). Para as avaliações da função renal, dosagens das atividades das enzimas hepáticas e hemograma foram coletados sangue e urina antes (0min) e após doze horas (720min) da administração das cápsulas.

As avaliações clínicas foram realizadas antes (0min) e após doze horas (720min) da administração do protótipo. Os cães foram avaliados clinicamente por meio de inspeção, palpação, auscultação cardiorrespiratória, avaliação de linfonodos palpáveis e mensuração da temperatura retal.

2.4. Avaliação laboratorial para lesão hepática e renal

As amostras de sangue foram coletadas por venopunção jugular em tubos com etilenodiaminotetracetato (EDTA), para realização do hemograma (2,0mL) e estudo farmacocinético (3,0mL). Outros 5,0mL de sangue foram colhidos em tubo sem anticoagulante, centrifugado a 1500 rotações por minuto (rpm) após retração do coágulo. Em seguida, o soro e o plasma foram divididos em alíquotas e armazenados em microtubos de polipropileno de 1,5mL (*Eppendorf*[®], Alemanha) e submetidos ao congelamento (-20°C) até o momento da realização das análises.

As amostras de urina (10,0mL) foram obtidas por cistocentese para realização imediata da urinálise. A urina foi centrifugada em tubo cônico a 500rpm durante cinco minutos. Inicialmente, realizaram-se os exames físicos e químicos da urina com refratômetro portátil e fita reagente, respectivamente. Após a centrifugação da amostra, o sedimento urinário foi examinado após sua ressuspensão em uma gota do sobrenadante, disposto entre lâmina e lamínula e observado em microscopia óptica com objetiva de 40 vezes. A densidade urinária foi determinada em refratômetro, antes do congelamento. Para os testes bioquímicos na urina, as amostras foram subdivididas em microtubos de polipropileno de 1,5mL (*Eppendorf*[®], Alemanha) e congeladas (-20°C) até o momento das análises dos exames.

Para realização do hemograma as contagens globais de hemácias e leucócitos, bem como as dosagens da hemoglobina e a determinação do volume globular foram realizadas com o suporte tecnológico do BC-2800 vet[®] (Mindray, São Paulo, SP), analisador de hematologia compacto e automático, e as contagens diferenciais dos leucócitos foram realizadas em esfregaços de sangue corados por uma mistura de metanol, May-Grünwald e Giemsa-MMG.

Para mensuração das atividades séricas das enzimas alanina aminotransferase (ALT), gamaglutamiltransferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP), foram utilizados reagentes comerciais padronizados (Labtest[®] - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa-MG), com metodologias cinéticas, enzimáticas ou colorimétricas, em temperatura de

37°C, sendo a leitura realizada por equipamento de análises bioquímicas automático (Cobas Mira Plus® - Roche, Brasil).

A concentração de ureia foi determinada por meio de método enzimático colorimétrico, por reação com a urease e a leitura feita utilizando-se um comprimento de onda de 610nm. A creatinina sérica e urinária foi determinada por método colorimétrico, por reação com o picrato alcalino, sendo realizada a leitura em um comprimento de onda de 510nm. Para a mensuração da creatinina urinária utilizou-se diluição da urina nas proporções de 1:25 sendo os resultados da leitura multiplicados por 25, seguindo orientação do fabricante (Labtest® - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa-MG).

A determinação da concentração de proteína urinária foi realizada utilizando-se método colorimétrico, por reação com o vermelho de pirogalol, a uma absorvância de 610nm conforme definido pelo fabricante (Labtest® - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa-MG).

Os níveis séricos de sódio e potássio foram determinados por meio de fotometria de chama (Fotômetro de Chama FC-180 CELM®, Cia Equipadora de Laboratórios Modernos, Barueri-SP), após a calibração do fotômetro com água destilada (ajustada em zero) e com o padrão ajustado em 140mmol/L para o sódio e 5mmol/L para o potássio. As amostras e o padrão foram diluídos em solução de água destilada numa proporção de 1:100. Os valores urinários de sódio e potássio foram determinados da mesma forma. As amostras de urina foram anteriormente diluídas em água destilada nas proporções de 1:11 e posteriormente em 1:100, sendo os resultados da leitura multiplicados por 11.

A determinação da GGT urinária foi realizada logo após a colheita e o resultado calculado segundo DeSCHEPPER et al. (1989), que utilizaram a densidade urinária de 1,025 como fator de correção para o fluxo urinário de uma única amostra colhida de cada animal, por meio da seguinte fórmula:

$$X = \frac{Y \times 25}{Z}$$

Onde: X é a atividade de GGT urinária calculada; Y é a atividade da GGT urinária da amostra e Z corresponde aos últimos dois dígitos da densidade urinária da amostra.

