

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

**BIOMARCADORES NO DIAGNÓSTICO DA DOENÇA
RENAL EM CÃES**

Saura Nayane de Souza
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Clorinda Soares Fioravanti

GOIÂNIA
2017



**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS
DE TESES E
DISSERTAÇÕES 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), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, 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:

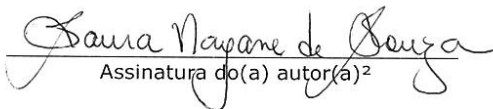
Nome completo do autor: Saura Nayane de Souza

Título do trabalho: Biomarcadores no diagnóstico da doença renal em cães

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 da tese ou dissertação.


 Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)²

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.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente
- Submissão de artigo em revista científica
- Publicação como capítulo de livro
- Publicação da dissertação/tese em livro

²A assinatura deve ser escaneada.

Data: 23/03/18.

SAURA NAYANE DE SOUZA

**BIOMARCADORES NO DIAGNÓSTICO DA DOENÇA
RENAL EM CÃES**

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

Área de concentração:

Patologia, Clínica e Cirurgia Animal

Orientadora:

Prof^a Dr^a Maria Clorinda Soares Fioravanti - EVZ/UFG

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Adilson Donizeti Damasceno – EVZ/UFG

Prof.^a Dr.^a Naida Cristina Borges – EVZ/UFG

GOIÂNIA

2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Souza, Saura Nayane de
Biomarcadores no diagnóstico da doença renal em cães [manuscrito]
/ Saura Nayane de Souza. - 2017.
xiv, 117 f.

Orientador: Profa. Dra. Maria Clorinda Fioravanti; co-orientador
Dr. Adilson Damasceno; co-orientador Dr. Naida Cristina Borges.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de
Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, Goiânia, 2017.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras.

1. Caninos. 2. Cistatina c. 3. Excreção fracional de eletrólitos. 4. Ggt
urinária. 5. nefropatias. I. Fioravanti, Maria Clorinda , orient. II. Título.

CDU 639.09

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



1 ATA NÚMERO 243 DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO DO PROGRAMA DE PÓS-
2 GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL DA ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA
3 UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS, REALIZADA POR Saura Nayane de Souza. Às
4 08h00min do dia 06/03/2017, reuniu-se na Sala de Defesas do Programa de Pós-Graduação em
5 Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Campus II
6 Samambaia, nesta Capital Goiânia - Goiás, a Comissão Julgadora infra nomeada para proceder ao
7 julgamento da Defesa de Tese de Doutorado apresentado (a) pelo (a) Pós-Graduando (a) Saura
8 Nayane de Souza, intitulada "Biomarcadores no diagnóstico da doença renal em cães",
9 apresentada para obtenção do Título de Doutor em Ciência Animal, junto à Área de
10 Concentração: Patologia, Clínica e Cirurgia animal desta Universidade. O Presidente da
11 Comissão Julgadora Profa. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti, iniciando os trabalhos,
12 concedeu a palavra ao (a) candidato (a) Saura Nayane de Souza para exposição em quarenta
13 minutos do seu trabalho. A seguir, o senhor Presidente concedeu a palavra, pela ordem
14 sucessivamente, aos Examinadores, os quais passaram a arguir o (a) candidato (a), durante o prazo
15 máximo de vinte minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para responder aos Senhores
16 Examinadores. Ultimada a arguição, que se desenvolveu nos termos regimentais, a Comissão, em
17 sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando o (a) candidato (a) **Aprovado (a) ou**
18 **Reprovado (a):**

19	Profa. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti	<u>Aprovado</u>
20	Profa. Dra. Giane Regina Paludo	<u>Aprovada</u>
21	Profa. Dra. Rosângela de Oliveira Alves Carvalho	<u>Aprovada</u>
22	Profa. Dra. Danieli Brolo Martins	<u>Aprovada</u>
23	Prof. Dr. Leandro Guimarães Franco	<u>Cuprovada</u>

24 Em face do resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou o (a) candidato (a) Saura Nayane
25 de Souza, Habilitado [(Habilitado (a) ou não Habilitado (a))] pelo(s)
26 motivo(s) abaixo exposto(s):

27 _____
28 _____
29 _____
30 _____
31 _____
32 _____

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



33 _____
 34 _____
 35 _____
 36 _____
 37 _____
 38 A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da tese:
 39 _____
 40 _____
 41 _____
 42 _____
 43 _____
 44 _____
 45 Nada mais havendo a tratar, eu **Profa. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti**, lavrei a presente
 46 ata que, após lida e achada conforme foi por todos assinada.
 47 Profa. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti M. C. Fioravanti
 48 Profa. Dra. Giane Regina Paludo Giane R. Paludo
 49 Profa. Dra. Rosângela de Oliveira Alves Carvalho R. A. Carvalho
 50 Profa. Dra. Danieli Brolo Martins D. Brolo Martins
 51 Prof. Dr. Leandro Guimarães Franco L. G. Franco

Dedico ao meu marido Renato pela
compreensão, paciência e
companheirismo. Aos meus filhos
Giovana e Vitor pelos sorrisos que
me ensinaram o quão completo e
belo é o amor.

Aos cães que participaram desse
experimento pelo respeito que eles
merecem.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que me manteve forte para que eu chegasse até aqui.

Aos meus familiares, meu marido Renato, meus filhos Giovana e Vitor, e minhas irmãs Juliana e Priscila, que me apoiaram durante toda a realização deste projeto e que estiveram ao meu lado nos momentos mais difíceis, sendo a razão por eu ter persistido e aos quais dedico meu amor eterno.

À minha orientadora, professora Maria Clorinda Soares Fioravanti, pela paciência, compreensão, amizade e sabedoria transmitida a mim desde a graduação, a quem considero e admiro profundamente, sendo um exemplo de professora e profissional.

Aos meus co-orientadores, professor Adilson Donizeti Damasceno pela imensurável colaboração nas correções finais deste trabalho e professora Naida Cristina Borges pelo auxílio no desenvolvimento da pesquisa.

À colega médica veterinária Rayanne Henrique Santana pelo auxílio na mensuração das análises e pelo apoio durante todas as etapas deste projeto.

Aos alunos da graduação Mariana Dall'Agnol, Marinys Santos, Paula Damasceno Gomes, Manoella Sena Araújo, Suelen Lorena da Silva e Sandes Oliveira Espíndola pelo auxílio na execução do projeto.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Nathália Bragato, Gustavo Lage Costa, Layla Livia Queiroz, Helton Freires de Oliveira e Maria Ivete Moura pela imensa colaboração na realização deste trabalho.

Às amigas Andréa Cintra Bastos Torres Passos e Mayara Fernanda Maggiolli pela disposição em auxiliar na confecção deste e pela fiel amizade.

Ao Hospital Veterinário da UFG e sua diretoria, que permitiram a realização de parte do trabalho nas instalações do hospital.

À CAPES pela bolsa concedida e ao CNPq pelo financiamento da pesquisa.

Aos colegas e funcionários da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, por me proporcionarem uma formação de qualidade, tanto como profissional, quanto como ser humano.

Aos cães que participaram do experimento, porque sem eles nada haveria sido feito.

A todos que contribuíram e acreditaram nesse projeto.

Meus sinceros agradecimentos.

“Não importa se os animais são incapazes ou não de pensar. O que importa é que são capazes de sofrer.”

Jeremy Bentham

“Nossa maior fraqueza está em desistir. O caminho mais certo de vencer é tentar mais uma vez.”

Thomas Edison

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	xvi
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xviii
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1. Introdução.....	1
2. Caracterização do problema.....	2
2.1. Aspectos gerais da injúria renal aguda em cães.....	2
2.1.1. Fisiopatogenia	8
2.1.2. Estadiamento da IRA	10
2.1.3. Diagnóstico laboratorial em cães com IRA.....	11
a) Creatinina sérica	14
b) Ureia	15
c) Neutrófilo gelatinase associada à lipocalina (NGAL)	16
d) N-acetil-β-D-glucosaminidase (NAG)	17
e) Gama glutamiltransferase (GGT) urinária.....	18
f) Fosfatase alcalina urinária (ALPu).....	19
g) Molécula de injúria renal-1 (KIM-1)	19
2.2. Aspectos gerais da DRC em cães	20
2.3.1. Cistatina C como marcador de função renal.....	25
2.3.2. Cistatina C no diagnóstico da IRA	26
2.3.3. Cistatina C no diagnóstico da DRC	27
2.4. Perspectivas de utilização dos novos biomarcadores	28
2.5. Justificativa e objetivos.....	29
Referências.....	31
CAPÍTULO 2 - BIOMARCADORES NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA INJÚRIA RENAL AGUDA EM CÃES	37
Resumo.....	37
Abstract	37
1. Introdução.....	38
2. Material e métodos	39
2.1. Local de realização, animais e delineamento experimental.....	39
2.2. Avaliação clínica.....	41
2.3. Análises laboratoriais	42

2.3.1. Hemograma e fibrinogênio	42
2.3.2. Bioquímica sérica	42
2.3.3. Exame de urina e bioquímica urinária	43
2.3.4. Eletroforese das proteínas séricas.....	44
2.3.5. Gasometria venosa.....	44
2.4. Determinação do valor de referência da fosfatase alcalina urinária (ALPu)	44
2.5. Análise estatística	45
3. Resultados e discussão	45
3.1. Avaliação clínica	45
3.2. Perfil hematológico	48
3.3. Fibrinogênio	51
3.4. Perfil bioquímico sanguíneo e eletroforese sérica	51
3.4.1. Creatinina e ureia.....	52
3.4.2. Fósforo, cálcio e colesterol.....	54
3.4.3 Proteínas séricas totais, albumina e globulina	55
3.4.4. Perfil eletroforético sérico	57
3.4.5. Sódio e potássio.....	59
3.5. Perfil hemogasométrico	60
3.6. Perfil bioquímico urinário	62
3.6.1. Razão proteína/creatinina urinária (Pu/Cu)	62
3.6.3. Fosfatase alcalina urinária (ALPu).....	64
3.6.4. Excreção fracional (EF) de sódio e potássio	65
3.7. Exame de urina.....	67
3.7.1. Potencial hidrogeniônico (pH) urinário	67
3.7.2. Densidade urinária	68
3.7.3. Hemácias e leucócitos urinários.....	69
3.7.4. Cilindros e células urinárias.....	70
3.7.5. Glicosúria.....	72
4. Conclusões.....	72
Referências.....	73
Anexos.....	78
CAPÍTULO 3 - CISTATINA C SÉRICA NA INJÚRIA TUBULAR AGUDA INDUZIDA E NA DOENÇA RENAL CRÔNICA EM CÃES.....	92
1. Introdução.....	93

2. Materiais e métodos.....	94
2.2. Grupo controle e grupo IRA.....	95
2.3. Análise da Cistatina C sérica	96
2.4. Análise estatística	97
3. Resultados e discussão	97
3.1. Grupo DRC (G_{DRC}).....	97
3.2. Grupo IRA (G_{IRA}).....	99
4. Conclusão	100
Referências.....	100
Anexo	103
CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	104
ANEXOS.....	106

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 1

QUADRO 1 - Causas de hipoperfusão renal em humanos	03
QUADRO 2 - Causas de IRA intrínseca em cães e gatos	04
QUADRO 3 - Fármacos que induzem lesão renal em humanos	06
QUADRO 4 - Fármacos que causam nefrite túbulo-intersticial em humanos.	07
QUADRO 5 - Estadiamento da IRA em cães	11
QUADRO 6 - Estadiamento da DRC em cães com base na creatinina.....	22
QUADRO 7 - Subestadiamento da DRC em cães com base na proteinúria.	23
QUADRO 8 - Subestadiamento da DRC em cães com base na pressão arterial.....	23

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

FIGURA 1 - Classificação da injúria renal aguda (IRA) em pré-renal, renal intrínseca e pós-renal e suas causas. 03

CAPÍTULO 2

FIGURA 1 - Valores médios dos valores de pressão arterial sistólica (PAS) de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). 47

FIGURA 2 - Valores médios do número de hemácias, hemoglobina, hematócrito e plaquetas de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})..... 48

FIGURA 3 - Valores médios e desvio padrão dos valores absolutos médios e desvio padrão de leucócitos totais, bastonetes, segmentados, eosinófilos, linfócitos e monócitos de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}).. 49

FIGURA 4 – Valores médios de fibrinogênio de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}).....50

FIGURA 5 - (A e B) Valores médios de ureia e creatinina séricos de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). (C e D) Valores individuais de ureia e creatinina séricos de acordo com os momentos de avaliação dos cães do G_{IRA} 52

FIGURA 6 - (A, B e C) Valores médios de cálcio, fósforo e colesterol séricos de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}).. 54

FIGURA 7 - (A, B e C) Valores médios de proteínas totais, albumina e globulinas séricas de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}).....55

FIGURA 8 - Valores médios de albumina, globulinas séricas e razão albumina:globulinas de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). 57

FIGURA 9 - Valores médios de sódio e potássio séricos de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}).. 59

FIGURA 10 - Valores médios de pH, bicarbonato e deficit de base de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})..... 60

FIGURA 11 - Valores médios de razão PU:CU, GGT urinária e ALP urinária de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). 61

FIGURA 12 – Valores médios da excreção fracional de sódio e de potássio de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). 66

FIGURA 13 – Valores médios pH e densidade urinários de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). 67

FIGURA 14 – Valores médios de hemácias e leucócitos urinários de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). 69

FIGURA 15 – Valores médios de cilindros granulosos grossos e finos de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). 70

FIGURA 16 – Valores médios de células renais e células transicionais de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). 71

CAPÍTULO 3

FIGURA 1 - Valores médios de Cistatina C de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). 98

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADQI - *Acute dialysis quality initiative*

AKIN - *Acute kidney injury network*

ALPu - fosfatase alcalina urinária

BE - Déficit de base

DM - Diabete mellitus

DRC - Doença renal crônica

EF - Excreção fracional

GGTu - Gama glutamiltransferase urinária

IRA - Injúria renal aguda

IRIS - Sociedade Internacional de Interesse Renal

KDIGO - *Kidney Disease: improving global outcomes*

KIM -1 - Molécula de injúria renal 1

LV - Leishmaniose visceral

NAG - N-acetil- β -D-glucosaminidase

NGAL - Neutrófilo gelatinase associada à lipocalina

PAS - Pressão arterial sistólica

RIFLE - Risco-injúria-falência-perda-estádio final da doença renal

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a aplicação dos biomarcadores, em especial da cistatina C, no diagnóstico da doença renal em cães e compreendeu duas etapas. Uma fase constou da avaliação de 12 cães, sendo seis pertencentes ao grupo controle e seis cães pertencentes ao grupo experimental que foram submetidos a um protocolo de indução de injúria renal com 30 mg/kg ao dia de gentamicina, via subcutânea, durante 10 dias. Os cães foram avaliados durante 48 dias por meio de: exame clínico; hemograma e fibrinogênio; bioquímica sérica (ureia, creatinina, proteínas totais, albumina, fósforo, cálcio, sódio, potássio, colesterol e eletroforese das proteínas séricas); bioquímica urinária (sódio, potássio, gama glutamiltransferase e fosfatase alcalina); urinálise; determinação da razão proteína/creatinina urinária; hemogasometria e pressão arterial sistólica não-invasiva. A outra fase constou da mensuração da cistatina C sérica em 58 cães com doença renal crônica divididos nos estádios 2, 3 e 4 da IRIS (*International Renal Interest Society*) e em seis cães com injúria renal aguda induzida por gentamicina, avaliados durante 20 momentos após o início da injúria. Os resultados demonstraram que a enzima gama glutamiltransferase urinária e a excreção fracionada de sódio e potássio foram mais precoces em detectar a injúria renal aguda em cães do que outros marcadores mais utilizados na rotina clínica como a creatinina e a ureia. A cistatina C sérica não foi eficiente em detectar de forma precoce a doença renal crônica em cães nos estádios iniciais e a injúria renal aguda, possuindo uma baixa aplicabilidade neste estudo.

Palavras-chave: caninos, cistatina C, diagnóstico laboratorial, excreção fracional de eletrólitos, GGT urinária, nefropatias

ABSTRACT

The goal of the study was to evaluate cystatin C and other biomarkers as diagnostic tools in canine renal disease. The project was divided in two studies. In the first study renal injury was induced in 6 animals by subcutaneous administration of gentamicin (30mg/kg) for 10 days, and 6 animals were kept as controls. Animals were evaluated for 48 days by the following clinical and laboratorial parameters: physical examination; hemogram and fibrinogen levels; measurement of creatinine, urea, total proteins, albumin, phosphorus, calcium, sodium, potassium, cholesterol levels (biochemical analysis); serum protein electrophoresis; urine sodium, potassium, gamma glutamyltransferase and alkaline phosphatase levels; urinalysis; urine protein / creatinine ratio; hemogasometry and non-invasive systemic arterial pressure. The second study evaluated the level of cystatin C in 58 dogs suffering from different stages (2-4) of chronic renal disease, as defined by *International Renal Interest Society* (IRIS) guidelines. Six animals presenting acute renal injury induced by gentamicin treatment were also evaluated (for 20 time points upon injury). The results indicated that changes in urine gammaglutamyl transferase and fractional excretion of sodium and potassium were the earliest parameters indicating acute renal injury, even when compared to most common renal disease biomarkers: urea and creatinine. Cystatin C measurement, on the other hand, showed little value for early detection of chronic kidney disease and acute kidney injury in dogs.

Keywords: Canine, cystatin C, fractional electrolyte excretion, laboratory diagnosis, nephropathies, urinary GGT

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

As doenças renais representam as principais causas de mortalidade em cães. Os sinais clínicos variam de acordo com a extensão da lesão e o prognóstico depende da causa subjacente e do estágio da doença. Nesse sentido o diagnóstico precoce é um fator primordial na prevenção da evolução da doença, no sucesso do tratamento e na estabilização do paciente. Para apoiar os clínicos nesse propósito, existe uma ampla variedade de ferramentas de diagnóstico laboratorial que podem ser utilizadas.

Em humanos, a taxa de filtração glomerular (TFG) é o teste laboratorial de eleição para avaliação da função renal. Qualquer decréscimo na TFG reflete uma doença renal instalada ou em progressão, especialmente na doença renal crônica (DRC)¹. A substância adequada para a estimativa da TFG deve ser produzida a uma taxa constante no corpo, ter pouca ligação às proteínas plasmáticas, ser livremente filtrada e não ser reabsorvida ou secretada nos túbulos renais².

Por dificuldades inerentes à colheita da urina produzida dentro de 24 horas, a TFG não é determinada rotineiramente na avaliação da função renal de cães e gatos². A avaliação de rotina da função renal em cães baseia-se no exame de urina e na mensuração de ureia e creatinina sanguíneas³.

Na Medicina Veterinária, a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) propôs um sistema de estadiamento para cães e gatos com doenças renais agudas e crônicas que se baseia na mensuração de creatinina sanguínea. No entanto, a IRIS sugere que em breve a mensuração da TFG será o melhor critério para o estadiamento, assim como é feito em humanos⁴.

Há fatores que interferem nos resultados da creatinina, tais como peso corporal, raça, idade, horários das refeições e métodos analíticos. Estes devem ser levados em consideração durante a interpretação dos resultados, principalmente quando os valores estão no limite inferior e superior dos intervalos de referência⁵.

Outra limitação quanto ao uso da creatinina é que a TFG pode reduzir-se bruscamente nos estádios iniciais da doença renal progressiva, sem que haja aumento evidente

das concentrações de creatinina sanguínea. Em contraposição, diminuições mesmo que discretas na TFG nos estádios avançados das doenças renais irão conduzir a um aumento rápido nas concentrações de creatinina sanguínea⁶.

Diante disso, este estudo avaliou a aplicação de biomarcadores específicos no diagnóstico rotineiro da injúria renal aguda e da doença renal crônica, considerando que a detecção precoce da doença aumenta as possibilidades de sua estabilização, bem como da expectativa e qualidade de vida do paciente.