Para avaliar os níveis de proteína na urina foi utilizada a relação proteína/creatinina urinária (PU/CU). Os valores obtidos nas mensurações de proteína e creatinina na urina foram aplicados na seguinte fórmula:

$$\text{PU/CU} = \frac{\text{Proteína total (mg/dL)}}{\text{Creatinina (mg/dL)}}$$

A excreção fracional (EF) de cada eletrólito (sódio e potássio) foi calculada para a avaliação da função tubular renal, a partir dos resultados obtidos na bioquímica sérica e urinária. A EF, fração de depuração urinária dos eletrólitos em relação à creatinina, foi calculada a partir da fórmula proposta por FLEMING et al. (1991), representada a seguir.

$$\text{Excreção fracional (\%)} = \frac{\text{E urinário}}{\text{E sérico}} \times \frac{\text{Cr sérica}}{\text{Cr urinária}} \times 100$$

Onde: Cr: creatinina; E: eletrólito

A análise da urina compreendeu exame físico, químico e microscópico. O exame físico avaliou volume, cor, aspecto e densidade. O exame químico consistiu na avaliação do pH, de proteína, glicose, cetonas, bilirrubina, hemácias, hemoglobina, urobilinogênio, nitrito e leucócitos empregando tiras reagentes (Biocolor, Bioeasy Diagnóstica Ltda, Belo Horizonte - MG). O exame microscópico avaliou o sedimento quanto aos componentes: hemácias, leucócitos, cilindros, bactérias, leveduras, parasitos, cristais, filamentos de muco e artefatos.

2.5. Análise estatística

Os cães foram distribuídos em experimento inteiramente casualizado, sendo os tratamentos as parcelas (doses) e os períodos de avaliação as subparcelas (0min e 720min). Cada animal foi uma unidade experimental. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, adotando-se nível de significância de 5%. As análises foram realizadas com o auxílio do *software* estatístico R[®] (R CORE TEAM, 2013).

3. RESULTADOS

Durante a fase experimental nenhum animal apresentou alterações clínicas que sugerissem efeitos de toxicidade aguda relacionados à administração do LASSBio 897.

Os resultados obtidos por meio das avaliações hematológicas (eritrograma e leucograma) antes e após a administração das doses únicas de 0,5mg/kg, 1mg/kg e 2mg/kg do LASSBio897, e da dose de benazepril (0,5mg/kg) por via oral, estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1- Médias da avaliação hematológica (eritrograma) de cães da raça beagle submetidos a três doses únicas por via oral, de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma dose de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
Hemácias (Tera/L)	0min	5,69	6,01	5,76	5,21	5,67 A	0,2612	0,0666	0,6800
	720min	5,35	5,69	5,09	5,02	5,29 A			
	Médias	5,52 a	5,85 a	5,43 a	5,11 a				
Hemoglobina (g/dL)	0min	13,03	13,65	13,61	12,34	13,16 A	0,4647	0,0011	0,4397
	720min	12,31	12,8	11,98	11,74	12,21 B			
	Médias	12,67 a	13,22 a	12,80 a	12,04 a				
Hematócrito (%)	0min	39,85	42,83	41,36	38,61	40,42 A	0,4095	0,0021	0,5650
	720min	38,45	39,48	38,05	37,78	38,94 B			
	Médias	38,65 a	40,65 a	38,70 a	38,70 a				
VCM (tL)	0min	70,36	71,45	71,98	72,47	71,57 A	0,5193	0,0533	0,4007
	720min	70,30	69,73	71,06	71,70	70,70 A			
	Médias	70,33 a	70,59 a	71,52 a	72,08 a				
HCM (g/dL)	0min	22,85	22,71	23,63	23,58	23,20 A	0,1827	0,2758	0,3904
	720min	23,03	23,16	23,60	23,51	23,33 A			
	Médias	22,94 a	22,94 a	23,61 a	23,55 a				
CHCM (pg)	0min	32,58	31,78	33,63	32,42	32,61 A	0,0678	0,1854	0,2941
	720min	32,85	33,30	33,28	32,87	33,08 A			
	Médias	32,71 a	32,54 a	33,45 a	32,64 a				
Proteínas Plasmáticas (g/dL)	0min	7,16	7,00	7,10	6,87	7,04 A	0,4551	0,0523	0,8409
	720min	7,03	6,76	6,83	6,50	6,78 A			
	Médias	7,10 a	6,88 a	6,96 a	6,68 a				
Plaquetas (giga/L)	0min	287,50	296,83	335,00	440,35	339,92 A	0,0415	0,2679	0,3977
	720min	274,50	314,83	320,33	390,83	325,12 A			
	Médias	281,00 b	305,83 ab	327,66 ab	415,59 a				

Letras minúsculas: diferenças estatísticas entre tratamentos.

Letras maiúsculas: diferenças estatísticas entre tempos.

p*: diferença estatística entre tratamentos; p**: diferença estatística entre tempos; p***: diferença estatística na interação tempo/tratamento..

TABELA 2- Médias da avaliação hematológica (leucograma) de cães da raça beagle submetidos a três doses únicas por via oral, de LASSBio 897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma dose de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
Leucócitos Totais (/mm³)	0min	9966,66	8450,00	8600,00	8246,24	8815,73 A	0,1646	0,4842	0,5262
	720min	9116,66	8566,66	8766,66	8016,66	8616,67 A			
	Médias	9541,66 a	8508,33 a	8683,33 a	8131,45 a				
Bastonetes (/mm³)	0min	267,33	202,16	336,66	105,84	228,00 A	0,2825	0,1934	0,4452
	720min	187,83	160,66	179,66	153,00	170,21 A			
	Médias	227,58 a	181,41 a	257,83 a	129,42 a				
Segmentados (/mm³)	0min	5749,16	5193,50	4848,83	4693,57	5121,27 A	0,2786	0,2958	0,3598
	720min	5566,66	5779,16	5624,83	4530,33	5375,25 A			
	Médias	5657,91 a	5486,33 a	5236,83 a	4611,95 a				
Neutrófilos (/mm³)	0min	6016,50	5331,66	5185,50	4794,29	5331,99 A	0,2627	0,4070	0,4634
	720min	5754,50	5939,83	5803,83	4683,33	5545,38 A			
	Médias	5885,50 a	5635,75 a	5494,66 a	4738,81 a				
Eosinófilos (/mm³)	0 min	1710,83	1175,83	1028,66	936,45	1120,54 A	0,6083	0,9545	0,0835
	720 min	1253,66	1065,66	1007,66	1555,16	1212,95 A			
	Médias	1482,25 a	1120,75 a	1018,16 a	1245,80 a				
Basófilos (/mm³)	0 min	17,50	17,00	73,00	436,14	135,91 A	0,0497	0,3380	0,5360
	720 min	10,00	30,66	63,83	193,50	72,00 A			
	Médias	13,75 b	23,83 ab	68,41 ab	314,82 a				
Linfócitos (/mm³)	0 min	1794,33	1558,66	1718,83	1202,45	1568,57 A	0,3732	0,2822	0,7564
	720 min	1340,33	1281,83	1477,83	1334,33	1358,58 A			
	Médias	1567,33 a	1420,25 a	1598,33 a	1268,39 a				
Monócitos (/mm³)	0 min	427,50	352,16	574,83	704,69	508,05 A	0,1915	0,0331	0,1186
	720 min	444,50	296,00	413,50	250,33	351,08 B			
	Médias	436,00 a	310,58 a	494,16 a	477,51 a				

Letras minúsculas: diferenças estatísticas entre tratamentos.

Letras maiúsculas: diferenças estatísticas entre tempos.

p*: diferença estatística entre tratamentos; p**: diferença estatística entre tempos; p***: diferença estatística na interação tempo/tratamento.

Em relação aos parâmetros hematológicos foram observadas diferenças estatísticas entre tempos para hemoglobina, hematócrito e monócitos, com as maiores médias encontradas para o tempo 0min. Para a variável plaquetas foram constatadas diferenças estatísticas entre tratamentos, com médias maiores no tratamento com benazepril e menores para a dose de 0,5mg/kg do protótipo LASSBio 897. Também foram observadas diferenças estatísticas para os tratamentos para a variável basófilos, com as menores médias observadas no tratamento com 0,5mg/kg de LASSBio 897 e as maiores na dose de benazepril.

Não foram observadas diferenças estatísticas entre tempos, entre tratamentos ou na interação tratamentos/tempos para as variáveis hemácias, VCM, HCM, CHCM, proteínas plasmáticas, leucócitos totais, bastonetes, segmentados, neutrófilos, eosinófilos e linfócitos.

Na Tabela 3 são mostrados os resultados obtidos por meio da bioquímica sérica e dosagens de sódio e potássio séricos antes e após a administração das doses de 0,5 mg/kg, 1mg/kg e 2mg/kg do LASSBio897, e da dose de benazepril (0,5mg/kg) por via oral.