2. Caracterização do problema

2.1. Aspectos gerais da injúria renal aguda em cães

A injúria renal aguda (IRA) é a nova designação, definida em consenso, para substituir o termo insuficiência renal aguda. Esse novo termo enfatiza que existe dano contínuo ao rim antes mesmo que haja perda da função excretora renal suficiente para determinar alterações nos exames laboratoriais⁷.

A IRA resulta na inabilidade dos rins em exercer suas funções básicas de excreção e manutenção da homeostase hidroeletrólítica do organismo que pode se manter por períodos variáveis⁸. A redução abrupta da função renal ocorre em horas ou dias, e se reflete no aumento de substâncias nitrogenadas no sangue como creatinina e ureia, quadro denominado azotemia, clinicamente manifestado por uremia⁸.

De acordo com a origem, a IRA é classificada em pré-renal, renal (ou intrínseca) e pós-renal⁹ (Figura 1).

A IRA pré-renal, mais comum em humanos, ocorre quando a TFG diminui devido à redução da perfusão renal e acontece em cerca de 40% a 55% dos casos¹⁰. Quando a hipoperfusão renal prolonga-se, a isquemia renal pode causar necrose tubular aguda ou injúria renal intrínseca¹¹. As principais causas de hipoperfusão renal em humanos estão descritas no Quadro 1.

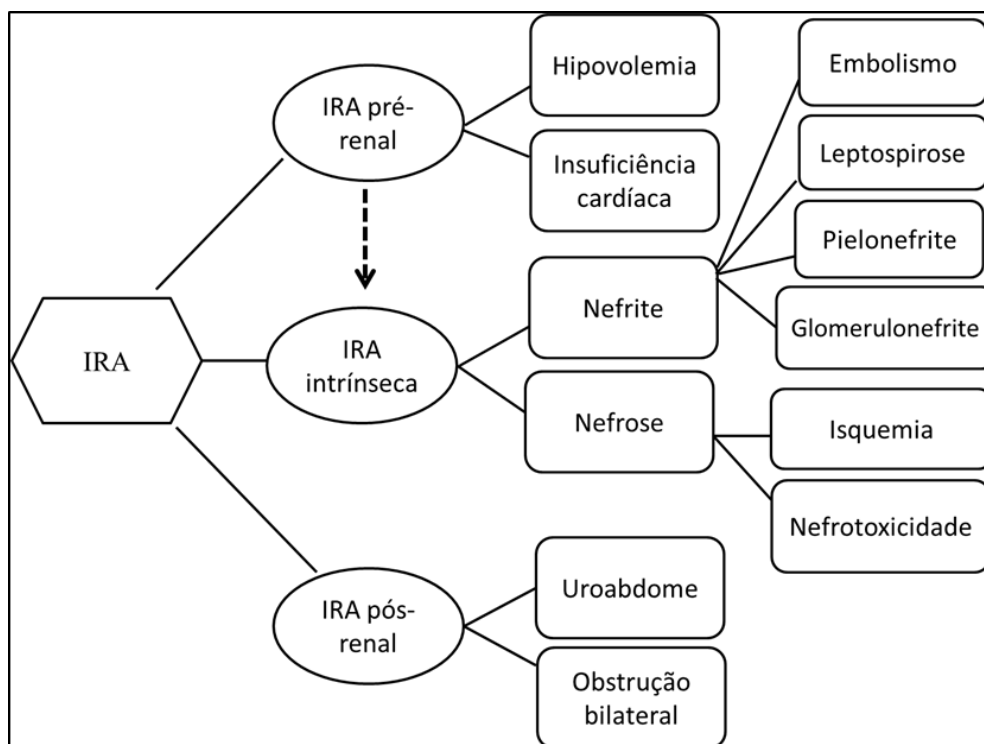


FIGURA 1 - Classificação da injúria renal aguda (IRA) em pré-renal, renal intrínseca e pós-renal e suas causas.

Fonte: Adaptado de Chew et al.²

QUADRO 1 - Causas de hipoperfusão renal em humanos

CAUSAS	CONDIÇÕES CLÍNICAS
Redução do volume intravascular	Hemorragia (trauma, cirurgia, pós-parto) Perdas gastrointestinais (diarreia, vômito) Perdas renais (diuréticos, diabetes insipidus) Perdas pela pele e membranas mucosas (queimaduras, hipertermia) Síndrome nefrótica Cirrose
Redução do débito cardíaco	Choque cardiogênico Doença pericárdica Insuficiência cardíaca congestiva Doença valvar mitral Doença pulmonar (hipertensão pulmonar, embolismo pulmonar) Sepse
Vasodilatação sistêmica	Cirrose Anafilaxia Sepse
Vasoconstrição renal	Sepse inicial Hipercalemia aguda Síndrome hepatorenal Fármacos e moléculas (vasopressina, norepinefrina, anti-inflamatórios não-esteroidais, enzima conversora de angiotensina) Agentes de contraste radiológicos

Fonte: Adaptado de Sharfuddin e Molitoris¹⁰

A IRA de origem pós-renal resulta da obstrução do fluxo urinário normalmente causado por urólitos nos rins, ureteres e uretra. Em cães, a maioria dos urólitos é observada no trato urinário inferior².

A IRA intrínseca ocorre quando há uma lesão na estrutura do néfron, como glomérulos, túbulos, vasos e interstício¹². Os principais tipos de lesão renal predominantemente envolvem os túbulos e o interstício, levando a lesão tubular aguda e necrose, ou nefrite intersticial com lesão tubular inflamatória. Outros tipos de lesão renal estão relacionados ao dano vascular e mais raramente, à lesão glomerular¹³.

Há várias causas potenciais de IRA intrínseca em cães e gatos (Quadro 2)¹⁴. Porém, existem poucos estudos que relataram a frequência das causas de IRA em cães e gatos. Em um estudo retrospectivo de IRA em 99 cães, 33 foram diagnosticados com isquemia, 21 animais foram expostos a nefrotoxinas, cinco tinham uma causa infecciosa (leptospirose ou pielonefrite), 18 cães tinham desordens múltiplas e em 22 cães as causas para a IRA não foram identificadas¹¹.

QUADRO 2 - Causas de IRA intrínseca em cães e gatos

CAUSAS	CONDIÇÕES CLÍNICAS
Doenças vasculares	Isquemia
Doenças vasculares	
Toxinas	Etilenoglicol Metais pesados Compostos orgânicos Uva (somente em cães) Hemoglobinúria ou mioglobinúria Envenenamento (cobra, abelha, vespa, formiga) Melamina / ácido cianúrico
Doenças infecciosas	Pielonefrite Leptospirose (somente em cães)
Fármacos	Antibióticos aminoglicosídeos Anfotericina B Cisplatina Anti-inflamatórios não-esteroidais Substâncias de contraste radiográfico
Hipercalcemia	Rodenticidas contendo calciferol
Hiperviscosidade	Hiperglobulinemia Policitemia
Doenças inflamatórias	Pancreatite aguda
Outras	Disfunção de múltiplos órgãos Sepse

Fonte: Adaptado de Ross¹⁴

Dentre as causas de IRA em cães, a desidratação e a hipovolemia são as mais comuns. A hipovolemia diminui a perfusão renal, o que ocasiona lesões isquêmicas, e também diminui o volume de distribuição de fármacos nefrotóxicos, que resulta no decréscimo da taxa de fluxo tubular e na absorção tubular de substâncias tóxicas. A hipoperfusão renal também pode ser causada por diminuição do débito cardíaco, diminuição da pressão oncótica do plasma, aumento da viscosidade sanguínea, hipotensão sistêmica e diminuição da síntese de prostaglandinas renais. Qualquer uma destas condições pode aumentar o risco de IRA¹⁵.

A administração de fármacos potencialmente nefrotóxicos aumenta o risco de desenvolvimento de IRA. Os mecanismos de toxicidade dos fármacos variam de acordo com a ação farmacológica, metabolismo e via final de excreção do agente administrado¹⁶.

A idade avançada e doenças renais preexistentes, que estão associadas com algum grau de disfunção renal, podem aumentar o potencial de nefrotoxicidade dos fármacos e lesão isquêmica. A idade tem sido identificada como fator de risco porque animais idosos possuem lesões renais preexistentes e perda subclínica de função renal¹⁵.

Medicamentos que são excretados por via renal podem exercer efeitos tóxicos diretamente nos túbulos renais com indução de lesão celular e morte, como na necrose tubular aguda (NTA) ou indução de inflamação no interstício renal, como na nefrite intersticial aguda (NIA). Outros tipos de lesão tubular inclui a nefrose osmótica induzida por soluções hipertônicas e a obstrução tubular causada pela precipitação de fármacos¹⁷.

A NTA é geralmente dividida em duas categorias: pós-isquêmica e nefrotóxica¹⁸. A NTA é a forma mais comum de lesão renal por exposição à nefrotoxinas. Muitos fármacos nefrotóxicos apresentam efeitos agudos que podem induzir NTA (Quadro 3)¹⁷.

Na NTA nem todos os néfrons são acometidos de forma homogênea, havendo néfrons com grande comprometimento de função ao lado de néfrons mais preservados. Na fase de recuperação pós NTA, a filtração glomerular (FG) se restabelece à medida que aumenta o número de néfrons funcionais¹⁹.

Na NIA, há uma condição inflamatória aguda que afeta especificamente os túbulos renais e o interstício e ocorre como uma reação de hipersensibilidade a medicamentos, mais comumente a antibióticos, podendo também estar associada a outras condições como sepse, doença imunomediada e doença glomerular¹⁷.

QUADRO 3 - Fármacos que induzem lesão renal em humanos

TIPO DE LESÃO RENAL		EXEMPLO DE FÁRMACOS
Necrose tubular aguda		Antibióticos aminoglicosídeos e sulfonamidas Cisplatina e fármacos antineoplásicos Diuréticos Fármacos anti-hipertensivos Antiinflamatórios não-esteroidais Ciclosporina e tacrolimus Agentes de contraste com efeito osmótico Agentes antivirais Lítio
Nefrite intersticial		Antiinflamatórios não-esteroidais Antibióticos Inibidores da bomba de prótons Inibidores da ciclooxigenase (COX-2) Anticonvulsivantes
Lesão vascular	Microangiopatia trombótica	Ciclosporina e tacrolimus Agentes antiplaquetários Quininas e Mitomicina Agentes antivirais
	Embolização de colesterol	Anticoagulantes Agentes trombolíticos
	Isquemia crônica	Ciclosporina e tacrolimus Analgésicos Antiinflamatórios não-esteroidais
Lesão glomerular		Antiinflamatórios não-esteroidais Pamidronato Ciclosporina Heroína Ouro Penicilamina

Fonte: Adaptado de William ¹³

A disfunção renal ocorre geralmente de uma a duas semanas após a exposição ao fármaco. Os principais sinais clínicos associados a antibióticos β lactâmicos e sulfonamidas incluem febre, eosinofilia e erupção cutânea. Outros achados característicos incluem presença de leucocitúria na urina e presença de infiltrado inflamatório no interstício renal²⁰.

Na NIA, a inflamação túbulo-intersticial ocorre sem atrofia significativa ou fibrose²¹. As alterações microscópicas evidenciam infiltrado intersticial de células mononucleares e eosinófilos, com presença de edema intersticial e tubulite¹³. Vários fármacos estão implicados no desenvolvimento de NIA²¹ (Quadro 4).

A IRA é descrita em quatro fases: iniciação, extensão, manutenção e recuperação. A fase de iniciação ocorre imediatamente após a lesão renal. Durante a fase de iniciação, medidas terapêuticas que reduzem o dano renal podem prevenir o estabelecimento da IRA. Na fase de extensão, a hipóxia, a isquemia, a inflamação e a lesão celular permanecem,

conduzindo a apoptose celular, necrose ou ambos. A fase de manutenção é caracterizada pela ocorrência de azotemia ou uremia, e pode persistir por dias ou semanas ¹⁴. Esta fase é caracterizada por lesões tubulares e disfunção renal. Na fase de recuperação ocorre diminuição da azotemia e reparação dos túbulos renais, com retorno da função renal à normalidade ou persistência da disfunção renal¹⁵.

QUADRO 4 - Fármacos que causam nefrite túbulo-intersticial em humanos

Antibióticos	Antiinflamatórios não-esteroidais (AINEs)	Anticonvulsivantes	Outros
Penicilinas Sulfonamidas Rifampicina Quinolonas Vancomicina	Ibuprofeno Indometacina Diclofenaco Piroxicam Inibidores COX-2 Salicilatos	Fenitoína Valproato de sódio Lamotrigina	Alopurinol Cimetidina Fenindiona Furosemida Inibidores da bomba de H ⁺

Fonte: Adaptado de Sharif e Ball²¹

As manifestações clínicas da IRA são variadas e inespecíficas e incluem anorexia, letargia, vômitos, diarreia, poliúria e polidipsia². Além disso, pode haver decréscimo da produção de urina, que nem sempre está presente e alterações laboratoriais como acidose metabólica e elevação nas concentrações de fósforo e potássio⁷.

Estudo com cães indicou que a função renal retornou à normalidade no prazo de 13 dias em 75% de pacientes com IRA, enquanto nos outros 25% esse prazo estendeu-se até 60 dias. Esses resultados demonstram a variabilidade da IRA, cujo retorno à função renal normal pode demorar meses ou mesmo progredir para doença renal crônica¹¹.

Em cães com IRA, observou-se oligúria ou anúria em 64% dos casos, comprometimento respiratório em 31,3%, disfunção neurológica em 19,2% e sinais compatíveis com coagulação intravascular disseminada em 17%²².

Em outro estudo, foram observadas lesões extrarenais atribuídas à uremia, como úlceras orais, mineralização da mucosa gástrica e da musculatura lisa pulmonar e paredes alveolares, em alguns cães e gatos que desenvolveram IRA após a ingestão das toxinas melamina e ácido cianúrico presentes em rações comerciais²³.

O prognóstico da IRA em animais de companhia é ruim, com taxas de mortalidade que variam entre 50% e 60% e, na maioria dos casos, o óbito ocorre logo após a realização do diagnóstico. A associação de diagnóstico tardio, testes diagnósticos de baixa sensibilidade,

sinais clínicos insidiosos que retardam a procura a um médico veterinário e a rápida progressão da injúria renal associada à nefrotoxinas são fatores que elevam a taxa de mortalidade de animais com IRA²⁴.

2.1.1. Fisiopatogenia

A fisiopatogenia da IRA envolve uma interação complexa entre fatores vasculares, tubulares e inflamatórios, seguido por um processo de reparação que pode restaurar a diferenciação epitelial e retomar a função ao normal ou resultar no remodelamento fibrótico progressivo de extensão variável, evoluindo para DRC. Se a IRA está associada à lesão de isquemia e reperfusão, sepse ou toxinas, há uma rápida perda da integridade do citoesqueleto da célula tubular proximal e da polaridade celular. As células epiteliais do segmento S-3 dos túbulos proximais na medula externa são mais susceptíveis à isquemia e toxicidade. Por outro lado, este segmento parece ser a fonte de fornecimento de células que organizam a reconstituição epitelial na fase de reparação²⁵.

Quando há hipoperfusão renal leve, mecanismos compensatórios são capazes de manter a TFG. A autorregulação renal controla o fluxo sanguíneo renal e a TFG no intuito de mantê-los de forma constante dentro das variações fisiológicas da pressão arterial. Esses mecanismos consistem na vasodilatação da arteríola aferente que é mediada principalmente por prostaglandinas, óxido nítrico, componentes de autorregulação da TFG e vasoconstrição na arteríola eferente, mediada pela ativação da angiotensina II. A falha desses mecanismos pode resultar em insuficiência pré-renal devido ao decréscimo da TFG²⁶. O decréscimo na TFG reduz o fluxo de sangue nos capilares eferentes, agrava a isquemia e leva a lesão renal tubular²⁷.

Se a perfusão renal diminuída persiste, ocorre uma rápida degradação intracelular de adenosina trifosfato (ATP) a adenosina difosfato (ADP) e adenosina monofosfato (AMP) e conseqüentemente necrose tubular renal²⁸. A AMP pode ser ainda degradada em outros nucleotídeos de adenina que se difundem para fora das células, prevenindo a ressíntese de ATP. O decréscimo de ATP intracelular leva a várias alterações metabólicas e estruturais no interior das células tubulares renais, com aumento da concentração de cálcio intracelular, subsequente ativação de proteases e fosfolipases e diminuição da atividade da Na⁺K⁺-ATPase, o que pode alterar o gradiente de concentração intracelular¹⁴.

A redução de oxigênio nas células tubulares renais leva à ruptura do citoesqueleto, resultando em descamação das células intactas e formação de fragmentos celulares dentro do lúmen tubular, bem como interrupção do transporte de sódio. A alta concentração de sódio dentro do túbulo provoca a polimerização da proteína Tamm-Horsfall. Ocorre então a oclusão dos túbulos renais por cilindros celulares, cilindros proteicos e detritos celulares. Esta oclusão aumenta a pressão hidrostática intratubular e reduz a TFG. Outros fatores envolvidos na fisiopatologia da IRA incluem vasoconstrição renal, hipóxia na região da medula renal e quimiotaxia de neutrófilos associada à liberação de enzimas e mediadores inflamatórios²⁷. Acredita-se que a resposta inflamatória desempenhe papel importante na IRA. Os neutrófilos aderem às células endoteliais, por meio da adesão de moléculas seletina-P e da molécula I. Os neutrófilos migram para o interstício, resultando em alterações na permeabilidade vascular e endotelial e na integridade das células epiteliais tubulares renais. A obstrução dos capilares pode ser causada pelo acúmulo de neutrófilos, plaquetas e hemácias¹⁴.

Na IRA a apoptose e a necrose ocorrem como resultado de lesão isquêmica e tóxica¹⁶. Diferentes tipos de lesões renais podem resultar em necrose ou apoptose. A necrose é o processo pelo qual as células morrem agudamente e é caracterizada pelo rápido colapso metabólico, edema celular e perda da integridade da membrana plasmática, com liberação de enzimas proteolíticas que desencadeiam a inflamação. A apoptose, ou morte celular programada, geralmente não ocasiona lesão tecidual ou inflamação²⁹. Lesões que possuem menor gravidade geralmente resultam em apoptose, enquanto que lesões mais severas cursam com necrose³⁰.

Embora o termo necrose seja usado, nem sempre há evidência de necrose à microscopia óptica. As alterações microscópicas variam desde a perda da borda em escova e vacuolização citoplasmática à perda das células com exposição da membrana basal tubular e células tubulares achatadas. Os túbulos proximais geralmente são os mais acometidos. Cilindros granulados com detritos celulares podem ser visibilizados no lúmen tubular, com presença de cristais em alguns casos¹³. Os cilindros podem contribuir para a insuficiência renal, causando obstrução intratubular¹⁸.

2.1.2. Estadiamento da IRA

As altas taxas de mortalidade (28% a 82%) e os variados índices de incidência (1% a 31%) em humanos com IRA fez com que grupos de pesquisadores buscassem uma definição amplamente aceita para a IRA que pudesse proporcionar uniformidade no diagnóstico³¹.

Para enfatizar melhor o conceito de que a IRA representa uma lesão renal que é progressiva, os esquemas de estadiamento (RIFLE e AKIN) foram propostos para pacientes humanos para estratificar a extensão e duração da lesão renal e prever os resultados clínicos. O grupo *Acute dialysis quality initiative* (ADQI) propôs em 2004 a classificação de RIFLE (Risco-injúria-falência-perda-estádio final da doença renal) que define as classes de gravidade da IRA baseado na elevação da concentração de creatinina sérica, diminuição da TFG e diminuição do fluxo urinário por quilo de peso. Em 2007, a classificação do RIFLE foi revista e a classificação da *Acute kidney injury network* (AKIN) começou a ser utilizada. Nessa classificação foram adicionados como critério diagnóstico de IRA, um aumento de 0,3 mg/dL na concentração da creatinina sérica em relação ao valor de referência e o tempo para diagnóstico passou de sete dias para 48 horas. Posteriormente, a KDIGO (*Kidney disease: improving global outcomes*) propôs um consenso de definição que combinou o melhor dos dois sistemas de classificação. Ficou definido como critério diagnóstico para a IRA um aumento na concentração de creatinina de 0,3 mg/dL em 48 horas e para um aumento de 50% no valor de creatinina sérica, o prazo de sete dias. Além disso, a KDIGO classificou a IRA em 3 graus de gravidade crescente: Estádio 1 - risco; Estádio 2 - lesão; Estádio 3 - insuficiência. Os critérios de fluxo urinário foram mantidos³².

Em 2013, a IRIS adaptou essa mesma abordagem esquemática para classificar e graduar a gravidade da IRA em cães e gatos. O estágio representa um determinado momento do insulto que pode mudar à medida que a condição piora, melhora, ou evolui para DRC. A classificação para cães e gatos baseia-se na concentração de creatinina sérica e na produção de urina e os subestádios classificam os animais em oligúricos e não-oligúricos (Quadro 5)³³.

Essa classificação torna possível diagnosticar precocemente a doença, assim como estabelecer as medidas terapêuticas e avaliar o tratamento. Animais classificados nos estádios I e II podem recuperar a função renal dentro de dois a cinco dias e não precisarão de acompanhamento em longo prazo. Animais que se encontram nos estádios mais avançados da

doença ou cujo grau progride durante a hospitalização, podem necessitar de apoio durante tempo maior até o início do reparo da função renal. Animais que estejam com sinais graves de uremia podem morrer dentro de cinco a 10 dias, apesar do tratamento convencional apropriado, a menos que estejam passando por sessões de hemodiálise por tempo indeterminado³³.

QUADRO 5 - Estadiamento da IRA em cães

GRAU	CREATININA SÉRICA	ASPECTOS CLÍNICOS
I	<1,6 mg/dL	Pacientes não-azotêmicos Lesão renal comprovada por exames, oligúria/anúria fluido responsivos, aumento de creatinina: 0,3 mg/dL em 48 horas, oligúria (<1 ml/kg/hr) ou anúria por mais de 6 horas.
II	1,7 a 2,5 mg/dL	Azotemia leve Difere do grau I por haver azotemia estática ou progressiva.
III	2,6 a 5,0 mg/dL	Azotemia moderada a intensa Pacientes com injúria renal aguda comprovada, com azotemia intensa, falência da função renal e uremia.
IV	5,1 a 10,0 mg/dL	
V	> 10,0 mg/dL	

Fonte: <http://www.iris-kidney.com>

2.1.3. Diagnóstico laboratorial em cães com IRA

Os biomarcadores são definidos como variáveis biológicas mensuradas que atuam como indicadores de processos normais, patológicos ou em resposta a um tratamento. Para um biomarcador de injúria renal ser considerado ideal é necessário que seja capaz de detectar a injúria renal em estágio inicial, determinar o local da injúria, diferenciar se a azotemia possui causa renal ou se o processo é extrarrenal, prever a gravidade e extensão do processo e, por fim, monitorar os efeitos do tratamento. Para ser clinicamente aplicável, o biomarcador deve ser preciso, fácil de ser mensurado e não invasivo. O estudo de possíveis biomarcadores que estão próximos do ideal contribui para o esclarecimento da fisiopatologia das doenças renais e para o estabelecimento da conduta terapêutica eficaz para determinada doença³².

Por um longo tempo, a ureia e creatinina séricas foram biomarcadores de eleição para diagnóstico primário de injúria tubular aguda induzida por fármacos nefrotóxicos. Entretanto, vários estudos relataram que a ureia e creatinina em conjunto com a quantificação da produção de urina são ineficientes em identificar danos estruturais e disfunção renal em estádios iniciais da IRA³⁴.

Além de ureia e creatinina, exames de rotina utilizados para o diagnóstico de IRA em cães incluem mensuração sérica de fósforo, sódio, potássio, avaliação do perfil ácido-base, exame de urina e ultrassonografia renal¹⁴.

A mensuração de colesterol sérico é importante na avaliação das doenças glomerulares que são as principais causas de DRC em cães. Esses pacientes podem desenvolver síndrome nefrótica que se caracteriza pela presença simultânea de hipoalbuminemia, proteinúria, hiperlipidemia e acúmulo de líquidos intersticiais ou em cavidades corpóreas³⁵. A diminuição da pressão oncótica plasmática devido à hipoalbuminemia e ao aumento da perda de fatores reguladores do metabolismo lipídico na urina, aumentam a síntese e diminuição do catabolismo periférico das lipoproteínas. As lipoproteínas de elevado peso molecular, ricas em colesterol, que não são facilmente perdidas pela parede capilar glomerular lesionada, se acumulam, enquanto que proteínas de baixo peso molecular, tais como a albumina e a antitrombina III são perdidas na urina².

A diminuição do catabolismo hepático das lipoproteínas ocorre devido à função anormal da lipase lipoproteica que requer sulfato de heparina como cofator e suas concentrações estão diminuídas no pacientes com síndrome nefrótica². Em humanos foi relatado que o metabolismo lipídico também está alterado na IRA e a atividade da lipase lipoproteica e hepática está diminuída em até 50%³⁶.

Cães com IRA apresentam concentrações séricas de fósforo frequentemente altas o que pode refletir a diminuição da TFG em vez da duração da injúria¹⁴. A hiperfosfatemia pode ocorrer de forma desproporcional nos primeiros estádios da IRA e, ao contrário do que ocorre na DRC, não há tempo suficiente para ocorrer o desenvolvimento de hiperparatireoidismo secundário renal, mecanismo compensatório de controle das concentrações séricas de fósforo por ação do paratormônio nas células tubulares renais, em decorrência da injúria grave das células tubulares². A hipocalcemia é frequentemente relatada na IRA e pode ocorrer devido à elevação do fósforo sérico e à resistência à ação do paratormônio³⁶.

A excreção fracionada de sódio é o teste de triagem mais preciso para diferenciar se a doença tem origem pré-renal ou renal. Um valor abaixo de 1% sugere, assim, doenças de origem pré-renal. Por outro lado, entre os pacientes com doença renal crônica, um processo de origem pré-renal pode não resultar em uma baixa concentração de sódio ou excreção

fracionada de sódio na urina. Um grande problema que leva a resultados confusos, é a utilização prévia de diuréticos, o que interfere na interpretação dos resultados²⁵.

As concentrações séricas de potássio podem estar elevadas ($> 5,5$ mEq/L) ou no limite superior de referência devido à redução na função excretora renal². Em relação ao perfil hemogasométrico, cães com IRA apresentam acidose metabólica de moderada a grave na fase de manutenção da IRA, com maior intensidade em pacientes com IRA do que em pacientes com DRC estabilizada².

A avaliação do sedimento urinário, especialmente de cilindros urinários e a determinação da densidade urinária pode ser útil no diagnóstico de IRA, mas esses testes possuem baixa sensibilidade e especificidade³². Os indicadores urinários de IRA em cães são a presença de proteinúria, glicosúria, hematúria, cilindrúria, isostenúria e células epiteliais tubulares renais³⁷.

A análise de biomarcadores urinários pode representar a melhor opção para avaliação de injúria renal em humanos e animais. Entretanto, pequenas mudanças na creatinina sérica também auxiliarão na detecção de IRA em um estágio mais precoce, e por isso a IRIS adotou o sistema de estadiamento para a IRA de acordo com as concentrações de creatinina séricas³².

Os biomarcadores urinários indicativos de lesão tubular incluem a mensuração de proteínas de baixo peso molecular que normalmente são filtradas pelos glomérulos e a avaliação da atividade de enzimas urinárias. A presença de concentrações elevadas desses marcadores na urina indica diminuição da reabsorção de proteínas plasmáticas pelas células tubulares ou aumento da secreção de enzimas urinárias pelas células epiteliais tubulares, ambos ocasionando proteinúria tubular³⁸.

A razão enzima/creatinina urinária foi observada como um bom indicador de injúria renal em cães antes do início da azotemia. Resultados falso-positivos podem ocorrer quando há lesão glomerular grave resultando num aumento da filtração glomerular de enzimas séricas. Resultados falso-negativos podem ocorrer quando a lesão tubular extensa diminui a reserva das enzimas tubulares¹⁵.

Dependendo da sua origem no rim, os biomarcadores podem ser sítio específico ou refletir função regional. Por exemplo, a razão de proteínas de alto a baixo peso molecular pode ser utilizada para distinguir dano glomerular de dano tubular. A microalbuminúria é

geralmente considerada como um indicador de disfunção glomerular enquanto a excreção de transferrina indica lesão mais grave³⁹.

Há um número de proteínas de baixo peso molecular que refletem lesão tubular, incluindo β 2-microglobulina, proteína ligada ao retinol e α 1-microglobulina. Enzimas lisossomais, particularmente N-acetil- β -D-glucosaminidase (NAG) e enzimas da borda em escova, como por exemplo, alanina aminopeptidase, são indicadores altamente sensíveis de lesão tubular proximal³⁹.

Outros biomarcadores têm sido propostos como marcadores precoces de detecção de injúria renal em cães, incluindo albumina urinária, clusterina, cistatina C no soro e na urina, molécula de injúria renal urinária (KIM-1), fator trefoil-3, proteína total urinária, ácido graxo ligado à proteína - tipo hepático na urina (L-FABP) e neutrófilo gelatinase associada à lipocalina urinária (NGAL)⁴⁰. São citados também os biomarcadores de disfunção tubular como a proteína ligada ao retinol (RBP) e a gama glutamiltransferase (GGT)²⁴.

a) Creatinina sérica

A creatinina sérica é o analito mais frequentemente utilizado como marcador indireto da TFG em animais. Isto se deve ao fato da excreção da creatinina ser relativamente constante durante o dia. As vantagens do uso da creatinina sérica são a disponibilidade, o baixo custo e a facilidade na execução. Além disso, a creatinina possui maior precisão quando a TFG se mantém estável²⁴.

A creatinina origina-se da degradação da creatina e da creatina-fosfato que estão presentes nos músculos e nos alimentos. É eliminada do organismo por filtração glomerular, não é absorvida pelos túbulos renais e possui secreção renal mínima, o que torna sua depuração uma boa estimativa da TFG¹.

Em humanos já foi demonstrado que a creatinina sérica varia com a idade, sexo, estado nutricional e massa muscular¹. Em cães não foi observado diferença entre sexos independentemente da idade. Quanto à idade, existem controvérsias. Na maioria dos estudos a concentração de creatinina decresceu nos primeiros dias de vida e estabilizou-se aos dois meses ou elevou-se até um ano de idade. A creatinina foi estável ou aumentou moderadamente em cães adultos acima de oito a 10 anos de idade, e então, diminuiu enquanto o peso permaneceu o mesmo. Em relação à massa muscular, cães recém-nascidos de grande porte

apresentaram maiores concentrações séricas de creatinina. Em cães adultos, a creatinina aumenta com o peso corporal, enquanto diminui em cães caquéticos. Em relação à raça, cães galgos e outras raças de cães de corrida apresentaram maiores concentrações de creatinina séricas⁵.

De forma semelhante, em outro estudo foi observado que a massa muscular e o tamanho dos cães exercem uma variação no limite de referência para a creatinina³. Esses resultados enfatizam a importância da reavaliação dos intervalos de referência de acordo com a raça dos cães para a interpretação dos valores de creatinina.

A relação da creatinina sanguínea com a TFG é inversamente curvilínea, ou seja, a concentração de creatinina sérica continua constante à medida que a TFG diminui em doenças renais nos estádios iniciais, o que explica a baixa sensibilidade como ferramenta diagnóstica de triagem⁴¹. Essa é a principal desvantagem da creatinina sanguínea, visto que se eleva somente quando a TFG diminui em pelo menos 50% e não mostra as variações dinâmicas na TFG. Apesar disso, a creatinina continua sendo o principal metabólito utilizado para monitoração da IRA em homens e animais⁷.

b) Ureia

A excreção renal de ureia ocorre por meio de filtração glomerular, e sua concentração é inversamente proporcional à taxa de filtração glomerular. A depuração da ureia não é uma estimativa confiável da TFG visto que em quadros de hipovolemia, ocorre aumento da reabsorção tubular de ureia e diminuição de sua depuração sem que haja diminuição da TFG. Além disso, sua produção e excreção não são constantes. Condições como alimentação rica em proteínas, sangramento gastrointestinal, aumento do catabolismo, inanição, febre e infecções, ou ingestão de medicamentos como glicocorticoides e azatioprina elevam a produção de ureia. A concentração de ureia pode estar reduzida em animais com ingestão pobre em proteína, uso de esteroides anabolizantes, quadros de insuficiência hepática grave, ou desvio portossistêmico².

Vários estudos relataram que a concentração de creatinina sanguínea apresenta valores mais fidedignos do que a concentração de ureia sanguínea pelo fato desta alterar-se em quadros não associados à disfunção renal, como os citados anteriormente. Um estudo³ avaliou a relação entre os dois analitos em amostras de soro de 4799 cães e observaram alta

correlação, não havendo influência do sexo ou idade. Nesse estudo, observaram que 27,5% das amostras apresentavam concentrações elevadas de ureia e valores dentro da normalidade de creatinina, enquanto houve uma porcentagem de 1,6% de amostras que apresentaram elevadas concentrações de creatinina e valores normais de ureia. Essa discrepância entre os analitos mostrou que há vários fatores de variação extrarenais para a ureia, e que sua utilização deve ser reservada para casos clínicos em que a causa extrarenal da sua elevação é suspeita e em casos que sua mensuração adicione ao diagnóstico, como por exemplo, em animais desidratados ou em choque.

c) Neutrófilo gelatinase associada à lipocalina (NGAL)

O biomarcador neutrófilo gelatinase associado à lipocalina é um marcador de disfunção tubular que tem sido considerado um biomarcador promissor na detecção precoce da IRA²². É uma proteína de 25 kDa expressa em neutrófilos bem como em muitas células epiteliais incluindo túbulos proximais renais, alça de Henle e ductos coletores²⁴.

A NGAL é filtrada pelos glomérulos e reabsorvida no epitélio tubular proximal. É secretada em pequenas quantidades no ramo ascendente dos túbulos renais. Na injúria tubular proximal, a síntese de NGAL aumenta e a reabsorção decresce enquanto as concentrações urinárias aumentam. Na injúria tubular distal, a síntese e secreção de NGAL aumentam³⁴.

Em humanos, elevadas concentrações de NGAL detectaram IRA secundária às cirurgias cardíacas, nefropatias induzidas por contrastes e em pacientes críticos. Quando comparada a outros biomarcadores como NAG, α 1-microglobulina e creatinina, a NGAL mostrou-se superior em detectar IRA e a necessidade de terapia conservativa renal²⁴.

Em estudo em ratos, a NGAL foi o biomarcador mais rápido na detecção de injúria renal na fase inicial pós-isquemia, sendo detectada na primeira amostra de urina duas horas após o início da isquemia e o aumento dos seus níveis foi correlacionado com a duração da isquemia. Além disso, a NGAL foi amplamente detectada na urina de ratos com nefrotoxicidade induzida por cisplatina²⁵.

Em estudo em cães, observou-se que a NGAL urinária foi muito sensível em detectar IRA nos cães que receberam altas doses de gentamicina³⁴.

A razão NGAL/creatinina urinária foi um índice altamente sensível e específico para IRA em cães, podendo ser utilizado em pacientes em risco para desenvolver IRA e também como marcador diagnóstico das formas discretas da IRA anteriormente ao curso da doença²².

As desvantagens da NGAL são interferências como a hematúria e leucocitúria e diminuição da especificidade quando há inflamação e infecção²⁴.

d) N-acetil- β -D-glucosaminidase (NAG)

A NAG é uma enzima que está localizada nos lisossomos das células tubulares proximais e possui elevado peso molecular, e assim, não é filtrada pelos glomérulos. O aumento da atividade desta enzima na urina sugere lesão de células tubulares e, portanto, pode servir como um marcador urinário específico para células tubulares²⁵.

A detecção da NAG pode ser mais adequada para a detecção de IRA do que DRC. Sua atividade pode ser subdividida por isoenzima. Isoenzimas da NAG podem ser usadas para distinguir lesão glomerular de tubular. A NAG A está associada com o processamento da proteína tubular e atividade lisossomal. A NAG B pode ser mais indicativa de dano renal tubular²⁴.

Em humanos, o aumento da excreção urinária de NAG foi observado na IRA de etiologia variada, induzida por agentes tóxicos, após a cirurgia cardíaca e após o transplante renal²⁵.

Na Medicina Veterinária estuda-se a NAG como biomarcador de disfunção renal há mais de 20 anos. Foi descrito aumento da razão NAG/creatinina urinária em cães com IRA induzida por antibióticos nefrotóxicos¹⁵. Entretanto, em outro estudo não houve mudança nas concentrações de NAG urinárias em cães nos estádios iniciais com IRA induzida por gentamicina⁴⁰.

Foi relatado o aumento da atividade de NAG urinária em cães com IRA associada com piometra, leishmaniose e nefrotoxinas²⁴. A razão NAG/creatinina urinária aumentou em cães com pielonefrite comparados a cães com infecção do trato urinário inferior não complicada³². Uma das limitações do uso da NAG é o fato de ser afetada por proteinúria, hipertireoidismo, diabetes mellitus, piúria em urina alcalina e armazenamento prolongado²⁴.

e) Gama glutamiltransferase (GGT) urinária

A GGT é uma enzima que se localiza no lado luminal da borda em escova das células tubulares proximais³². Esta enzima participa no transporte de aminoácidos e na manutenção da reserva de aminoácidos na célula. A GGT também está presente no fígado, pâncreas, baço, pulmão, intestino delgado, placenta, sistema nervoso central, próstata e miocárdio³⁷.

Devido ao seu grande peso molecular, a GGT não é filtrada pelos glomérulos e sua presença na urina deve-se à sua eliminação a partir das microvilosidades das células tubulares proximais, portanto, seu aumento indica lesão epitelial tubular proximal⁹. A GGT urinária é considerada um marcador de lesão renal precoce e também de lesão renal persistente em cães⁴².

Vários estudos avaliaram a atividade da GGT urinária em cães com IRA. Valores de GGT urinária foram significativamente elevados em cães com IRA comparados a cães saudáveis, mas não foi significativamente diferente em cães saudáveis comparados a cães com DRC. Entretanto, a gravidade das lesões histopatológicas não foi correlacionada à atividade da GGT urinária nos grupos com IRA e DRC⁴³.

Em cães com nefrotoxicidade induzida por gentamicina, a atividade da GGT urinária elevou-se significativamente após quatro dias da aplicação da gentamicina, enquanto os níveis séricos de ureia e creatinina elevaram-se significativamente após sete dias. Alterações de urinálise foram concomitantes ou ligeiramente tardias (cinco dias) às alterações da GGT urinária⁴⁴.

Em outro estudo com cães com IRA induzida por gentamicina, os valores de GGT urinária elevaram-se de forma crescente à partir de 24 horas de administração da gentamicina até o final do experimento, enquanto os valores de creatinina e ureia elevaram-se no 12º e 14º dias do estudo³⁷.

Entretanto, a atividade de GGT urinária não foi eficaz para o diagnóstico precoce de lesão renal em cães submetidos à terapia com anfotericina B, um fármaco causador de disfunção tubular proximal e distal. Neste estudo, a diminuição da densidade urinária e a presença de cilindros mostraram-se indicadores mais precoces⁴⁵.