TABELA 3 - Médias da avaliação bioquímica sérica das enzimas ALT, AST, GGT e ALP e das concentrações de uréia, creatinina, sódio e potássio em cães da raça beagle submetidos a três doses, via oral, de LASSBio897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
ALT (UI/L)	0min	40,86	30,6	33,71	39,01	36,05 A	0,5613	0,2312	0,4602
	720min	30,14	29,23	37,34	29,98	31,67 A			
	Médias	35,50 a	29,92 a	35,53 a	34,50 a				
AST (UI/L)	0min	36,76	25,70	34,67	28,40	31,38 A	0,0899	0,0621	0,0790
	720min	26,26	35,17	28,14	29,52	29,27 A			
	Médias	31,51 a	30,43 a	31,41 a	28,96 a				
GGT (UI/L)	0min	9,21	11,21	12,71	19,59	15,11 A	0,3902	0,4101	0,0768
	720min	17,69	12,75	18,79	11,2	13,18 A			
	Médias	13,45 a	11,98 a	15,75 a	15,39 a				
ALP (UI/L)	0min	79,60	63,19	66,21	55,02	73,60 A	0,0657	0,2885	0,0288
	720min	74,73	66,40	67,73	62,96	67,96 A			
	Médias	92,35 a	64,80 a	66,97 a	58,99 a				
Ureia (mg/dL)	0min	24,89	23,27	24,31	21,73	23,55 A	0,3918	0,0004	0,2183
	720min	19,13	17,11	18,78	21,21	19,06 B			
	Médias	22,01 a	20,19 a	22,01 a	21,47 a				
Creatinina (mg/dL)	0min	0,71	0,64	0,67	0,61	0,66 A	0,0225	0,4198	0,5337
	720min	0,64	0,61	0,71	0,59	0,64 A			
	Médias	0,67 ab	0,63 ab	0,69 a	0,60 b				
Sódio (mEq/L)	0min	144,05	146,38	141,31	142,02	141,27 A	0,0946	0,1788	0,0843
	720min	147,10	141,54	142,02	142,97	143,41 A			
	Médias	145,57 a	143,96 a	141,66 a	142,49 a				
Potássio (mEq/L)	0min	4,61	4,48	4,70	4,48	4,57 A	0,3770	0,1526	0,3516
	720min	4,90	4,88	4,41	4,85	4,82 A			
	Médias	4,87 a	4,68 a	4,55 a	4,66 a				

Letras minúsculas: diferenças estatísticas entre tratamentos.

Letras maiúsculas: diferenças estatísticas entre tempos.

p*: diferença estatística entre tratamentos; p**: diferença estatística entre tempos; p***: diferença estatística na interação tempo/tratamento.

Não foram observadas diferenças estatísticas entre tempos, entre tratamentos ou na interação tratamentos/tempos para a mensuração da atividade das enzimas hepáticas ALT, AST, ALP e GGT e de sódio e potássio. Em relação à concentração de ureia foi observada diferença estatística entre os tempos, sendo possível verificar uma diminuição das médias entre o tempo 0min e o tempo 720min para todos os tratamentos. Na mensuração da concentração de creatinina houve diferença estatística entre os tratamentos, uma vez que o tratamento benazepril obteve as menores concentrações e o tratamento com 2,0mg/kg do protótipo LASSBio 897 as maiores concentrações.

Os resultados obtidos por meio da análise das variáveis urinárias antes e após a administração das doses de 0,5 mg/kg, 1mg/kg e 2mg/kg do LASSBio897, e de benazepril (0,5mg/kg) por via oral, estão apresentados na Tabela 4.

TABELA 4 - Médias dos parâmetros urinários densidade, pH, relação PU/CU, GGT, EF de sódio e potássio em cães da raça beagle submetidos a três doses únicas por via oral, de LASSBio897 (0,5; 1,0 e 2,0mg/kg) e uma de benazepril (0,5mg/kg). UFG – Goiânia, 2013.

Variável	Tempos	Tratamentos				Médias	p*	p**	p***
		0,5	1,0	2,0	Benazepril				
Densidade urinária	0min	1024,60	1035,00	1029,50	1028,10	1029,30 A	0,3648	0,2761	0,4519
	720min	1026,40	1024,30	1026,30	1023,30	1025,00 A			
	Médias	1025,00 a	1029,60 a	1027,90 a	1025,70 a				
pH	0min	6,50	6,16	6,58	6,41	6,71 A	0,2378	0,1193	0,5823
	720min	6,58	6,75	7,08	6,41	6,42 A			
	Médias	6,54 a	6,45 a	6,83 a	6,41 a				
GGT urinária	0min	21,82	19,17	21,91	11,82	18,69 A	0,7277	0,7732	0,3948
	720min	26,98	12,55	14,93	26,23	20,18 A			
	Médias	24,40 a	15,86 a	18,42 a	19,03 a				
PU/CU	0min	0,17	0,13	0,13	0,16	0,16 A	0,8894	0,8531	0,5629
	720min	0,18	0,16	0,16	0,11	0,15 A			
	Médias	0,17 a	0,14 a	0,15 a	0,13 a				
EF sódio	0min	0,0040	0,0054	0,0041	0,0032	0,0041 A	0,5574	0,7320	0,5535
	720min	0,0040	0,0045	0,0040	0,0051	0,0044 A			
	Médias	0,0040 a	0,0049 a	0,0041 a	0,0041 a				
EF potássio	0min	0,09	0,07	0,04	0,06	0,07 A	0,5784	0,7771	0,4309
	720min	0,04	0,07	0,04	0,13	0,07 A			
	Médias	0,06 a	0,07 a	0,04 a	0,09 a				

Letras minúsculas: diferenças estatísticas entre tratamentos.