Concentrações urinárias elevadas de GGT, NAG e fosfatase alcalina foram observadas em cadelas com piometra. Os valores elevados dessas enzimas urinárias foram

correlacionados às lesões nas células tubulares proximais observadas no exame histopatológico⁴⁶.

f) Fosfatase alcalina urinária (ALPu)

A ALPu é uma enzima que se origina da borda em escova das células dos túbulos proximais. A excreção elevada de ALPu e de outras enzimas urinárias como GGT, lactato desidrogenase e NAG indicam injúria renal anteriormente à proteinúria⁴⁰.

A ALPu tem sido relatada por sua precocidade em detectar lesão tubular, apresentando aumento da atividade em pacientes com necrose tubular aguda e em pacientes com nefropatia diabética⁴². Em pacientes que não apresentavam IRA no dia da hospitalização, a ALPu juntamente com NGAL e IL-18 foram eficientes em prever diálise⁴⁷.

A avaliação da atividade da ALPu em cães com IRA induzida por gentamicina, cães com DRC e cães saudáveis indicou aumento significativo da atividade de ALPu nos cães com IRA comparados aos cães saudáveis e com DRC. Entretanto, não houve correlação da enzimúria observada nos cães com IRA com o grau das alterações histopatológicas⁴³. Em outro estudo a elevação da atividade da ALPu em cadelas com piometra foi correlacionado às lesões nas células tubulares proximais observadas no exame histopatológico⁴⁶.

g) Molécula de injúria renal-1 (KIM-1)

A KIM-1 é uma glicoproteína de membrana celular tipo I com um domínio externo clivável, localizado na membrana apical de túbulos com lesão renal aguda e crônica. Acredita-se que a KIM-1 desempenha um papel nos processos de regeneração após lesão epitelial⁴⁷. A expressão de KIM-1 é marcadamente regulada 24 a 48 horas após injúria isquêmica ou tóxica aos túbulos proximais renais, e também é expressa na fibrose e inflamação renal²⁴.

A KIM-1 possui características que a tornam um biomarcador útil para diagnóstico de IRA em pessoas e roedores: baixa expressão em rins saudáveis, rápida elevação após lesão isquêmica ou tóxica e liberação de seu domínio clivável na urina⁴⁸.

A KIM-1 é um promissor marcador renal para o diagnóstico precoce de IRA em humanos e foi eficaz em detectar IRA no período pós-operatório após cirurgia cardíaca, mas não em prever a progressão da IRA³². Concentrações urinárias elevadas de KIM-1 previram necessidade de terapia de substituição renal e mortalidade hospitalar em humanos⁴⁹.

Estudos sobre a KIM-1 são escassos em animais²⁴. Em felinos, a KIM-1 foi expressa em segmentos específicos do néfron e detectada na urina de gatos em risco de IRA, o que sugere ser um indicador útil de lesão tubular⁴⁸.

2.2. Aspectos gerais da DRC em cães

A DRC é comumente relatada em cães e gatos mais velhos, sendo a doença renal mais frequente em pacientes idosos. A prevalência geral da DRC é de 0,5% a 7% em cães e de 1,6% a 20% em gatos. A prevalência aumenta para 15% em cães com mais de 10 anos de idade e até 31% em gatos com mais de 15 anos de idade. A sobrevida média diminui em estágios mais avançados, sendo relatada sobrevida média de 1512 dias para gatos com DRC estágio II, 778 dias para gatos estágio III e 103 dias para gatos estágio IV²⁴. Para cães com DRC, a sobrevida média relatada em estudo em cães no Reino Unido foi de 226 dias considerando todos os estágios⁵⁰.

A DRC ocorre quando o comprometimento funcional e/ou estrutural de um ou ambos os rins persiste por mais de três meses. Na maioria dos pacientes, há perda funcional e estrutural em pacientes com DRC. Entretanto, o grau de comprometimento funcional nem sempre reflete a perda estrutural⁵¹.

A DRC pode ser causada por doenças ou distúrbios que afetam qualquer porção do néfron, incluindo seu suprimento sanguíneo e o interstício. As lesões são progressivas e na maioria das vezes irreversíveis. O processo da doença subjacente afeta primariamente os glomérulos, túbulos, interstício ou o suprimento sanguíneo ao néfron, e quando ocorrem danos irreversíveis a qualquer um destes componentes, todo o néfron se torna afunçãoal¹⁵.

Entre os fatores de risco da DRC estão idade avançada, raças de porte pequeno, doença renal familiar em raças específicas como Shar Pei, Bull Terrier, Cocker Spaniel, Terrier Branco e Boxer e doença periodontal⁵⁰.

A etiologia da DRC é multivariada e numerosas causas têm sido identificadas como, por exemplo, desordens imunológicas, amiloidose, neoplasia, inflamação, infecção e obstrução do fluxo urinário⁵². Entretanto, a causa subjacente da doença renal é geralmente desconhecida¹⁵.

Devido à grande quantidade de reserva funcional e hipertrofia compensatória de néfrons viáveis remanescentes, os sinais clínicos e dados laboratoriais compatíveis com DRC não estão presentes na maioria dos casos, até que mais de 80% a 85% de todos os néfrons estejam afuncionais. Neste momento, a melhoria da função renal muitas vezes não é possível, e o tratamento do paciente com DRC tem como objetivo reduzir a carga de trabalho renal, reduzir os sinais clínicos associados à diminuição da função renal e diminuir a progressão da doença¹⁵.

Assim, a identificação precoce da DRC é importante devido ao fato de que em estágios avançados torna-se mais difícil descobrir a etiologia. Quando a causa subjacente é encontrada, o tratamento possibilita a estabilização do paciente e até mesmo melhoria da função renal. Porém, em estágios avançados as alterações são extensas e irreversíveis, o que dificulta a identificação da etiologia e piora o prognóstico⁵³.

O diagnóstico da DRC baseia-se no histórico, exame físico e exames laboratoriais que sugerem doença prolongada¹⁴.

As manifestações clínicas variam e incluem perda de peso e de massa muscular, hiporexia ou anorexia, vômitos, halitose, desnutrição, pelos eriçados, estomatite ulcerativa e gastroenterite⁵¹. A poliúria e polidipsia, que ocorrem devido a uma incapacidade dos rins em regular o equilíbrio hídrico, podem ser as primeiras alterações observadas pelos proprietários. A noctúria também pode ser relatada².

Ao exame físico, os rins estão pequenos e irregulares, confirmados por exames de imagem e a pressão arterial sistêmica está elevada em 40% a 80% dos pacientes⁵¹.

A DRC e hipertensão sistêmica ocorrem simultaneamente em muitos pacientes, embora nem sempre seja claro no momento do diagnóstico se a hipertensão é a causa ou consequência da DRC. A pressão arterial elevada pode também levar a danos a outros órgãos-alvo, como, coração, olhos e cérebro⁵³.

As alterações laboratoriais variam de acordo com o estágio da doença e incluem azotemia, urina diluída, acidose metabólica, hiperfosfatemia, hipocalcemia que é mais frequente em gatos, anemia arregenerativa, hipoalbuminemia, dislipidemia, infecção bacteriana do trato urinário e proteinúria, que está associada à progressão mais rápida da doença⁵¹.

A causa primária da anemia no DRC é um déficit absoluto ou relativo na produção de eritropoietina pelas células intersticiais peritubulares de modo que o paciente urêmico não

pode atender a demanda de novos glóbulos vermelhos. A eritropoietina estimula a diferenciação de células progenitoras eritroides na medula óssea para glóbulos vermelhos maduros na circulação. Além disso, o tempo de vida dos glóbulos vermelhos nos animais urêmicos é aproximadamente 50% em comparação aos animais saudáveis².

Devido ao fato da DRC ter caráter progressivo, e a disfunção renal e o prognóstico serem proporcionais à gravidade da doença, a IRIS (*International Renal Interest Society*) propôs um sistema de estadiamento para cães e gatos doentes renais crônicos⁵⁴. A finalidade do estadiamento é realizar o tratamento adequado e monitoração do paciente. O estadiamento baseia-se inicialmente na concentração de creatinina no sangue em jejum, avaliada em pelo menos duas vezes no paciente estável (Quadro 6). O paciente é então subestadiado com base na proteinúria e na pressão arterial (Quadros 7 e 8)⁵⁵.

QUADRO 6 - Estadiamento da DRC em cães com base na creatinina

ESTÁGIO	CREATININA SÉRICA	ASPECTOS CLÍNICOS
Em risco	<1,4 mg/dl	A história sugere que o animal corre maior risco de desenvolver DRC no futuro devido a um número de fatores, como por exemplo, exposição a fármacos nefrotóxicos, raça, idade avançada, alta prevalência de doenças infecciosas na área
1	<1,4 mg/dl	Não-azotêmico. Alguma outra anormalidade renal presente, como por exemplo, incapacidade em concentrar urina sem causa não-renal identificável, palpação renal ou achados de imagem renal anormais, proteinúria de origem renal, resultados de biópsia renal anormais, aumento das concentrações de creatinina sérica em amostras seriadas
2	1,4 – 2,0 mg/dl	Azotemia renal discreta. Sinais clínicos geralmente ausentes.
3	2,1 – 5,0 mg/dl	Azotemia renal moderada. Muitos sinais clínicos extrarenais podem estar presentes
4	> 5,0 mg/dl	Aumento do risco de sinais clínicos sistêmicos e crise urêmica

Fonte: <http://www.iris-kidney.com>

A razão proteína/creatinina urinária (Pu/Cu) deve ser medida em todos os casos em que não há evidência de inflamação ou hemorragia do trato urinário e quando se descartam

as disproteinemias. A razão Pu/Cu deve ser feita com base em, pelo menos, duas amostras de urina colhidas durante um período de pelo menos duas semanas⁵⁵.

QUADRO 7 - Subestadiamento da DRC em cães com base na proteinúria.

VALORES Pu/Cu	SUBESTÁGIO
<0,2	Não-proteinúrico
0,2 to 0,5	Proteinúrico limítrofe
>0,5	Proteinúrico

Fonte: <http://www.iris-kidney.com>

Para a mensuração da pressão arterial os pacientes devem estar ambientados e várias mensurações devem ser realizadas, preferencialmente durante visitas repetidas na clínica em dias separados, mas aceitável se durante a mesma visita com pelo menos duas horas entre as determinações. Os pacientes são subestadiados de acordo com o grau de hipertensão e o risco de lesão em órgãos-alvo, e se existe evidência de lesão de órgãos-alvo ou complicações⁵⁵.

QUADRO 8 - Subestadiamento da DRC em cães com base na pressão arterial.

PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA (mmHg)	SUBESTÁGIO PELA PRESSÃO ARTERIAL	RISCO DE LESÃO EM ÓRGÃOS ALVO NO FUTURO
<150	Normotensivo	Mínimo
150-159	Limite hipertenso	Baixo
160-179	Hipertenso	Moderado
≥ 180	Severamente hipertenso	Alto

Fonte: <http://www.iris-kidney.com>

O diagnóstico da DRC em seus estágios iniciais é difícil de ser realizado, pois os sinais evidentes só se desenvolvem quando uma parte substancial da função renal é perdida. Portanto, o uso de ferramentas de diagnóstico adicionais deve ser considerado, permitindo assim o diagnóstico precoce da DRC e intervenção terapêutica que previna novos danos e declínio progressivo da doença renal⁵³.

A análise histopatológica do tecido renal é considerada o padrão ouro para determinar o tipo de lesão renal, mas é um procedimento invasivo e não é viável em todos os casos devido aos custos ou aos riscos à saúde animal. O estudo de testes diagnósticos não

invasivos, de baixo custo, com alta sensibilidade e especificidade são necessários para avaliar a presença, caráter e gravidade das lesões renais⁵⁶.

2.3. Cistatina C

A cistatina C é uma proteína inibidora das cisteíno-proteases. As proteases ou proteinases são enzimas cuja atividade é regulada por seus inibidores e estão envolvidas em processos de degradação proteica intra e extracelular e em uma variedade de reações metabólicas. As cistatinas possuem uma sequência estrutural particular o que as tornam capazes de se ligar às cisteíno-proteases de forma reversível formando um complexo enzimático inativo com atuação na proteção dos tecidos do hospedeiro contra a destruição proteolítica⁵⁷.

A cistatina C está amplamente distribuída nos fluidos biológicos⁵⁸. Em cães foi identificada principalmente no soro, líquido cefalorraquidiano, glândulas parótidas, rins e sistema nervoso central. A cistatina C também foi identificada nos depósitos de placas amiloides no cérebro em seres humanos⁵⁹.

Várias funções da cistatina C são bem conhecidas. Além de seu papel fisiológico como inibidora das proteinases, ela possui outras funções como modulação do sistema imunológico, atividade antibacteriana e antiviral e proteção em situações de lesão cerebral⁶⁰.

Devido à sua pequena massa molecular e a sua carga positiva em pH fisiológico, a cistatina C é livremente filtrada pelos glomérulos, sendo quase totalmente removida da circulação. Sua metabolização se dá nos túbulos proximais distais, onde ocorre reabsorção quase completa (99%) pelas células tubulares, com posterior degradação enzimática dentro dos lisossomos⁶¹.

Existe um alto grau de homologia (68% a 73%) entre a sequência completa de cistatina C em seres humanos e outras espécies como o rato, camundongo e bovinos. No cão, apenas uma curta sequência de 27 aminoácidos C-terminal foi determinada, apresentando homologia com a cistatina C humana entre 46% a 79%⁵⁹. A análise por *western blot* demonstrou reatividade cruzada de anticorpos anti-cistatina C humana à cistatina C canina, validando o uso de reagentes humanos em estudos em cães⁶².

2.3.1. Cistatina C como marcador de função renal

Além de seu papel fisiológico como inibidora das proteinases, a cistatina C atua como marcador de função renal e como marcador prognóstico em diferentes aspectos da fisiopatologia cardiovascular⁶³.

Várias pesquisas em humanos relataram que a concentração da cistatina C sérica possui alta correlação com a TFG e consideraram um teste de triagem confiável para a avaliação precoce de lesão renal e melhor marcador para a detecção de alterações bruscas na função renal em indivíduos com doença renal estabelecida⁶⁴.

A cistatina C é filtrada livremente no glomérulo e é absorvida e catabolizada nas células do túbulo proximal, com secreção tubular mínima. Em condições fisiológicas, a concentração urinária de cistatina C é mínima e, por esse motivo, não pode ser utilizada para determinar o *clearance* da TFG⁶⁵. Em situações em que ocorre o dano tubular renal, sua reabsorção é reduzida resultando em aumento das concentrações de cistatina C na urina²⁴.

A cistatina C, quando comparada à creatinina sérica, tem melhor acurácia e é considerado um melhor marcador para estimar a TFG, em indivíduos com pequenas perdas de função renal. Entretanto, alguns fatores têm sido relacionados a variações da medida da cistatina C independente da função renal⁶⁶.

Existem relatos de que melanoma, câncer de cólon e infecção pelo HIV são causas extrarenais associadas a níveis elevados de cistatina C sérica em humanos⁶⁷. Cães com neoplasia e insuficiência cardíaca congestiva não apresentaram concentrações elevadas de cistatina C sérica⁶⁸. Portanto os tumores devem ser investigados quanto aos efeitos sobre a sua concentração em cães⁵⁹.

O uso de doses elevadas de corticoides tem sido associado ao aumento da produção de cistatina C com elevação da concentração sérica, o que resulta em uma subestimativa da TFG devido à sua elevação⁶⁶. Existem evidências de que somente a metilprednisolona aumenta as concentrações de cistatina C, enquanto que a ciclosporina causa a sua diminuição⁶⁹.

A cistatina C também é influenciada pela ação dos hormônios tireoidianos. Possivelmente essa interferência ocorre por interferência direta do hormônio tireoidiano na taxa de produção desta proteína. Assim, ao contrário do que acontece com a creatinina, as concentrações de cistatina são mais baixas no hipotireoidismo e mais elevadas no

hipertireoidismo⁷⁰. Possíveis explicações para esses achados baseiam-se nos efeitos dos hormônios tireoideanos sobre a hemodinâmica renal, a homeostase renal de sal e água e o transporte tubular ativo de sódio, potássio e íons hidrogênio⁵⁸.

Apesar de alguns autores relatarem que a cistatina C ao contrário da creatinina sérica, não é influenciada por fatores como sexo, idade e massa corporal⁷¹, estudo em humanos indicou que a idade mais elevada, sexo masculino, maior peso, maior altura, hábito de fumar e altos níveis de proteína C reativa estiveram positivamente associados com mais alta concentrações de cistatina C, após o ajuste para a depuração de creatinina⁷². Em estudo em cães, o sexo não influenciou na concentração de cistatina C plasmática. Em relação ao peso, os maiores valores de cistatina C foram observados nos cães acima de 15 Kg⁵⁹.

A cistatina C tem a sua concentração aumentada de acordo com a idade, enquanto paralelamente, cai a filtração glomerular. Estudos sugerem que o volume renal diminui em pacientes idosos, acarretando diminuição na TFG e na perfusão renal. Dessa forma, a cistatina C é considerada como melhor marcador de função renal do que a creatinina sérica em idosos⁷³. Em estudo em cães foram observados valores mais baixos de cistatina C plasmática nos adultos jovens e de meia idade, do que nos filhotes e idosos. No entanto, foi utilizado o mesmo limiar de referência para qualquer idade⁵⁹.

Outro aspecto importante na avaliação da função renal é a interferência da ingestão de proteínas e o estado nutricional. Estudos evidenciaram que a cistatina C sérica, diferentemente da creatinina sérica, não foi afetada pelo conteúdo proteico da dieta independente de mudanças na TFG, indicando que a cistatina pode fornecer estimativas mais precisas da TFG que a creatinina em pacientes com ingestão reduzida de proteínas⁵⁸.

2.3.2. Cistatina C no diagnóstico da IRA

A sensibilidade da cistatina C em detectar IRA em humanos tem sido variável. A variabilidade intraindividual da cistatina C é alta em humanos e é preciso que haja uma diferença de pelo menos 37% em relação ao valor médio de referência para indicar uma diferença significativa, o que complica a interpretação dos resultados em série²⁴. A avaliação da cistatina C sérica e urinária em 151 pessoas ao serem admitidas na Unidade de Terapia Intensiva indicou que tanto a cistatina C sérica quanto a urinária foram ineficazes na predição de IRA e na indicação de necessidade de terapia de substituição renal⁶¹.

Existem poucos estudos que avaliam a utilidade da cistatina C em detectar IRA em cães e gatos. Uma avaliação de cães com IRA induzida por gentamicina durante sete dias consecutivos com determinação de 14 biomarcadores séricos e urinários, mensurados antes da administração de gentamicina e aos quatro e oito dias após o início da administração, indicou que os cães apresentaram aumento da cistatina C urinária e diminuição da TFG a partir do quarto dia, sendo detectados antes da elevação nas concentrações séricas de creatinina e ureia e mudanças em outros parâmetros urinários⁴⁰.

2.3.3. Cistatina C no diagnóstico da DRC

A cistatina C sérica é usada principalmente como um marcador de TFG na avaliação de DRC em seres humanos. Vários estudos em humanos mostraram que a cistatina C é mais sensível para a detecção de diminuição da TFG que a creatinina sendo mais eficiente em detectar pequenas mudanças na TFG no mesmo paciente²⁴. Entretanto, em estudo com cães, a cistatina C sérica não foi superior a creatinina sérica como marcador de TFG⁶².

A cistatina C sérica foi mensurada em 179 cães clinicamente saudáveis utilizando ensaio imunoturbidimétrico para a cistatina C humana. O limite superior de referência para a cistatina C sérica foi 1,3 mg/L. No mesmo estudo foram avaliados 27 cães com sinais clínicos de insuficiência renal e elevação concomitante das concentrações séricas de ureia e creatinina e, observou-se que 98% dos cães apresentaram concentrações de cistatina C sérica acima de 1,3 mg/L. Foi observado também aumento nas suas concentrações em alguns cães que apresentaram sinais clínicos de insuficiência renal e que apresentaram concentração normal ou discretamente aumentada de creatinina; concluindo que a cistatina C pode auxiliar a discriminar elevações limítrofes de creatinina plasmática quando existe suspeita de insuficiência renal⁵⁹. Em outro estudo foi observado valor médio de cistatina C sérica igual a 0,93 mg/L em 24 cães saudáveis utilizando o ensaio imunoturbidimétrico⁷⁴.

Em cães com azotemia e hiperfosfatemia, o ensaio nefelométrico observou valores de cistatina C sérica de $0,89 \pm 0,68$ mg/L e a cistatina C sérica foi considerada um preditor de elevação na creatinina sérica e na progressão da doença renal⁷¹. Em estudo posterior, foram avaliados 53 cães que apresentavam insuficiência renal e azotemia associada à nefrite crônica, leishmaniose visceral (LV) e *diabetes mellitus* (DM) cetoadidótica e 31 cães não-azotêmicos que apresentavam LV e DM compensada. O ensaio nefelométrico indicou que as

concentrações de cistatina C sérica foram maiores no grupo que apresentava azotemia ($0,59 \pm 0,34$ mg/L) em relação ao grupo não-azotêmico ($0,25 \pm 0,15$ mg/L). Considerando o grupo não azotêmico, as concentrações de cistatina C sérica foram significativamente maiores em cães com LV ($0,25 \pm 0,10$ mg/L), do que em cães com DM compensada ($0,17 \pm 0,03$ mg/L), sugerindo que cães afetados por LV são mais propensos à lesão renal que cães com DM. Concluiu-se que a mensuração da cistatina C é importante em pacientes que possuem alto risco em desenvolver nefropatias⁷⁵.

Foi determinada a concentração de cistatina C sérica em 16 cães com diagnóstico de LV e observou-se que o valor médio de $1,07 \pm 0,62$ mg/L foi significativamente maior do que nos cães do grupo controle ($0,56 \pm 0,15$ mg/L). O aumento da concentração de cistatina C foi relacionado à deposição de imunocomplexos na membrana basal glomerular e possível lesão renal⁷⁶.

A mensuração da cistatina C sérica pela técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA) indicou elevação na concentração de cistatina C acima de 1,15 mg/L em 75,9% dos cães doentes renais crônicos que tinham decréscimo na depuração plasmática de iohexol, sendo mais precoce no diagnóstico da DRC do que a creatinina plasmática. A avaliação de cistatina C sérica em cães para diagnóstico da DRC no estágio inicial pode ser melhorada por meio de desenvolvimento de técnicas de mensuração que utilizem anticorpo anti-cistatina C canina⁶⁸.

Na medicina veterinária existem poucos estudos a respeito da utilização da cistatina C como marcador de função renal. Dessa forma, é necessário avaliar a aplicabilidade da cistatina C sérica como marcador precoce de disfunção renal em cães doentes renais e as vantagens e desvantagens quanto à sua inserção na rotina laboratorial na clínica de pequenos animais.

2.4. Perspectivas de utilização dos novos biomarcadores

Novas ferramentas de identificação de potenciais marcadores estão em desenvolvimento. Contudo, essa nova geração de biomarcadores ainda é uma área experimental. Os resultados mais promissores estão relacionados aos marcadores induzíveis, ou seja, aqueles que aparecem somente na presença da agressão. A expressão renal e urinária

destes marcadores induzida em resposta à lesão tubular de diferentes etiologias confere especificidade significativa. Assim, a NGAL é uma alternativa no diagnóstico de IRA precoce, em modelos experimentais e em contextos clínicos reais. Da mesma forma, a KIM-1 apresentou vantagens em modelos animais, embora a investigação na clínica seja ainda incipiente. Apesar das potencialidades destes novos indicadores, o custo da sua determinação laboratorial e a sua indisponibilidade podem limitar a sua aplicação⁷⁷.

2.5. Justificativa e objetivos

A prevalência de doenças renais em pequenos animais aumenta com o avançar da idade. Sabe-se que quanto maior a extensão da lesão renal, maior a gravidade da doença. Para que seja instituído o protocolo de tratamento adequado para cada estágio da doença renal é necessário que o diagnóstico seja realizado o mais rápido possível. Portanto, o desenvolvimento de ferramentas laboratoriais que possibilitem o diagnóstico precoce das doenças renais é extremamente importante para o sucesso no tratamento e manejo do paciente.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho de biomarcadores no diagnóstico da injúria renal aguda, por meio do uso concomitante de exames clínico e laboratoriais como: hemograma, determinação de fibrinogênio plasmático, realização de bioquímica sérica (ureia, creatinina, proteínas totais, albumina, fósforo, cálcio, sódio, potássio, colesterol), da eletroforese das proteínas séricas, da bioquímica urinária (sódio, potássio, gama glutamiltransferase, fosfatase alcalina), determinação da razão proteína/creatinina urinária, da excreção fracionada dos eletrólitos, do exame de urina, da gasometria venosa e da determinação da pressão arterial sistêmica. Também foi objetivo avaliar a eficiência da cistatina C como biomarcador na injúria renal aguda e doença renal crônica.

Para atender aos dois objetivos a tese está composta por um capítulo que aborda a aplicação de biomarcadores no diagnóstico da injúria renal aguda induzida com gentamicina

em cães e outro capítulo que abordará a aplicação da cistatina C sérica no diagnóstico da injúria renal aguda induzida e na da doença renal crônica em cães.

Referências

1. Bastos MG. Biomarcadores de função renal na DRC [online]. In: Abensur H, editor. Biomarcadores na nefrologia. São Paulo: Sociedade Brasileira de Nefrologia; 2011. 1:8-18. [acesso 10 out 2016]. Disponível em: <http://arquivos.sbn.org.br/pdf/biomarcadores.pdf>.
2. Chew DJ, Dibartola SP, Schenck PA. Chronic renal failure. In: Canine and feline nephrology and urology. 2ed. St Louis: Elsevier Saunders. 2011;145-196p.
3. Médaille C, Trumel C, Concordet D, Vergez F, Braun JP. Comparison of plasma/serum urea and creatinine concentrations in the dog: a 5-year retrospective study in a commercial veterinary clinical pathology laboratory. J Vet Med. 2004; 51:119-123.
4. Heiene R, Lefebvre HP. Glomerular filtration rate in dogs and cats [online]. 2013. [acesso 10 out 2016]. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com/education/gfr.html>.
5. Braun JP, Lefebvre HP, Watson ADJ. Creatinine in the dog: a review. Vet Clin Pathol. 2003; 32:162-179.
6. Lefebvre HP, Watson ADJ, Heiene R. Interpreting blood creatinine concentration in dogs [online]. 2015. [acesso 10 out 2016]. Disponível em: http://www.iris-kidney.com/education/creatinine_dogs.html.
7. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute kidney injury. Lancet [online]. 2012; 380: 756-766 [acesso 20 set 2016]. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61454-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61454-2).
8. Andrade SC, Dezoti C, Shibuya CA, Watanabe M, Vattimo MFF. Insuficiência renal aguda isquêmica: efeitos comparativos do alopurinol e N-acetilcisteína como antioxidantes. J Bras Nefrol. 2004;26(2):69-75.
9. Araújo WL. Avaliação da atividade e da estabilidade de GGT urinário de cães hígidos. [Dissertação]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária; 2014.
10. Sharfuddin AA, Molitoris BA. Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. Nature Rev Nephrol. 2011; 7:189-200.
11. Vaden S, Levine J, Breitschwerdt EB. A retrospective case-control of acute renal failure in 99 dogs. J Vet Intern Med. 1997;11(2):58-64.
12. Singh AP, Muthuraman A, Jaggi AS, Singh N, Grover K, Dhawan R. Animal models of acute renal failure. Pharmacol Reports. 2012; 64:31-44
13. William LJ. Drug-induced renal disease. Current Diagnostic Pathology. 2007;13:25-31.
14. Ross S. Diagnosis and management of chronic kidney disease in dogs and cats. 15th Congress of FAVA; 2008, Bangkok, Thailand. Bangkok: FAVA -OIE Joint Symposium

on Emerging Diseases; 2008. [acesso 27 nov 2016]. Disponível em: <http://www.vet.chula.ac.th/vet2014/Ebook/ebook/FAVA2008/paperfile/S022.pdf>

15. Grauer GF. Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. *Vet Clin Small Anim.* 2005; 35:581-96.
16. Perazella MA. Drug-induced renal failure: update on new medications and unique mechanisms of nephrotoxicity. *Am J Med Scienc.* 2003;325:349-362.
17. Pannu N, Nadim MK. An overview of drug induced acute kidney injury. *Crit Care Med.* 2008;36:216-223.
18. Lieberthal W, Nigam SK. Acute renal failure. II. Experimental models of acute renal failure: imperfect but indispensable. *Am J Physiol.* 2000;278:1-12.
19. Abdulkader RCRM, Costa MC. Revisão/atualização em insuficiência renal aguda: recuperação funcional pós necrose tubular aguda. *J Bras Nefrol.* 1996;18(2):175-179.
20. Buysen JG, Houthoff HJ, Krediet RT, Arisz L. Acute interstitial nephritis: A clinical and morphological study in 27 patients. *Nephrol Dial Transplant.* 1990;5(2):94-99.
21. Sharif A, Ball, S. Tubulo-interstitial disorders. *Medicine.* 2011;39(8): 467-469.
22. Segev G, Nivy R, Kass PH, Cowgill LD. A retrospective study of acute kidney injury in cats and development of a novel clinical scoring system for predictin outcome for cats managed by hemodialysis. *J Vet Intern Med.* 2013;27:830-39.
23. Brown C.A, Jeong KS, Poppenga RH, Puschner B, Miller DM, Ellis AE, Kang K, Sum S, Cistola AM, Brown SA. Outbreaks of renal failure associated with melamine and cyanuric acid in dogs and cats in 2004 and 2007. *J Vet Diagn Invest.* 2007;19:525-31.
24. Cobrin R, Blois SL, Kruth SA, Abrams-Ogg ACG, Dewey C. Biomarkers in the assessment of acute and chronic kidney diseases in the dog and cat. *J Small Anim Pract.* 2013;54:647-55.
25. Urbschat A, Obermüller N, Haferkamp A. Biomarkers of kidney injury. *Biomarkers.* 2011;16(1):22-30.
26. Schetz M. Should we use diuretics in acute renal failure? *Best Pract & Res Clin Anaesthesiol.* 2004;18(1):75-89.
27. Lunn KF. The kidney in critically ill small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2011;41:727-744.
28. Weinberger HD, Anderson RJ. Prevention of acute renal failure. *J Crit Care.* 1991;6(2):95-101.
29. Parolin MB, Reason LJM. Apoptose como mecanismo de lesão nas doenças hepatobiliares. *Arq Gastroenterol.* 2001;38(2)

30. Price PM, Safirstein RL, Megyesi J. The cell cycle and acute kidney injury. *Kidney Int*, 2009;76(6):604-13.
31. Macedo E. Biomarcadores na injúria renal aguda [online]. In: Abensur H, editor. Biomarcadores na nefrologia. São Paulo: Sociedade Brasileira de Nefrologia; 2011. 2:19-34. [acesso 10 out 2016]. Disponível em: <http://arquivos.sbn.org.br/pdf/biomarcadores.pdf>.
32. De Loor J, Daminet S, Smets P, Maddens B, Meyer E. Urinary biomarkers for acute kidney injury in dogs. *J Vet Intern Med*. 2013; 27:998-1010.
33. International Renal Interest Society- IRIS. Grading of acute kidney injury [online]. 2013. [acesso 01 out 2016]. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com>
34. Kai K, Yamaguchi T, Yoshimatsu Y, Kinoshita J, Teranishi M, Takasaki, W. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin, a sensitive urinary biomarker of acute kidney injury in dogs receiving gentamicin. *J Toxicol Scien*. 2013;38(2):269-77.
35. Klosterman ES, Pressler BM. Nephrotic syndrome in dogs: clinical features and evidence-based treatment considerations. *Top Companion Anim Med*. 2011;26(3):135-142.
36. Costa JAC, Vieira Neto OM, Moysés Neto M. Insuficiência renal aguda. *Medicina*. 2003;36:307-324.
37. Hennemann CRA, Silva C F, Schoenau W, Kommers GD, Polydoro AS, Leitzke MRM. Atividade da gama glutamil transferase urinária, dosagens séricas de uréia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeo em cães. *Cien Rural*, 1997; 27:237–244.
38. Carvalho JAM. Avaliação da atividade urinária das enzimas gama glutamil transferase e fosfatase alcalina para a detecção da nefropatia em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. [Dissertação]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria. Centro de Ciências da Saúde, 2011.
39. Price RG. Early markers of nephrotoxicity. *Comp Clin Pathol*, 2002;11:2-7.
40. Sasaki A, Sasaki Y, Iwama R, Shimamura S, Yabe K, Takasuna K, Ichijo T, Furuhashi K, Satoh H. Comparison of renal biomarkers with glomerular filtration rate in susceptibility to the detection of gentamicin-induced acute kidney injury in dogs. *J Comp Path*. 2014; 151:264-70.
41. Reynolds BS, Massal MR, Nguyen P, Gregoire LL, Perigaud AE, Concordet D, Biourge V, Lefebvre HP. Plasma exogenous creatinine clearance in clinically healthy cats: comparison with urinary exogenous creatinine clearance, tentative reference intervals and indexation to bodyweight. *Vet J*, 2014; 202:157-165.
42. Freitas GC, Veado JCC, Carregaro AB. Testes de avaliação de injúria renal precoce em cães e gatos. *Semina: Ciênc Agra*, 2014;35(1):411-426.

43. Heiene R, Biewenga WJ, Koeman PTT. Urinary alkaline phosphatase and gama glutamyl transferase as indicators of acute renal damage in dogs. *J Small Anim Pract.* 1991;32:521-24.
44. Melchert A, Laposy CB, Motta YP, Garcia ACFZ. Gama glutamyl transferase urinária como indicador de insuficiência renal aguda induzida por gentamicina em cães. *Arq Ciênc Vet Zool.* 2007;10(2):111-16.
45. Santin F, Moutinho FQ, Amaral AS, Takahira RK. Acompanhamento laboratorial da função renal de cães sadios tratados experimentalmente com doses terapêuticas de anfotericina B. *Cien Rural.* 2006;36(6):1816-23.
46. Heiene R, Moe L, Molmen G. Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with piometra. *Res Vet Scie.* 2001;70:129-137.
47. Martensson J, Martling CR, Bell M. Novel biomarkers of acute kidney injury and failure: clinical applicability. *British J Anaesth.* 2012;109(6):843-50.
48. Bland SK, Côté O, Clark ME, DeLay J, Bienzle D. Characterization of kidney injury molecule-1 in cats. *J Vet Intern Med.* 2014;28:1454-64.
49. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H, MacKinnon RW, Li L, Balakrishnan VS, Pereira BJG, Bonventre JV, Jaber BL. Urinary N-acetyl-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:904-912.
50. O'Neill DG, Elliott J, Church DB, McGreevy PD, Thomson PC, Brodbelt DC. Chronic kidney disease in dogs in UK veterinary practices: prevalence, risk factors and survival. *J Vet Intern Med.* 2013;27:814-821.
51. Bartges JW. Chronic kidney disease in dogs and cats. *Vet Clin Small Anim.* 2012;42:669-92.
52. Yabuki A, Mitani S, Fujiki M, Misumi K, Endo Y, Miyoshi N, Yamato O. Comparative study of chronic kidney disease in dogs and cats: induction of myofibroblasts. *Res Vet Sci.* 2010;88:294-99.
53. van Dongen AM, Heiene R. Early diagnosis of CKD: how to identify stage 1 (online). 2013. [Acesso 07 nov 2016]. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com>.
54. Waki MF, Martorelli CR, Mosko PE, Kogika MM. Classificação em estágios da doença renal crônica em cães e gatos - abordagem clínica, laboratorial e terapêutica. *Ciência Rural.* 2010;40(10):2226-34.
55. International Renal Interest Society - IRIS. Staging of CKD (online). 2015. [Acesso 07 out 2016]. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com>.

56. Hokamp JA, Cianciolo RE, Boggess M, Lees GE, Benali SL, Kovarsky M, Nabity MB. Correlation of urine and serum biomarkers with renal damage and survival in dogs with naturally occurring proteinuric chronic kidney disease. *J Vet Intern Med*. 2016;30:591-601.
57. Shlipak MG, Praught ML, Sarnak MJ. Update on cystatin C: new insights into the importance of mild kidney dysfunction. *Curr Opin Nephrol Hy*, 2006;15(3):270-75.
58. Gabriel IC, Nishida SK, Kirsztajn GM. Cistatina C sérica: uma alternativa prática para avaliação de função renal. *J Bras Nefrol*, 2011;33(2):261-67.
59. Braun, JP, Perxachs A, Pechereau D, De la Farge, F. Plasma cystatin c in the dog: reference values and variations with renal failure. *Comp Clin Pathol*, 2002;11:44-9.
60. Mussap M, Plebani M. Biochemistry and clinical role of human cystatin C. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2004;41(5-6):467-550.
61. Royakkers AANM, Korevaar JC, Suijlen JDE, Hofstra LS, Kuiper MA, Spronk PE, Schultz MJ, Bouman CS. Serum and urine cystatin c are poor biomarkers for acute kidney injury and renal replacement therapy. *Intensive Care Med*, 2011;37:493-501.
62. Almy FS, Christopher MM, King DP, Brown SA. Evaluation of cystatin C as an endogenous marker of glomerular filtration rate in dogs. *J Vet Intern Med*, 2002;16:45-51.
63. Pérez-Calvo JI, Rull JLM, Ruiz FJR. La cistatina C: una proteína para la insuficiencia cardíaca. *Medicina Clínica*. 2011;136(4):158-162.
64. Uzun H, Keles MO, Ataman R, Aydin S, Kalender B, Uslu E, Simsek G, Halac M, Kaya S. Serum cystatin C level as a potentially good marker for impaired kidney function. *Clin Biochem*, 2005;38:792-798.
65. Schwartz GJ, Furth SL. Glomerular filtration rate measurement and estimation in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol*, 2007;22(11):1839-48.
66. Camargo, EG. Estimativa da taxa de filtração glomerular com equações baseadas na creatinina e cistatina c séricas em pacientes com diabetes melito tipo 2. [Tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina; 2011.
67. Randers E, Erlandsen EJ. Serum cystatin c as an endogenous marker of the renal function - a review. *Clin Chem Lab Med*, 1999;37(4):389-95.
68. Miyagawa Y, Takemura N, Hirose H. Evaluation of the measurement of serum cystatin C by an enzyme-linked immunosorbent assay for humans as a marker of the glomerular filtration rate in dogs. *J. Vet. Med. Sci*. 2009;71(9):1169-1176.
69. Okay TS. Cistatina c: um novo marcador de função renal em crianças. *Rev Assoc Med Bras*, 2002;48(2):112-13.

70. Novo ACACF. Evolução dos níveis séricos de cistatina C em recém-nascidos de termo no primeiro mês de vida. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina;2009.
71. Antognoni MT, Siepi D, Porciello F, Fruganti G. Use of serum cistatin c determination as a marker of renal function in the dog. *Vet Res Commun*, 2005;29(2):265
72. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, Zeeuw DD, Curhan GC, Jong PE. Factors influencing serum cystatin c levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Inter*, 2004;65:1416-21.
73. Prates AB, Amaral FB, Vacaro MZ, Gross JL, Camargo JL, Silveiro, SP. Avaliação da filtração glomerular através da medida da cistatina C sérica. *J Bras Nefrol*, 2007;29(1):48-55.
74. Pagitz M, Frommlet F, Schwendenwein I. Evaluation of biological variance of cystatin C in comparison with other endogenous markers of glomerular filtration rate in healthy dogs. *J Vet Internal Med*, 2007;21:936-942.
75. Antognoni MT, Siepi D, Porciello F, Rueca F, Fruganti G. Serum cystatin-C evaluation in dogs affected by different diseases associated or not with renal insufficiency. *Vet Res Commun*, 2007;31(1):269-271.
76. Pasa S, Bayramli G, Atasoy A, Karul A, Ertug S, Toz SO. Evaluation of serum cystatin-C in dogs with visceral leishmaniasis. *Vet Res Commun*, 2009;33:529-534.
77. Nascimento HFM. Novos marcadores de lesão renal aguda. [Dissertação]. Porto: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto; 2011/2012.