Letras maiúsculas: diferenças estatísticas entre tempos.

p*: diferença estatística entre tratamentos; p**: diferença estatística entre tempos; p***: diferença estatística na interação tempo/tratamento.

Para as variáveis urinárias densidade, pH, GGT, PU/CU e EF de sódio e potássio não foram observadas diferenças estatísticas entre tempos, entre tratamentos ou na interação tratamentos/tempos. Em relação à sedimentoscopia foram observados presença de pequena quantidade de hemácias e leucócitos, para todos os cães.

4. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que o protótipo LASSBio 897, administrado por via oral, nas doses únicas de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg foi seguro e não gerou alterações hematológicas, hepáticas e/ou renais agudas em cães da raça beagle hípidos, com resultados semelhantes aos encontrados com a utilização do fármaco controle, benazepril.

Analisando-se os resultados das avaliações hematológicas, destaca-se que, apesar de terem sido observadas diferenças para as variáveis hemoglobina, hematócrito, plaquetas, basófilos e monócitos, suas médias, assim como as médias das outras variáveis, à exceção das hemácias, contemplam os valores considerados normais para a espécie canina (ROCCO, 2009) e para a raça beagle (CHOI et al., 2011). Porém, ressalta-se que os valores encontrados para hemácias aproximam-se dos limites de referência descritos por estes autores, e sua diminuição pode ser resultado das coletas sucessivas de sangue realizadas durante o estudo.

Os resultados obtidos a partir das dosagens séricas relacionadas à função renal e mensuração das atividades das enzimas hepáticas atendem aos valores de normalidade para a espécie e raça estudada (CHOI et al., 2011; KANECO et al., 2008; ROCCO, 2009; TIAN et al., 2005). Isso indica que o protótipo a fármaco é seguro, assim como observado em estudo com ratos utilizando a dose de 1,0mg/kg do protótipo (SUDO et al., 2010) e estudo piloto com cão da raça beagle, utilizando dose semelhante (NASCIUTTI et al., 2013).

POUCHELON et al. (1999) avaliaram a tolerabilidade do uso do benazepril, com a utilização da dose de 0,25mg/kg, administrada a cães com cardiopatia, durante 34 meses e observaram valores de bioquímica sérica

semelhantes ao do presente estudo, diferindo apenas nos resultados da ALP, que foram superiores. Anos após, POUCHELON et al. (2004) publicaram outros parâmetros avaliados no estudo anterior, e assim como neste presente estudo, à exceção da dose de 2,0mg/kg do LASSBio 897, observaram que os cães tratados com o benazepril apresentaram valores de creatinina menores após sua administração em relação aos valores obtidos quando os cães foram incluídos no grupo. Há que se considerar que, tanto o tempo de avaliação quanto a situação clínica dos animais utilizados diferiu do ensaio aqui proposto.

Considerando que o benazepril apresenta um efeito renoprotetor, ligado à redução da pressão glomerular e aumento da taxa de eliminação de ureia e creatinina (TÁRRAGA, 2006) e que foram observados esta mesma característica no protótipo LASSBio 897, pode-se sugerir que este novo composto também tenha ação renoprotetora.

PEREIRA et al. (2005) em estudo objetivando avaliar o uso clínico do benazepril em cães com insuficiência cardíaca congestiva moderada a severa, não evidenciaram alterações significativas nas funções hepática e renal, confirmando a segurança deste fármaco e contribuindo para validar os resultados obtidos no presente estudo com o protótipo LASSBio 897, já que os valores encontrados foram semelhantes aos obtidos com o uso do benazepril.

Em relação às médias obtidas nas avaliações urinárias densidade, pH, GGT, PU/CU, EF de sódio e potássio e urinálise, todas se encontram dentro dos valores de referência para cães (DeSCHEPPER et al., 1989; REGO et al., 2001; SANTIN et al., 2006; ROCCO, 2009; GRAUER, 2011). Resultados semelhantes foram observados com a administração oral do protótipo LASSBio 294 por OLIVEIRA ALVES et al. (2012).

5. CONCLUSÕES

Tendo em vista as condições experimentais do presente estudo, o período de avaliações e os resultados obtidos pelo mesmo, pode-se concluir que a administração oral do protótipo a fármaco LASSBio 897 nas doses únicas de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg não causa alterações importantes nas avaliações clínicas, hematológicas e nos valores das bioquímicas renais e hepáticas, bem como da avaliação urinária, durante o uso oral, em cães adultos hígdos.