CAPÍTULO 2 - BIOMARCADORES NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA INJÚRIA RENAL AGUDA EM CÃES

CHAPTER 2 - BIOMARKERS IN THE EARLY DIAGNOSIS OF ACUTE KIDNEY INJURY IN DOGS

Resumo

Este estudo investigou a eficiência dos exames complementares no diagnóstico da injúria renal aguda (IRA) em cães induzida experimentalmente com 30 mg/kg de gentamicina, uma vez ao dia, durante 10 dias. Os 12 animais, seis do grupo IRA e seis grupo controle, foram acompanhados por um período de 48 dias por meio de exame clínico, determinação da pressão arterial sistêmica, hemograma, fibrinogênio, bioquímica sérica (ureia, creatinina, proteínas totais, albumina, fósforo, cálcio, sódio, potássio e colesterol), eletroforese das proteínas séricas, gasometria venosa (pH, déficit de base e bicarbonato), exame de urina, bioquímica urinária (gama glutamiltransferase - GGT e fosfatase alcalina), razão proteína/creatinina urinária e excreção fracional de sódio e potássio. A gentamicina provocou nefrotoxicidade em cinco animais e azotemia em três cães do grupo IRA. A determinação da atividade urinária da GGT e a excreção fracional de sódio e de potássio foram os exames mais sensíveis no diagnóstico precoce da IRA, apresentando elevação a partir do primeiro dia da indução no caso da GGT e no quarto dia para a excreção fracionada de sódio e potássio. A concentração sérica de creatinina elevou-se somente a partir do sétimo dia. A presença de cilindros, células renais, glicosúria e diminuição da densidade urinária foram as principais alterações visualizadas no exame de urina dos cães com IRA. A determinação da atividade urinária da GGT e a excreção fracional de sódio e de potássio são exames sensíveis no diagnóstico precoce da IRA. Portanto, essas ferramentas devem ser incluídas na rotina clínica veterinária.

Palavras-chave: caninos, gentamicina, lesão tubular aguda, nefropatia

Abstract

This study investigated the efficacy of complementary exams in the diagnosis of acute kidney injury (AKI) in dogs induced experimentally with 30 mg/kg gentamicin once daily for 10 days. The 12 animals, six from the AKI group and six from the control group, were evaluated for 48 days. The following clinical parameters were assessed: clinical examination, determination of systemic arterial pressure, blood count, fibrinogen concentration, serum biochemistry (urea, creatinine, total proteins, albumin phosphorus, calcium, sodium, potassium and cholesterol), serum protein electrophoresis, arterial blood gas (pH, base excess and bicarbonate), urine tests, urinary biochemistry (gamma glutamyltransferase-GGT and alkaline phosphatase), urine protein/urine creatinine ratio and fractional excretion of sodium and potassium. Gentamicin caused nephrotoxicity in five animals and azotemia in three dogs of the AKI group. The determination of urinary GGT activity and the fractional excretion of sodium and potassium were the most sensitive tests in the early diagnosis of AKI, showing increase starting from the second day of induction in the case of GGT and the fourth day for

the fractional excretion of sodium and potassium. Serum creatinine concentration increased only after day 7. The presence of cylinders, cells, glycosuria and decrease in urinary density were the main abnormal changes found in the urine examination of dogs with ARF. Determination of GGT urinary activity and fractional excretion of sodium and potassium are sensitive tests in the early diagnosis of AKI, so these tools should be included in routine veterinary clinical practice.

Keywords: Acute tubular injury, canine, gentamicin, nephropathy

1. Introdução

A injúria renal aguda (IRA) se caracteriza pela perda abrupta da função renal, com tendência à reversibilidade, caracterizada por diminuição rápida da taxa de filtração glomerular (TFG) e acúmulo de compostos nitrogenados em um período de horas ou dias¹. Se o diagnóstico da IRA for realizado tardiamente, os danos às células tubulares poderão ser irreversíveis e ocasionar doença renal crônica (DRC)².

As causas mais comuns de IRA são isquemia e exposição a fármacos nefrotóxicos. Pelo fato de possuir um fluxo sanguíneo elevado e um epitélio tubular único capaz de absorver substâncias e concentrar urina, o rim está predisposto à nefrotoxicidade por fármacos e produtos químicos³.

Dentre os fármacos causadores de IRA se destacam os antibióticos, como a gentamicina, agentes quimioterápicos, tais como a cisplatina, meios de contraste radiológicos e anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES). A gentamicina é o antibiótico mais utilizado em estudos de modelos animais para reprodução da injúria renal aguda porque simula as mudanças na função renal induzidas por antibióticos na prática clínica¹.

Em humanos foi proposto um consenso em 2005 que define e estadia a IRA, utilizando os critérios RIFLE e AKIN. Estes esquemas de estadiamento delimitam a extensão e duração da injúria renal e também preveem o prognóstico. Esses critérios são baseados em marcadores insensíveis de injúria renal, incluindo mudanças na TFG, concentração de creatinina sérica, débito urinário e duração dos sinais clínicos. Infelizmente, esses critérios não são aplicáveis para animais porque, ao contrário do que ocorre em humanos, a IRA comumente se desenvolve fora do ambiente hospitalar, o que dificulta a avaliação do débito urinário, mudanças na TFG e a presença da azotemia⁴.

As principais ferramentas utilizadas para o diagnóstico de IRA em cães incluem a quantificação sérica de creatinina, ureia, fósforo, sódio, potássio, a avaliação do perfil ácido-base, urinálise e ultrassonografia⁵. Para avaliar a gravidade da IRA em cães, a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) propôs um sistema de estadiamento, baseado na concentração de creatinina sérica e débito urinário, com o intuito de representar o momento do curso em que o insulto se encontra e prever se há melhora ou piora do quadro clínico, ou evolução para DRC⁴.

O prognóstico da IRA depende da causa subjacente e, portanto, a rápida identificação da etiologia permite melhor manejo do paciente⁵. O prognóstico geralmente é desfavorável em cães com IRA, com relato de morte em 22% dos pacientes, eutanásia em 34%, sobrevivência e evolução para doença renal crônica (DRC) em 24% e somente 19% com cura e retorno à função renal normal⁶. Esses dados reforçam a importância da realização do diagnóstico precoce a fim de evitar a progressão para DRC⁷.

A alta mortalidade da IRA está associada ao diagnóstico tardio, uma vez que a principal ferramenta de diagnóstico na medicina veterinária continua sendo a determinação da creatinina sérica, a despeito do conhecimento que este biomarcador eleva-se somente após a perda de 67 a 75% da função renal². Diante desta realidade, torna-se urgente validar novos biomarcadores no diagnóstico precoce de IRA, buscando a melhoria nos índices de recuperação dos cães.

Dessa forma, este estudo objetivou avaliar a eficiência de biomarcadores de função renal no diagnóstico precoce da injúria renal aguda induzida experimentalmente por gentamicina em cães.

2. Material e métodos

2.1. Local de realização, animais e delineamento experimental

O estudo obedeceu aos preceitos da Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório, com a aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFG sob o protocolo número 007/2013. Foi conduzido no canil experimental da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (HV-UFG). Os animais foram mantidos em

boxe individuais de alvenaria, com água à vontade e alimentação com dieta comercial com proteína bruta de 22% (Finotrato Adultos High Premium Carne, Grupo VB, Jaciara, Mato Grosso) em duas porções diárias.

Utilizou-se 12 cães machos, saudáveis, sem raça definida (SRD), de diferentes idades (entre um a sete anos) e peso corporal médio de $9,79 \pm 3,98$ kg (mínimo de 5,8 kg e máximo de 16,2 kg). Ao término do estudo os cães foram castrados e encaminhados para a adoção.

Antes do início do experimento, os cães passaram por período de adaptação de 30 dias e foram vacinados, tratados contra endoparasitas e ectoparasitas. Todos os cães foram avaliados por meio de exame clínico e exames laboratoriais de hemograma; fibrinogênio; gasometria venosa; determinação sérica de creatinina, ureia, proteína total, albumina, globulinas, colesterol, cálcio, fósforo, sódio e potássio; eletroforese das proteínas séricas; exame de urina; quantificação na urina de sódio, potássio, proteína e creatinina; determinação da atividade urinária da gama glutamiltansferase (GGTu) e da fosfatase alcalina (ALPu); determinação da razão proteína/creatinina (Pu/Cu) e cálculo da excreção fracional de sódio e de potássio, para exclusão de enfermidades pré-existent e doenças de origem renal. A fim de evitar o estresse e comportamento agressivo, os cães eram conduzidos em passeios diariamente.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos e seis repetições por grupo. Os cães foram distribuídos aleatoriamente em grupo controle (G_C) e grupo indução renal (G_{IRA}). Para os animais do G_{IRA} , a injúria renal foi induzida com 30mg/kg do fármaco gentamicina (Pangran® 10%, Virbac, São Paulo - SP), administrado por via subcutânea, uma vez ao dia, durante dez dias. Este protocolo foi adaptado ao modelo experimental utilizado por Dantas et al.⁸ que utilizaram a dose de gentamicina de 10 mg/Kg, a cada 8 horas, durante 14 dias. Para os animais do G_C , foi aplicado solução fisiológica NaCl 0,9% como placebo por via subcutânea, uma vez ao dia, durante dez dias, nos mesmos volumes do fármaco considerando-se o peso e a dose.

O experimento teve duração de 48 dias com 21 momentos de avaliação, sendo a primeira avaliação considerada como o momento zero (M_0) quando se definiram os parâmetros basais. Para isso, foram colhidas três amostras de sangue e urina de cada animal,

com intervalo de 24 horas entre as colheitas e utilizada sua média aritmética como valor basal, sendo considerado o momento zero (M0).

A aplicação do fármaco para a indução da injúria renal ocorreu durante dez dias consecutivos, com início em 24 horas antes do momento um (M1d) e término em 24 horas antes do momento dez (M10d). Nos momentos 1 a 10 (M1d a M10d) os cães foram avaliados diariamente. Nos momentos 11 a 15 (M12d a M20d), os animais foram avaliados em intervalos de 48 horas. Nos momentos 16 a 20 (M25d a M45d), os animais foram avaliados em intervalos de cinco dias. Após o término do protocolo de indução, os animais que apresentaram sintomatologia clínica de injúria renal aguda foram medicados, recebendo tratamento para controle de vômitos e suporte nutricional, além de correção dos desequilíbrios hidroeletrólítico e ácido-base.

2.2. Avaliação clínica

O exame clínico geral foi realizado diariamente, com o intuito de verificar a higidez de todos os animais durante o experimento. Os parâmetros avaliados foram: turgor cutâneo; palpação dos linfonodos submandibulares, pré-escapulares e poplíteos; coloração das mucosas; inspeção da cavidade oral e dos olhos; palpação abdominal e renal; auscultação pulmonar e cardíaca; e aferição da temperatura retal, do pulso arterial e da pressão arterial sistólica não invasiva (PAS).

A pressão arterial foi mensurada utilizando-se o método Doppler, com o aparelho Doppler vascular portátil veterinário modelo DV 610® (Medmega Indústria de Equipamentos Médicos Ltda, Franca, Brasil), em associação com esfigmomanômetro. Em um ambiente tranquilo, os animais foram contidos em decúbito lateral direito e o manguito do aparelho foi acoplado na posição distal do rádio e ulna esquerdos e o transdutor posicionado sob a região das artérias palmares comuns, próximo às articulações dos carpos com metacarpos. Os manguitos utilizados tinham larguras de aproximadamente 40% da circunferência do membro no sítio de colocação dos mesmos.

Em cada momento foram aferidas cinco tomadas consecutivas da pressão arterial sistólica (PAS) e descartadas duas tomadas mais discrepantes. O valor final foi a média das três restantes. Foram considerados como hipertensos, cães com valores de pressão sistólica igual ou acima de 160 mmHg⁹.

2.3. Análises laboratoriais

Os exames complementares realizados foram: hemograma; fibrinogênio; gasometria venosa; determinação sérica de creatinina, ureia, proteína total, albumina, globulinas, colesterol, cálcio, fósforo, sódio e potássio; eletroforese das proteínas séricas; urinálise; quantificação na urina de sódio, potássio, proteína e creatinina; determinação da atividade urinária da gama glutamiltansferase (GGTu) e da fosfatase alcalina (ALPu); determinação da razão proteína/creatinina (Pu/Cu) e cálculo da excreção fracional de sódio e de potássio. As amostras foram colhidas no período da manhã e as análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório Multiusuário do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG.

2.3.1. Hemograma e fibrinogênio

O sangue colhido com anticoagulante EDTA foi obtido em tubos com sistema à vácuo, por meio da técnica de venopunção jugular, na quantidade de 2,0 ml. A contagem das células sanguíneas foi determinada pelo método automático utilizando-se o aparelho BC – 2800 Vet (Auto Hematology Analyzer, Mindray® Bio-Medical Electronics Co. Ltda, Shenzhen - Guangdong). As contagens diferenciais dos leucócitos foram realizadas em esfregaços de sangue corados pela coloração Leishman (Doles®, Goiânia, Brasil). A determinação do fibrinogênio foi realizada utilizando plasma do sangue colhido com citrato de sódio, utilizando reagentes comerciais (Wiener®, Rosario, Argentina) de acordo com a metodologia do fabricante.

2.3.2. Bioquímica sérica

O sangue sem anticoagulante foi obtido em tubos com sistema à vácuo, por meio da técnica de venopunção jugular, na quantidade de 7,0 ml. Este material foi centrifugado após a retração do coágulo e, em seguida, dividido em alíquotas, armazenado em microtubos de polipropileno de 1,5 mL (Eppendorf®, Alemanha) e submetido ao congelamento (-20° C) até o momento da realização das análises.

As análises bioquímicas, exceto sódio e potássio, foram realizadas utilizando reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica® S. A., Lagoa Santa, Brasil), sendo a leitura realizada em espectrofotômetro automático (Analisador Bioquímico Automático CM200®,

Winerlab, Rosário, Argentina). O sódio e o potássio séricos foram determinados por meio de fotometria de chama (Fotômetro de Chama FC-180 Celm®, Cia Equipadora de Laboratórios Modernos, Barueri-SP).

2.3.3. Exame de urina e bioquímica urinária

A urina foi colhida por cateterismo uretral em seringas na quantidade de 10 mL. O exame de urina foi realizado imediatamente à colheita. A análise da urina compreendeu exame físico, químico e microscópico.

O exame físico avaliou volume, cor, odor, aspecto e densidade. O exame químico consistiu na avaliação do pH, de proteína, glicose, cetonas, sangue, nitrito e leucócitos empregando tiras reagentes (Uriquest Plus Vet, Labtest Diagnóstica® S. A., Lagoa Santa, Brasil). A densidade urinária foi determinada em refratômetro portátil. Após a centrifugação da urina, 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. O exame microscópico avaliou o sedimento quanto aos componentes: celularidade, cilindros, microrganismos, cristais, filamentos de muco e artefatos.

Para a realização dos testes bioquímicos na urina o sobrenadante foi subdividido em microtubos de polipropileno de 1,5 mL (Eppendorf®, Alemanha) e congelado (-20° C) até o momento da realização dos exames, exceto a alíquota destinada à determinação da atividade urinária de GGT e ALP, que foram realizadas imediatamente à colheita.

A determinação da GGT e da ALP urinária foi realizada de acordo com Deschepper et al.¹¹, 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:

$$\text{GGTu e ALPu} = \frac{\text{Atividade da enzima urinária da amostra} \times 25}{\text{calculada} \quad 2 \text{ últimos dígitos da densidade urinária da amostra}}$$

Para a determinação da razão proteína/creatinina urinária os valores obtidos nas mensurações de proteína na urina foram divididos pelos valores obtidos na mensuração de creatinina na urina.

O sódio e o potássio urinários foram determinados por meio de fotometria de chama (Fotômetro de Chama FC-180 Celm®, Cia Equipadora de Laboratórios Modernos, Barueri-SP). A excreção fracional (EF) de sódio e potássio foi calculada para a avaliação da função tubular, 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.¹⁰, representada a seguir:

$$EF (\%) = \frac{Eu}{Es} \times \frac{Cs}{Cu} \times 100$$

onde: Eu: eletrólito urinário; ES: eletrólito sérico; Cs: creatinina sérica; Cu: creatinina urinária

2.3.4. Eletroforese das proteínas séricas

O fracionamento das proteínas foi realizado segundo a técnica de eletroforese em gel de agarose, com o sistema SE-250 da Celm (Celmigel –Celm®, São Caetano do Sul, Brasil). A leitura do filme foi realizada por densitometria em scanner digital a 520 nm (Densitômetro digital modelo DS35 –CELM, São Caetano do Sul, Brasil).

2.3.5. Gasometria venosa

Para a gasometria venosa foi colhido 1 mL de sangue venoso utilizando-se agulhas descartáveis acopladas às seringas de polipropileno contendo heparina de lítio com cálcio balanceado (Monovette® - Sarstedt, Nümbrecht, Alemanha). As análises hemogasométricas foram realizadas imediatamente após a colheita em analisador de gases sanguíneos (Gasômetro COBAS B 121 – Roche®, Basileia, Suíça). Os parâmetros gasométricos considerados foram: concentração de íons hidrogênio (pH), concentração de bicarbonato sanguíneo (CHCO₃) e déficit de base (BE).

2.4. Determinação do valor de referência da fosfatase alcalina urinária (ALPu)

A estimativa dos valores de referência foi realizada utilizando todos os valores dos animais do grupo controle e os valores basais dos animais do grupo indução. Estes valores foram submetidos à distribuição de Gauss e retirados os “outliers”, adotando o percentil de 0,025 e 0,975. A distribuição foi normal. Posteriormente, a média aritmética e o desvio padrão

foram realizados e definido o intervalo de referência como a média mais ou menos dois desvios padrões^{12,13}.

2.5. Análise estatística

Após a tabulação dos dados foi realizada a estatística descritiva (média, desvio padrão e coeficiente de variação). Posteriormente, foram aplicados os testes de Bartlett, para avaliação da homogeneidade de variâncias e de Shapiro-Wilk, para verificação de normalidade. As variáveis que apresentaram homogeneidade e normalidade foram avaliadas pelos testes paramétricos análise de variância (ANOVA) para comparação dos momentos dentro de cada grupo e o teste de t, para comparação entre os grupos dentro de cada momento. Para as variáveis que não apresentaram homogeneidade e normalidade foram aplicados os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis, para comparação dos momentos dentro de cada grupo, e de Wilcoxon Mann-Whitney, para comparação entre os grupos dentro de cada momento. Adotou-se o nível de significância de 5%. Todos os testes foram calculados por meio do *software* estatístico R[®] (The R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria).

3. Resultados e discussão

3.1. Avaliação clínica

O modelo de IRA experimental utilizado neste estudo foi adaptado de Dantas et al.⁸ que utilizaram a dose 10 mg/kg de gentamicina, a cada 8 horas, por via intramuscular, durante 14 dias. No presente estudo, o modelo de indução da injúria renal aguda por gentamicina com aplicação diária de 30 mg/kg durante 10 dias, ocorreu por período menor e ainda assim foi eficaz em induzir a injúria renal, pois no G_{IRA} apenas um animal não apresentou alterações clínicas e todos os animais (n=6) apresentaram alguma alteração laboratorial condizente com lesão tubular.

No decorrer do experimento os animais do G_C não apresentaram alterações clínicas. No G_{IRA}, um cão (16,6%) veio a óbito em M15 devido às complicações de síndrome

urêmica. As manifestações clínicas foram mais evidentes em três (50%) cães, que foram os que apresentaram uremia.

Ao final do estudo, quatro animais do G_{IRA} retornaram aos parâmetros clínicos e laboratoriais normais, confirmando que a injúria renal foi revertida e o quinto cão manteve azotemia discreta. Uma das vantagens desse modelo é a reversibilidade do insulto, com características semelhantes à síndrome apresentada em humanos¹⁴. Em 30% de pacientes humanos tratados com gentamicina por mais de sete dias, surgem sinais de nefrotoxicidade¹.

Os principais sinais clínicos apresentados pelos cães do G_{IRA} estão descritos na Tabela 1 e são os esperados para animais com IRA¹⁵.

TABELA 1 - Frequência absoluta e relativa dos sinais clínicos dos cães (n = 6) do grupo indução renal (G_{IRA}) e os momentos que foram observadas as alterações.

Sinais Clínicos	Frequência		Momentos (dias)
	Absoluta	Relativa (%)	
Anorexia	4/6	66,6	M14d a M35d
Desidratação	4/6	66,6	M10d a M35d
Êmese	4/6	66,6	M10d a M30d
Poliúria/Polidipsia	4/6	66,6	M6d a M30d
Sensibilidade abdominal e renal	4/6	66,6	M8d a M40d
Alteração na cor e consistência das fezes	3/6	50	M10d a M20d
Apatia	3/6	50	M14d a M35d
Emagrecimento	3/6	50	M14d a M35d
Crise epiléptica	1/6	16,6	M18d

M1d a M10 d – indução da lesão renal; M12d a M45d – regressão da lesão renal

Neste estudo não foi realizada a quantificação da ingestão de água e o débito urinário dos animais, pela dificuldade de mantê-los por um período longo de tempo em gaiolas metabólicas. Porém, foi possível observar maior consumo de água, bem como maior quantidade de urina nas baias de alguns animais do G_{IRA}, em relação ao G_C. Essas observações indicam que estes animais tinham poliúria e polidipsia, que foram os primeiros sinais clínicos apresentados pelos cães (Tabela 1). Estudo com indução de IRA com gentamicina em cães, também indicou a presença de poliúria e polidipsia¹⁶.

Sabe-se que a poliúria pode ser evidente na fase de recuperação da IRA, como resultado do início da reparação tubular parcial, melhora da função renal e presença de diurese osmótica de solutos acumulados⁵. Neste estudo, a melhora da função renal nos cães

azotêmicos foi observada a partir do M14d (um cão) e M16d (um cão), momentos em que os cães ainda apresentavam este sinal clínico.

A injúria renal não azotêmica pode ocorrer e é caracterizada pela apresentação de alterações semelhantes às observadas durante a fase de recuperação poliúrica da IRA⁵, corroborando o achado do presente estudo, onde um cão não-azotêmico apresentou poliúria e polidipsia.

Nenhum animal do G_{IRA} apresentou anúria durante a condução do estudo. A oligúria e a anúria são esperadas em pacientes com injúria renal mais graves, especialmente na fase de manutenção da IRA¹⁵. Apesar de três animais (50%) terem apresentado injúria renal grave, não apresentaram anúria. A IRA não oligúrica é típica da injúria renal causada por aminoglicosídeos⁷.

Quatro animais (66,6%) apresentaram sensibilidade à palpação abdominal e renal a partir do M8d, sinal clínico frequentemente observado no exame físico do paciente com IRA^{5,15}. Os episódios de vômitos, diarreia e desidratação apresentados por 66,6% dos cães do G_{IRA} iniciaram no M10d. Desses animais, um cão (16,6%) não apresentou azotemia durante todos os momentos de avaliação e os outros três animais apresentaram azotemia de moderada a grave no M10d e pertenciam aos estádios III (um animal) e IV (dois animais) da IRIS.

Três cães do G_{IRA} que apresentaram anorexia, apatia e emagrecimento estavam azotêmicos. Um cão (16,6%) do mesmo grupo que apresentou anorexia persistente até M35d, não apresentou azotemia. Os sinais clínicos de perda de peso, vômitos e inapetência apresentados pelos cães do G_{IRA} aconteceram em decorrência da gastrite urêmica, uma condição atribuída à presença de toxinas urêmicas e hiperacidez gástrica¹⁷. Esses achados também foram relatados em outro estudo que observou apatia e anorexia em 100% dos cães com IRA induzida por gentamicina¹⁸.

Um cão (16,6%) do G_{IRA} apresentou episódios de crises epiléticas no M18d, enquanto já estava no estágio V da IRIS. Um estudo também descreveu episódios de convulsão em um cão (9%) com IRA induzida por gentamicina¹⁸. As crises convulsivas ocorrem com maior frequência em pacientes com IRA, que apresentam uremia grave e com TFG caindo rapidamente para menos de 10%, caracterizando a encefalopatia urêmica que inclui sinais neurológicos, letargia, demência e fraqueza¹⁵.

Não houve hipertensão arterial no G_C e no G_{IRA} (Figura 2). Apesar dos animais deste estudo não apresentarem hipertensão arterial, outros estudos relataram esta alteração em cães com IRA, porém a incidência de hipertensão foi variável^{9,15,19,20}. Os relatos de hipertensão em cães com IRA são limitados, enquanto que na DRC, ela é relatada por predizer a doença em cães, assim como acelera a progressão e diminui a sobrevida²⁰.

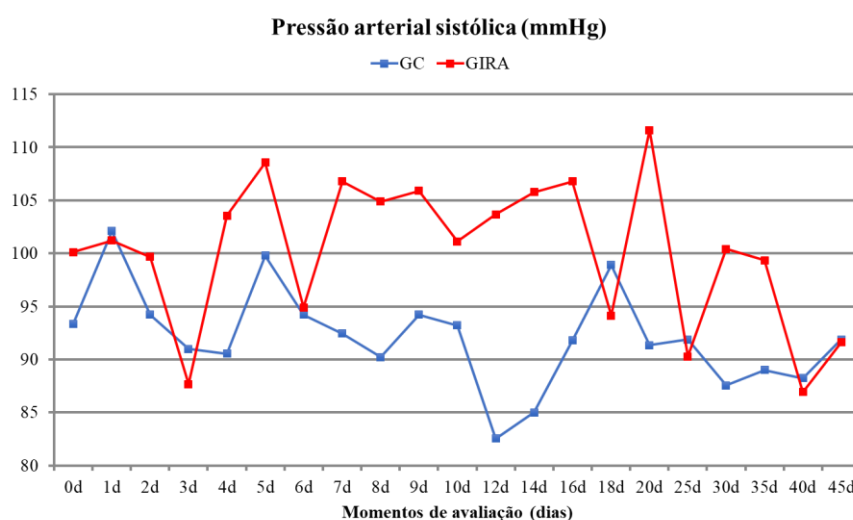


FIGURA 1 - Valores médios dos valores de pressão arterial sistólica (PAS) de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}).

3.2. Perfil hematológico

O hemograma dos cães do G_C e do G_{IRA} (Figuras 3 e 4) apresentaram resultados dentro dos parâmetros de normalidade descritos para a espécie canina²¹. Entretanto, o G_{IRA} apresentou elevação dos valores de plaquetas no decorrer do experimento e maiores valores do que o G_C, com diferença estatística ($p < 0,05$) em alguns momentos.

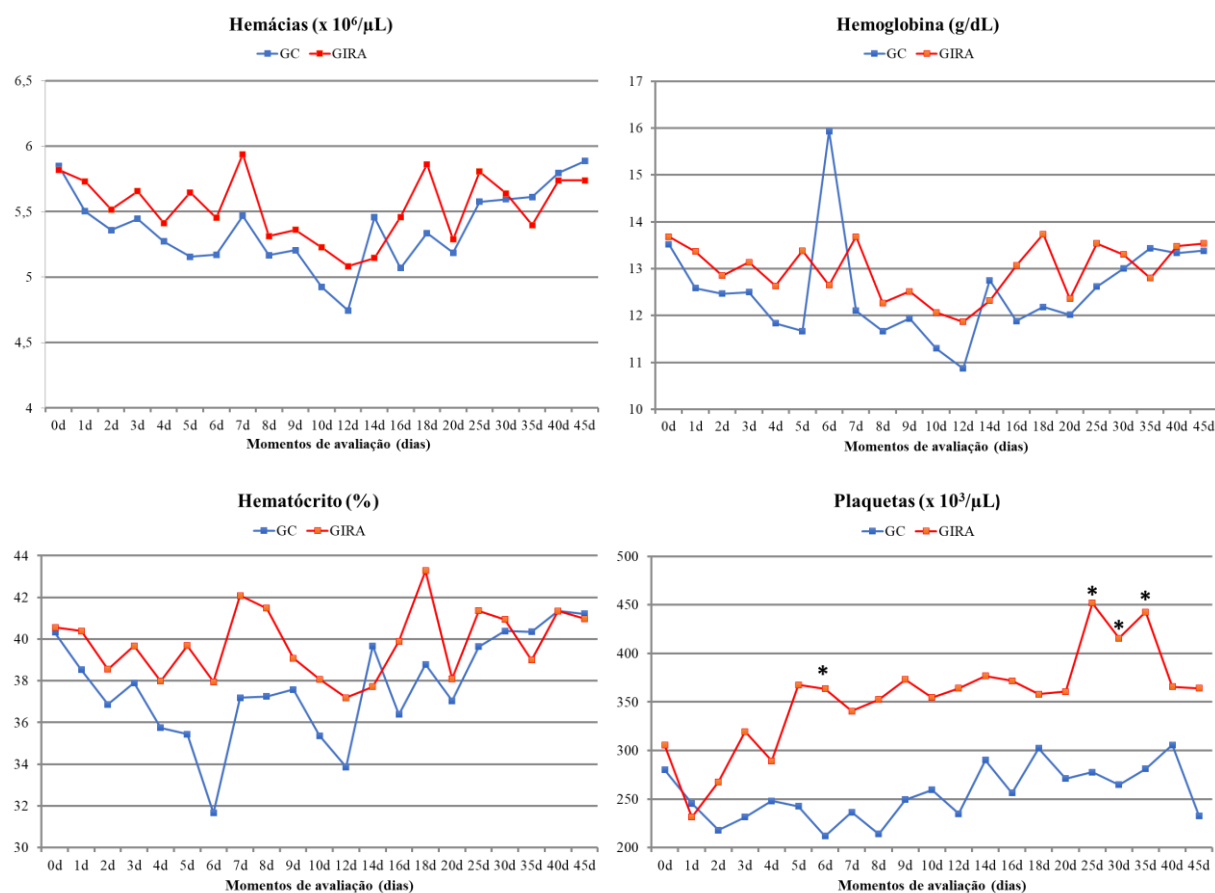


FIGURA 2 - Valores médios do número de hemácias, hemoglobina, hematócrito e plaquetas de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). Legenda: asteriscos (*) identificam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos.

Essa elevação de plaquetas observada no G_{IRA} pode ser explicada pela função pró-inflamatória exercida pelas plaquetas. Em sítios inflamatórios, ocorre a ativação de plaquetas na circulação sanguínea com consequente agregação plaquetária, secreção de quimiocinas, citocinas, fatores de crescimento e síntese de mediadores lipídicos como tromboxano A2 e fator ativador plaquetário²². A liberação de fator agregador plaquetário tem sido relatada como uma das causas de diminuição da TFG na IRA induzida por aminoglicosídeos²³.

Os cães do G_{IRA} não apresentaram alterações no hematócrito, o que era esperado, pois mesmo a redução na produção de eritropoietina que ocorre na IRA avançada, não há tempo suficiente para ocorrer a diminuição de hemácias circulantes, a ponto de causar anemia. A anemia poderá ocorrer se houver perda de hemácias por hemólise ou por hemorragia²⁴.

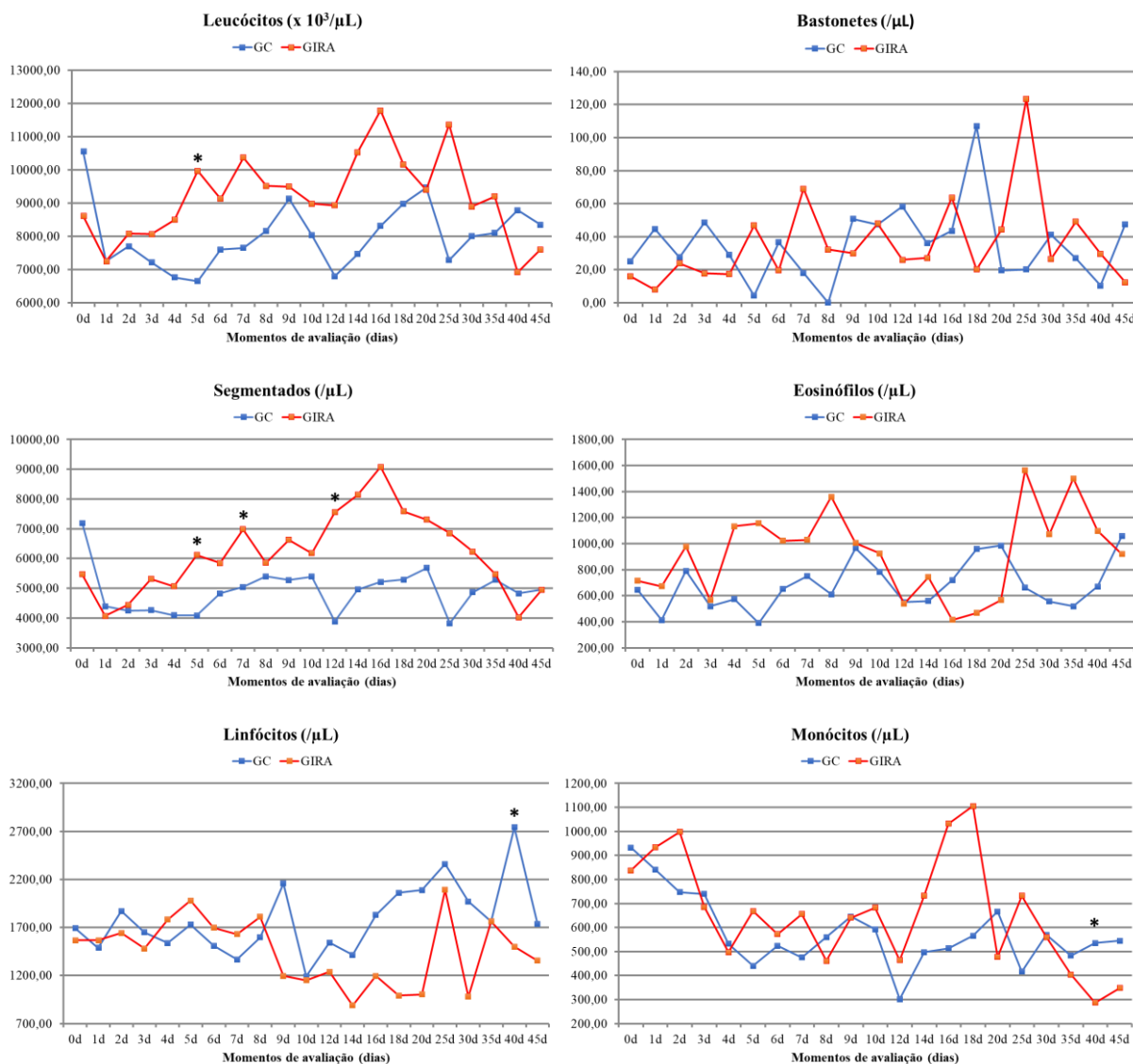


FIGURA 3 - Valores médios e desvio padrão dos valores absolutos médios e desvio padrão de leucócitos totais, bastonetes, segmentados, eosinófilos, linfócitos e monócitos de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). Legenda: asteriscos (*) identificam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos.

No leucograma foi observado maiores valores de leucócitos totais e neutrófilos segmentados no G_{IRA} no decorrer do experimento, com diferença estatística ($p < 0,05$) em alguns momentos. Essas elevações ocorrem como consequência da liberação de cortisol endógeno caracterizada como leucograma de estresse, resposta orgânica observada em várias doenças sistêmicas, entre elas, insuficiência renal, cetoacidose diabética, desidratação, doença inflamatória e dor associada o traumatismo²⁵.

3.3. Fibrinogênio

Os valores médios de fibrinogênio plasmático não diferiram entre os grupos e os momentos avaliados ($p>0,05$), como pode ser visualizado na Figura 5.

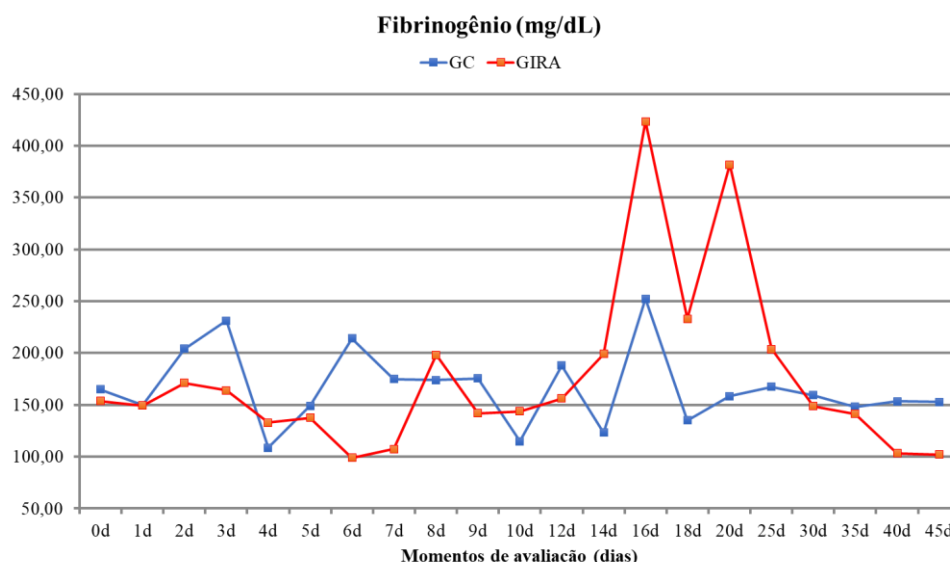


FIGURA 4 – Valores médios de fibrinogênio de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

Dois cães do G_{IRA} apresentaram elevações de fibrinogênio em relação aos valores considerados normais para a espécie²⁶. As alterações ocorreram em um cão no M16d; e no outro no M16d, M18d e M20d. Nestes mesmos momentos, estes animais apresentavam azotemia de moderada a grave.

A elevação do fibrinogênio nos cães do G_{IRA} demonstrou processo inflamatório sistêmico nestes animais, uma vez que o fibrinogênio é considerado uma proteína de fase aguda, que se eleva nas primeiras horas após o início da inflamação²⁷. Entretanto, o aumento de fibrinogênio de origem inflamatória persiste apenas 24 a 72 horas nos cães, o que ocorreu neste estudo, pois o tempo de hiperfibrinogenemia dos animais do G_{IRA} foi de no máximo 96 horas.

3.4. Perfil bioquímico sanguíneo e eletroforese sérica

3.4.1. Creatinina e ureia

Os valores médios de creatinina sérica e ureia (Figura 6) no G_C estavam dentro dos parâmetros de normalidade para a espécie canina²⁸ em todos os momentos.

No G_{IRA}, três animais (50%) apresentaram elevação de creatinina sérica acima dos valores de referência²⁸, a partir de M7d em um cão e M9d em dois cães. O pico máximo da elevação de creatinina sérica foi em M11 em dois cães e em M12 em um cão. O cão que veio à óbito apresentou valores de creatinina superiores aos demais. Os outros dois cães que apresentaram elevação da creatinina tiveram diminuição contínua da mesma após o pico, sendo que um deles retornou aos valores normais de referência no M45d e o outro cão ainda apresentava azotemia discreta neste momento.