REFERÊNCIAS

1. CENTER, S.A. Fisiopatologia, diagnóstico laboratorial, e afecções do fígado. In: ETTINGER, S. J; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 4. ed. São Paulo: Manole, v. 2, 1999. p. 1745-1899.
2. CHOI, S. Y.; HWANG, J. S.; KIM, L. H.; HWANG, D. Y.; KANG, H. C. Basic data on the hematology, serum biochemistry, urology, and organ weights of beagle dogs. **Laboratory Animal Research**, Oxford, v.27, n.4, p.283-291, 2011.
3. DeSCHEPPER, J.; DE COCK, I.; CAPIAU, E. Urinary gamma glutamil transferase and the degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. **Research in Veterinary Science**, London, v. 46, p. 396-400, 1989.
4. FLEMING, S. A.; HUNT, E. L.; RIVIERE, J. E.; ANDERSON, K. L. Renal "clearance" and fractional excretion of electrolytes over four 6-hour periods in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 52, n. 1, p. 5-8, 1991.
5. GRAUER, G. F. Introduction: proteinuric renal disease. **Topics in Companion Animal Medicine**, Philadelphia, v. 26, n. 3, p.119-120, 2011.
6. KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008, 916p.
7. LANIS, A. B.; FONSECA, L. A.; ROESLER, T.; ALVES, A.; LOPES, B. Avaliação laboratorial das doenças renais em pequenos animais. **PubVet**, Londrina, v.2, n.28, 2008.
8. LI, A. P. Screening for humanADME/Tox drug properties in drug discovery. **Research focus**. New York, v.6, n.7, p.357-366, 2001.
9. MADDISON, J. E.; PAGE, S. W.; DYKE, T. M. Farmacocinética clínica. In: MADDISON, J. E.; PAGE, S. W.; CHURCH, D. B. **Farmacologia Clínica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap.2, p.27-40.
10. MENEZES, L. B.; FIORAVANTI, M.C.S.; BRITO E SILVA, M.S.; FRANCO, L.G., SALES, T.P., ANDRASKICKO, M.M., VEADO, J.C.C.; ARAUJO, E.G. Avaliação do efeito da clorpromazina sobre a função renal de cães submetidos à isquemia e reperfusão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Goiás, v.30, n.2, p.108-114, 2010.
11. MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório: Princípios e Interpretações**. 4ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2003. 532p.
12. NASCIUTTI, P.R; BITTAR, I.P; CARVALHO, F.O; SOUSA FILHO, G.D; TELES, M.M.L; GUIMARAES, T.M; DE OLIVEIRA, V; FRAGA, A.M; OLIVEIRA ALVES,R. Pharmacological Profile of the Cardioactive Prototype LASSBio-897: A

Preliminary Study of its Potential Vasodilatory Activity. **Online Proceedings ACVIM Forum 2013**, Seattle WA, 2013.

13. OLIVEIRA ALVES, R.; TORRES, A. C. B.; NASCIUTTI, P. R.; BRASIL, R. C. O. L.; SOUZA, M. C. BITTAR, I. P.; DE OLIVEIRA, V.; BARREIRO, E. J. The action of a new prototype cardiotoxic drug (LASSBio 294) on the cardiovascular system of dogs. **Online Proceedings ACVIM Forum 2012**, New Orleans LO, 2012.

14. PEREIRA, D. G. A importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Química Nova**. Rio de Janeiro, v.30, n.1, p.171-177, 2007.

15. PEREIRA, P. M., CAMACHO, A. A., MORAIS, H. A. Tratamento da insuficiência cardíaca com benazepril em cães com cardiomiopatia dilatada e endocardiose. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.57, p.1-6, 2005.

16. POUCHELON, J. L.; CHETBOUL, V.; LUGARDON, B.; ROUSSELOT, J. F.; CORLOUER, J. P.; BUSSADORI, C.; PIETTE, M. H.; BROWNLIE, S.; MARTEL, P.; GARCIN, J. P.; HAGEN, A.; AMBERGER, C.; MARTIN, M. W.; LABADIE, F.; COLLET, M.; DROUARD, C.; LOMBARD, C. W.; HERY, D. The effect of benazepril on survival times and clinical signs of dogs with congestive heart failure: Results of a multicenter, prospective, randomized, double-blinded, placebo-controlled, long-term clinical trial. **Journal of Veterinary Cardiology**, Amsterdam, v.1, n.1, p.7-18, 1999.

17. POUCHELON, J. L.; KING, J.; MARTIGNONI, L.; CHETBOUL, V.; LUGARDON, B.; ROUSSELOT, J. F.; CORLOUER, J. P.; BUSSADORI, C.; PIETTE, M. H.; BROWNLIE, S.; MARTEL, P.; GARCIN, J. P.; HAGEN, A.; AMBERGER, C.; MARTIN, M. W.; LABADIE, F.; COLLET, M.; DROUARD, C.; LOMBARD, C. W.; HERVÉ, D.; STRHLAU, G. Long-term tolerability of benazepril in dogs with congestive heart failure. **Journal of Veterinary Cardiology**, Amsterdam, v.6, n.1, p.7-13, 2004.

18. R CORE TEAM (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <http://www.R-project.org/>.

19. REGO, A. B. A. S.; KOGIKA, M. M.; SANTORO, M. L.; HAGIWARA, M. K. MIRANDOLA, R. M. S. Eletroforese das proteínas urinárias de cães normais e cães com doença renal em gel de sódio-dodecil-sulfato poliacrilamida (SDS-PAGE). **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v.7, n.2, p.65-72, 2001.

20. ROCCO, L. M. Guia para coleta e interpretação de exames laboratoriais em cães e gatos. 1.ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2009. 216p.

21. SANTIN, F.; MOUTINHO, F. Q.; AMARAL, A. S.; TAKAHIRA, R. K. Acompanhamento laboratorial da função renal de cães sadios tratados experimentalmente com doses terapêuticas de anfotericina B. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.6, p.1816-1823, 2006.

22. SODRÉ, F. L.; COSTA, J. C. B.; LIMA, J. C. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v.43, n.5, p.329-337, 2007.
23. SUDO, G. Z.; PEREIRA, S. L.; BEIRAL, H. J. V.; KUMMERLE, A. E.; RAIMUNDO, J. M.; ANTUNES, F.; SUDO, R. T.; BARREIRA, E. J.; FRAGA, C. A. M. Pharmacological characterization of (3-Thienylidene)-3,4-Methylenedioxybenzoylhydrazide: a novel muscarinic agonist with anti-hypertensive profile. **American Journal of Hipertension**, Louisville, v.23, n.1, p.135-141, 2010.
24. TÁRRAGA, K. M. Medicamentos que atuam no sistema cardiovascular: inotrópicos positivos e vasodilatadores. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNADI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap.24, p.299-312.
25. TIAN, Y. H.; LI, R.; ZHANG, Z. P.; CHENG, X. X. Investigation on the reference values of serum biochemistry in normal beagle dogs. **Asian Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, Tianjin, v.5, n.1, p.45-48, 2005.

CAPÍTULO 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma vez analisados os resultados deste estudo, sugere-se que novas investigações sejam realizadas com o protótipo LASSBio 897, a fim de continuar as avaliações a respeito dos seus efeitos em cães e futuramente em humanos. Neste contexto, novas estratégias químicas são de grande importância, na tentativa de melhorar o composto inicial por meio de modificações estruturais visando proporcionar maior tempo de ação, bem como o desenvolvimento de novas vias de administração.

Da mesma forma, considerando que o estudo aqui apresentado trata-se de estudo pré-clínico em caráter mais avançado, pois utilizou mamíferos não roedores, compreende-se que estudos posteriores envolvendo animais doentes, ou seja, com hipertensão arterial, são necessários, para validar os efeitos vasodilatadores aqui observados.

Em relação às avaliações feitas neste estudo, sugere-se que os próximos experimentos lancem mão de dispositivos mais fidedignos para a mensuração da pressão arterial, uma vez que, apesar dos dispositivos não invasivos serem de fácil utilização e rápidos, fornecem valores de pressão arterial que podem se alterar em situações como movimentação excessiva do animal, aparelho e experiência do investigador. Como alternativa, poderia ser utilizada avaliação por telemetria, que fornece as mesmas informações sem que seja necessária a sedação do animal no momento da mensuração, condição exigida para realização da mensuração invasiva convencional, considerada padrão ouro.

Novas modalidades de fármacos para o tratamento da hipertensão arterial visando melhorar a qualidade de vida dos pacientes e mantê-los hígidos são de extrema importância, por isso, novas pesquisas devem continuar a ser realizadas. Espera-se que, com a conclusão de todas as pesquisas envolvendo o LASSBio 897, seus resultados sejam promissores e que este protótipo possa se tornar um novo fármaco disponível para o tratamento da hipertensão, com a vantagem de ter um mecanismo de ação diferente dos já disponíveis para o tratamento.

ANEXOS

ANEXO 1



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



Goiânia, 27 / 02 / 2012

**PARECER CONSUBSTANCIADO REFERENTE AO PROJETO DE PESQUISA,
PROTOCOLADO NESTE COMITÊ SOB O N.016 /12**

I - Finalidade do projeto (pesquisa/ensino): Pesquisa

II - Identificação:

Título do projeto: AÇÃO DE UM NOVO PROTÓTIPO ANTI-HIPERTENSIVO (LASSBio 897) SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE CÃES E IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS GERADOS

Pesquisador Responsável/ Unidade:

- Profa. Dra. Rosângela de Oliveira Alves Carvalho - EVZ-UFG

Pesquisadores Participantes:

- Fernanda Oliveira de Carvalho
- Isabela Piazza Bittar
- André Ribeiro Fayad*
- Priscilla Regina Nasciutti

Unidade onde será realizado:

- Escola de Veterinária e Zootecnia – UFG

Data de apresentação a CEUA: 24/02/2012

III - Objetivos e justificativa do projeto:

- Identificar quais os metabólitos produzidos com o uso de um novo protótipo anti-hipertensivo (LASSBio 897) por meio de amostras de sangue e urina, determinar quais os efeitos dele sobre o sistema cardiovascular de cães por meio de exames ecocardiográficos, eletrocardiográficos e mensuração pressão arterial após a administração por via parenteral e oral e avaliar possíveis alterações clínicas provocadas pelo uso do fármaco, nas duas vias de administração.

IV - Sumário do projeto:

Discussão sobre a possibilidade de métodos alternativos:

O tamanho da amostra foi definido com base no menor número para realização de análise estatística. Existem outros modelos experimentais sendo utilizados para avaliação do fármaco (SUDO, et al.,

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1215.

Email: ceua.ufg@gmail.com

ANEXO 1



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



2010), porém esses modelos não são passíveis de se realizar avaliações clínicas específicas. Além disso, os cães são excelentes modelos experimentais para pesquisas posteriores com humanos.

Descrição do animal utilizado (número, espécie, linhagem, sexo, peso, etc):

Os animais que serão utilizados no experimento foram obtidos por recursos destinados à pesquisa. São cães adultos, da raça Beagle, num total de seis animais (cinco fêmeas e um macho).

Descrição das instalações utilizadas e número de animais/área/qualidade do Ambiente (ar, temperatura, umidade), Alimentação/hidratação:

Os animais serão alojados em baias individuais, construídas em alvenaria, em área coberta, com paredes e piso revestidos com cimento liso, além de ter acesso à outra área descoberta, revestida por cimento rústico. A alimentação será feita com fornecimento de ração normocalórica em duas refeições diárias, com quantidade pré-determinada de acordo com o peso dos cães e água disponibilizada à vontade. Os cães serão vacinados e desverminados. Serão realizados passeios diários uma vez ao dia. As baias serão higienizadas também uma vez ao dia, todos os dias.

Utilização de agente infeccioso/gravidade da infecção a ser observada: não se aplica

Adequação da metodologia e considerações sobre o sofrimento imposto aos animais:

Na primeira fase de experimentação todos os cães receberão uma dose de 1mg/kg de LASSBio 897, por via parenteral (subcutânea). Os animais serão submetidos à coleta de 02ml de sangue com anticoagulante, 04ml sem anticoagulante durante 24 horas; à realização dos exames ecodopplercardiográficos, eletrocardiográficos e mensuração da pressão arterial. Na segunda fase de experimentação todos os cães receberão doses pontuais de 0,5mg/kg, 1,0mg/kg e 2,0mg/kg de LASSBio 897, por via oral. Na terceira fase os cães receberão a dose mais segura e de melhor efeito, baseado nos resultados das fases anteriores. Na segunda fase as avaliações serão as mesmas descritas pra primeira fase e na terceira as avaliações serão realizadas antes da administração do fármaco e uma vez por semana, por quatro semanas.

Durante o período de experimentação os animais serão levados para passeios diários e terão contato com os estagiários todos os dias. Além disso, periodicamente serão oferecidos brinquedos aos cães.

Método de eutanásia: Os animais não serão submetidos a eutanásia.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFPG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1215.

Email: ceua.ufg@gmail.com

ANEXO 1



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



- Destino do animal:** Ao término do experimento os animais serão doados a proprietários previamente cadastrados.

IV – Comentários do relator frente às orientações da SBCAL

- Estrutura do protocolo:** adequada

- Análise de sofrimento imposto, métodos alternativos e benefícios:**

Um dos riscos está na possibilidade dos cães apresentarem algum efeito colateral ao LASSBio 897, o que pode ser sanado com a monitoração dos animais durante a fase de administração do fármaco, pois caso haja alguma reação adversa, a administração do fármaco será suspensa e os animais poderão ser atendidos imediatamente.

Benefícios: A realização desse projeto permitirá continuar o desenvolvimento de um novo medicamento, que poderá melhorar as condições clínicas e aumentar a sobrevida tanto de pequenos animais como de pessoas que possuem insuficiência cardíaca, uma vez que o cão é um excelente modelo experimental para o estudo da insuficiência cardíaca congestiva humana.

- Análise dos riscos aos pesquisadores/alunos:** Os riscos aos pesquisadores e alunos são mínimos, uma vez que os cães são sabidamente de raça dócil e calma, sem possibilidades de mordeduras. Quanto aos procedimentos laboratoriais, os riscos podem ser minimizados através de práticas de métodos seguros pré-estabelecidos.

- Necessidade do número de animais:** Adequada

V - Parecer da CEUA:

De acordo com a documentação apresentada a este comitê consideramos o projeto (**APROVADO**), smj deste Comitê.

Solicitamos aos pesquisadores:

- Recomendamos descrever as dimensões das baias em que os cães serão alojados.

VI - Data da reunião: 27/02/2012

Dra. Ekaterina Akimovna Botovchenco Rivera

Coordenadora da CEUA/PRPPG/UFG

Profª. Ekaterina Akimovna Botovchenco Rivera

Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação / UFG

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1215.

Email: ceua.ufg@gmail.com