Em consequência a esses aumentos de creatinina dos animais relatados acima, os valores médios do G_{IRA} nos momentos M8d, M9d, M10d, M12d, M16d e M18d diferiram significativamente ($p < 0,05$) tanto em relação aos valores médios obtidos no mesmo momento do G_C, quanto ao valor médio do M0 do G_{IRA}. Isso demonstra que o aumento da concentração sérica de creatinina desses animais foi representativo.

Os valores médios de ureia sérica estavam dentro dos parâmetros de referência²⁸ e não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os grupos em cada momento e entre os momentos em todos os grupos.

Os mesmos três cães do G_{IRA} que apresentaram elevação das concentrações de creatinina sérica também apresentaram elevação das concentrações de ureia sérica, a partir do M9d em dois cães (33,3%) e M12d em um cão (16,6%). Os valores de ureia nestes cães, exceto o que veio à óbito, decresceram, mas ainda estavam discretamente acima da referência²⁸ no M45d.

Os valores elevados de ureia e creatinina nos três cães do G_{IRA} indicaram injúria renal grave, confirmada pelos sinais de síndrome urêmica apresentados e pelos baixos valores de densidade urinária.

A elevação da creatinina sérica antecedeu a elevação da ureia nos animais do G_{IRA}, demonstrando que a creatinina foi mais precoce do que a ureia no diagnóstico da IRA. A maioria dos estudos concorda que a creatinina sérica é mais eficiente em refletir as mudanças da TFG do que a ureia. Múltiplos fatores extrarrenais que podem influenciar a concentração da ureia, que são: alimentação, hemorragia gastrointestinal, inanição, desidratação e

reabsorção renal²⁶. Entretanto, vale salientar que a creatinina sérica possui alguns fatores de variações extrarrenais como a desidratação, a idade e a massa muscular¹².

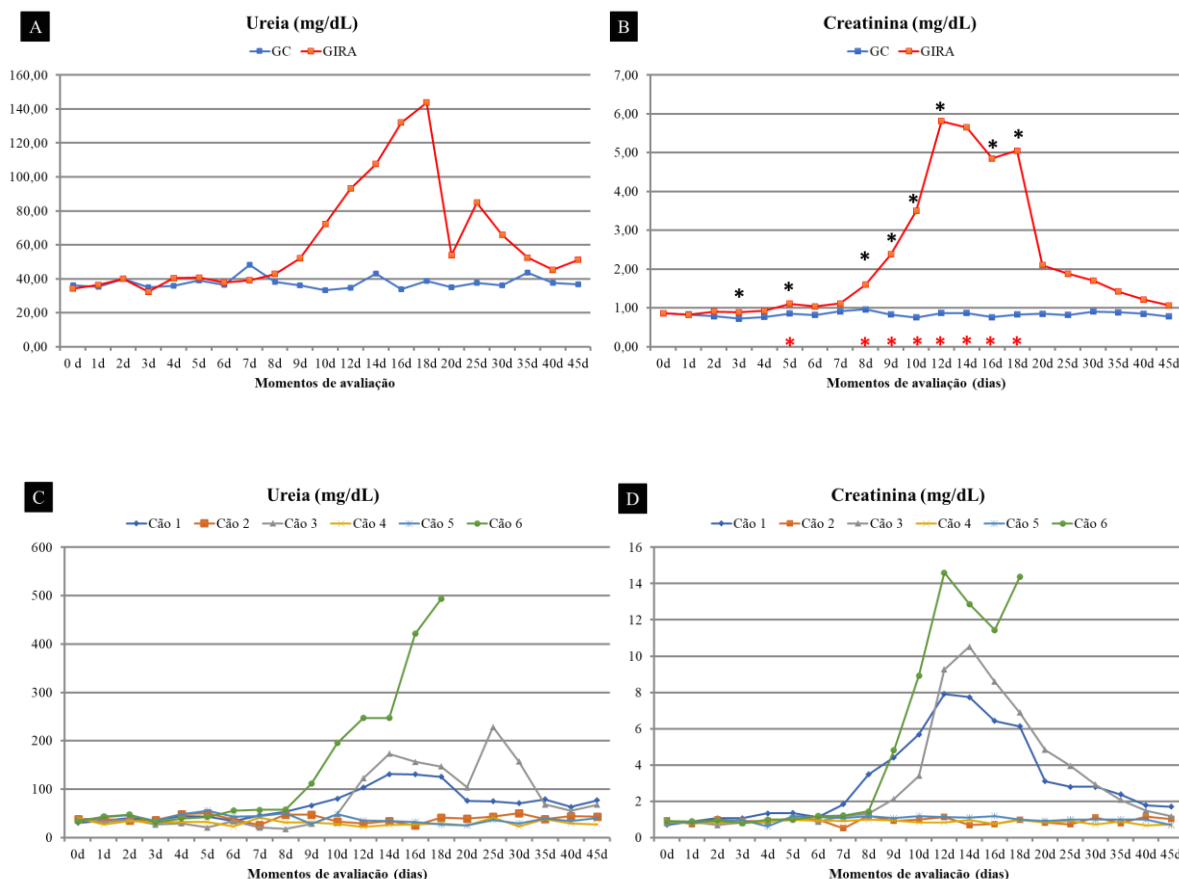


FIGURA 5 - (A e B) Valores médios de ureia e creatinina séricos de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). (C e D) Valores individuais de ureia e creatinina séricos de acordo com os momentos de avaliação dos cães do G_{IRA}. Legenda: * identifica diferenças estatísticas (p < 0,05) entre os grupos; * identifica diferença estatísticas (p < 0,05) de valores entre o momento e o momento basal.

Os resultados deste estudo evidenciaram que esses dois marcadores foram tardios no diagnóstico da IRA, pois os cães do G_{IRA} apresentaram elevações acima da referência a partir de sete dias após o início da indução e no M6 os animais já apresentavam sintomatologia de injúria renal (poliúria e polidipsia), com evolução ao longo dos momentos (Tabela 1). Este mesmo comportamento, marcador tardio de diagnóstico, da creatinina e ureia foi descrito em outros estudos em cães com IRA induzida por gentamicina^{16,18,30}.

As concentrações de creatinina sérica aumentaram consideravelmente em três animais do G_{IRA} em curto período de tempo: um cão a partir do M8d, que apresentou elevação

de 1,9 vezes em comparação ao valor do M7d; e dois cães a partir do M9d, que apresentaram elevação de 3 vezes e 1,6 vezes, respectivamente, em comparação aos seus valores no M8d. Estes resultados são esperados uma vez que a TFG é inversamente proporcional à concentração sérica da creatinina de forma exponencial, o que reflete em aumento mais expressivo da concentração sérica de creatinina a partir do momento em que há o agravamento da disfunção renal³¹.

3.4.2. Fósforo, cálcio e colesterol

Os valores médios de fósforo (Figura 7) não foram significativamente diferentes ($p>0,05$) tanto entre G_{IRA} e G_C em todos os momentos, quanto entre todos os momentos dentro de cada grupo ($p>0,05$).

Avaliando os animais individualmente, os valores de fósforo sérico (Figura 7) no G_C estavam dentro dos parâmetros de normalidade²⁸ em todos os momentos. No G_{IRA} três cães (50%) apresentaram elevação das concentrações de fósforo sérico acima dos valores de referência²⁸. Os aumentos ocorreram a partir do M9d em um cão e M12d em dois cães e retornaram à normalidade nos momentos M16d e M20d.

Na IRA, as concentrações séricas de fósforo são frequentemente elevadas. O grau de elevação pode refletir o grau de redução da TFG e não a duração da injúria⁵, como observado neste estudo. No momento em que os valores de fósforo sérico em dois cães retornaram à normalidade, os mesmos ainda apresentavam azotemia. Além disso, o cão que veio à óbito apresentou as maiores concentrações de fósforo sérico, que se elevaram continuamente até o momento do óbito, refletindo a contínua diminuição da TFG. Portanto, o fósforo demonstrou ser um fator preditor da morte neste cão. Constatação semelhante foi feita em um estudo que observou hiperfosfatemia na maioria dos cães com DRC nos estádios avançados da doença e alta correlação com o agravamento da doença e mortalidade³². Outro estudo observou prognóstico desfavorável em cães com IRA que apresentaram hiperfosfatemia e elevação de ânions gap³³.

Os valores médios de cálcio não diferiram estatisticamente entre os grupos dentro de cada momento ($p>0,05$). Na comparação entre os momentos do G_{IRA} , o M5d, M7d e M8d diferiram do M0. Porém, como todos estes valores estavam dentro dos valores de referência e não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos dentro de cada momento, estas

alterações não foram consideradas relevantes. As concentrações de cálcio séricos são frequentemente normais exceto quando a IRA é provocada por hipercalcemia⁵. Na nefropatia a hipercalcemia é mais frequente em pacientes com DRC do que com IRA³⁴, justificando os resultados deste estudo.

Os valores de colesterol estavam dentro dos valores de referência¹³ em ambos os grupos e não apresentaram alterações significativas no decorrer do estudo ($p>0,05$). Estes resultados eram esperados, uma vez que não há associação de injúrias tubulares com alterações na concentração sérica de colesterol³⁵, diferente do que se vê na síndrome nefrótica³⁶.

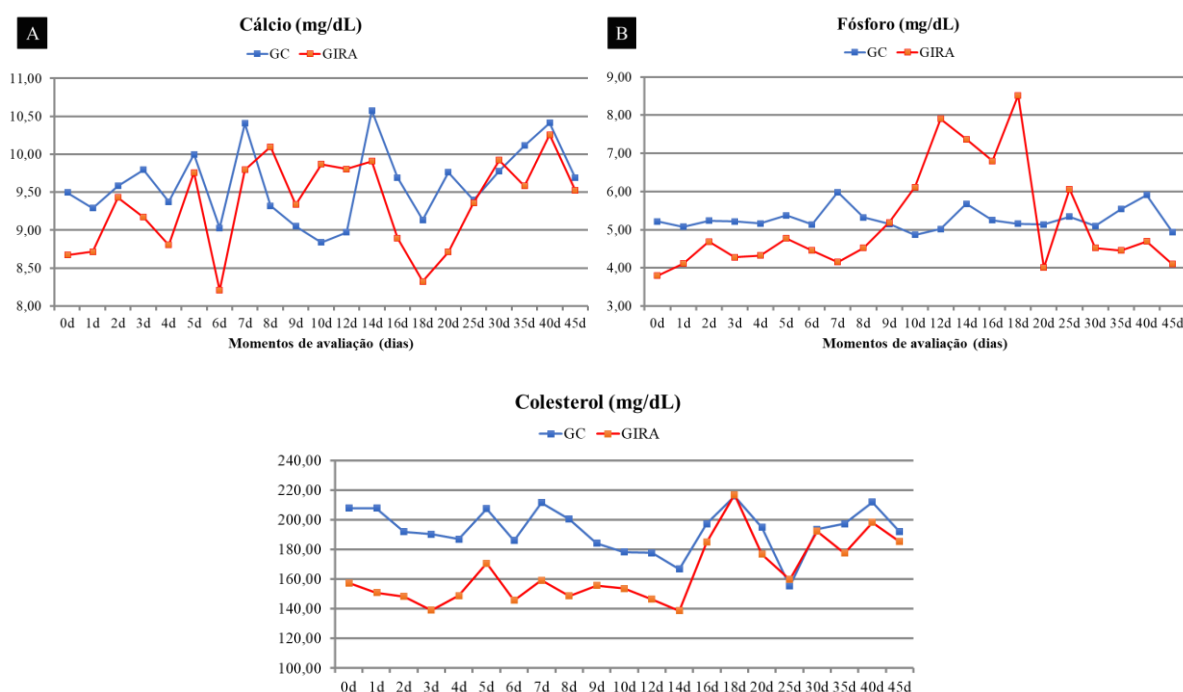


FIGURA 6 - (A, B e C) Valores médios de cálcio, fósforo e colesterol séricos de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}).

3.4.3 Proteínas séricas totais, albumina e globulina

Os valores médios das proteínas séricas totais, da albumina e das globulinas séricas do G_{IRA} (Figura 8) não diferiram ($p>0,05$) do G_C .

Os valores médios de albumina e de globulinas do G_C estavam dentro dos valores de referência para a espécie canina em ambos os grupos em todos os momentos. No G_C ocorreram valores abaixo da referência de proteínas totais²⁸ em dois cães, decorrente de

redução da albumina ou da globulina. Os valores menores de proteínas totais foram atribuídos a variação individual relacionada à menor idade dos mesmos³⁷, uma vez que não terem sido detectadas enfermidades que justificassem essas diminuições, ou mesmo subnutrição proteica, pois a dieta ofertada continha 22% de proteína.

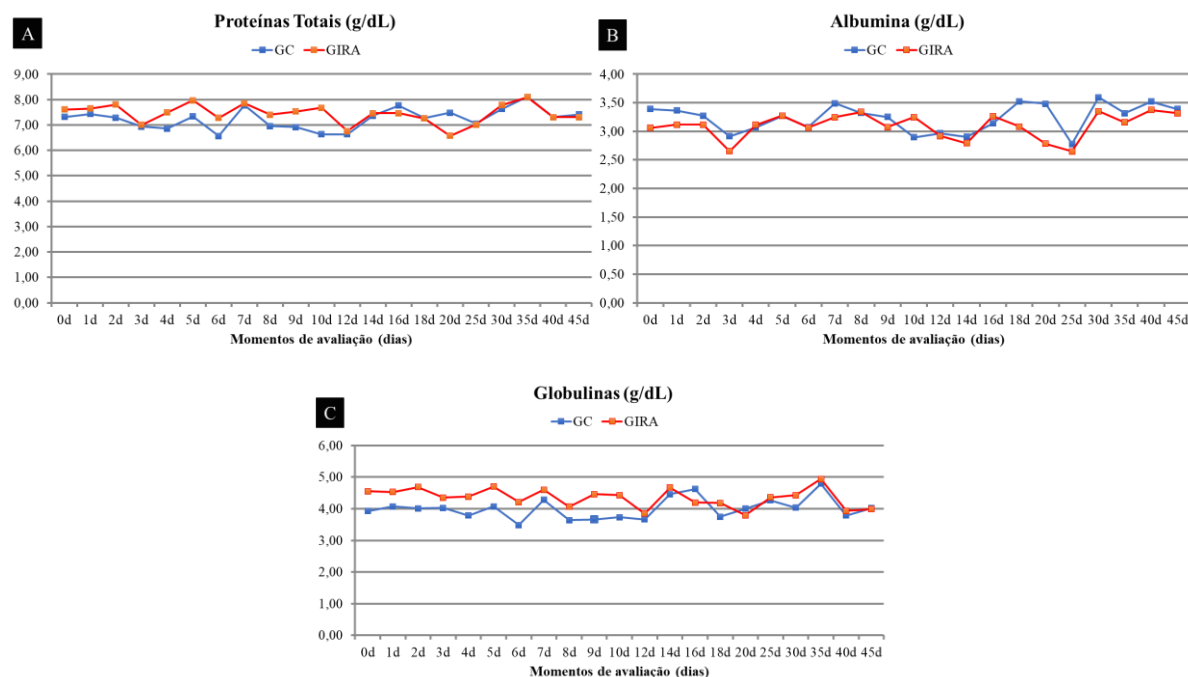


FIGURA 7 - (A, B e C) Valores médios de proteínas totais, albumina e globulinas séricas de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (GC) e dos cães do grupo indução renal (GIRA).

No GIRA, dois cães tiveram valores de proteínas totais abaixo da referência²⁸ na maioria dos momentos, em decorrência da redução da globulina, alteração provavelmente relacionada a variação individual pois, estes animais tinham valores de proteínas totais mais baixos desde o momento basal (M0).

No GIRA os três cães azotêmicos apresentaram diminuições nos valores de albumina sérica em alguns momentos. Dois cães apresentaram valores baixos de albumina mais evidentes no M20d e M25d, e de M20d a M35d, respectivamente. Sendo a hipoalbuminemia atribuída à anorexia e aos sinais de uremia apresentados pelos mesmos em decorrência da diminuição de proteínas³⁸. Outro fator que pode ter contribuído para a redução da albumina foi o processo inflamatório, uma vez que a albumina é uma proteína de fase aguda

negativa³⁹. Em vários momentos em que albumina estava baixa, a globulina estava aumentada, o que explica a ausência de alteração na proteína total.

O cão que veio à óbito apresentou os menores valores de albumina sérica na maioria dos momentos (M0, M2d, M3d, M4d, M5d, M8d, M9d, M12d, M14d e M18d). É importante salientar que este cão tinha hábito alimentar adequado durante o período de adaptação e apresentou vômitos e anorexia a partir do M10d e M14d respectivamente. O menor valor de albumina sérica observado neste cão foi no M8d (1,57 g/dL), antecedendo a azotemia e a hiperfosfatemia que iniciaram no M9d. Este cão apresentou quadro clínico grave de uremia, as maiores concentrações de creatinina e fósforo e intensa hipoalbuminemia. Em cães hospitalizados na unidade de terapia intensiva a hipoalbuminemia foi associada à maior mortalidade⁶. Também é um preditor independente de morte em pacientes humanos com IRA instalada, bem como, está associada ao maior risco de desenvolvimento de IRA⁴⁰. Menores concentrações de albumina foram associadas à maior incidência de nefrotoxicidade por amicacina, um antibiótico aminoglicosídeo, mecanismo explicado pelas propriedades quelantes específicas da albumina que conferem renoproteção em pacientes tratados com fármacos nefrotóxicos⁴⁰.

3.4.4. Perfil eletroforético sérico

A quantificação da albumina, alfa-1, alfa-2, beta-1, beta-2, gama globulinas e razão albumina/globulina (A/G) que compuseram o perfil eletroforético, pode ser visualizada na Figura 9.

Em relação à fração alfa-1 globulina o grupo G_{IRA} apresentou valor médio menor do que o G_C no M20d, com diferença significativa ($p < 0,05$). A fração alfa-1 globulina possui funções de transporte de lipídios, inativação de proteases e efeito anti-inflamatório. Nelas estão incluídas as proteínas de fase aguda antitripsina, $\alpha 1$ -lipoproteína, $\alpha 1$ -antiquimiotripsina e $\alpha 1$ - glicoproteína ácida. Em relação à fração alfa-2 globulina, o grupo G_{IRA} apresentou valor médio menor do que o grupo G_C no M7d, com diferença significativa ($p < 0,05$). Na fração alfa-2 globulina estão incluídas $\alpha 2$ -macroglobina, que por inativar proteases é considerada anti-inflamatória; a haptoglobina, que liga e transporta hemoglobina livre, a ceruloplasmina e a amiloide A sérica.



FIGURA 8 - Valores médios de albumina, globulinas séricas e razão albumina:globulinas de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). Legenda: * identifica diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos; * identifica diferença estatísticas ($p < 0,05$) de valores entre o momento e o momento basal.

Em relação à fração beta-1 não houve diferença significativa entre os grupos ($p>0,05$). Na fração da beta-1 globulina está a hemopexina e a transferrina, proteína que liga e transporta o ferro. A fração beta-2 globulina foi menor no grupo G_{IRA} do que no grupo G_C no M6d, com diferença significativa ($p<0,05$). Na fração beta-2 globulina estão as proteínas do complemento C3 e C4, ferritina, proteína C reativa e fibrinogênio. A fração beta globulina pode ou não se elevar na inflamação crônica⁴¹.

A fração gama globulina não diferiu entre os grupos ($p>0,05$). Na fração gama globulina estão as imunoglobulinas IgG, IgE, IgA e IgM.

O G_{IRA} apresentou valor menor de razão albumina/globulina (A/G) no M40d com diferença estatística ($p<0,05$). A A/G fornece considerável informação quanto à patogenia da hiperproteinemia, que pode ser relativa, quando há aumento concomitante de eritrocitose e absoluta, quando a concentração da globulina está aumentada em associação da diminuição leve a moderada da albumina⁴², alteração que não foi observada neste estudo.

3.4.5. Sódio e potássio

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos para o sódio sérico (Figura 10). Os valores médios dos dois grupos, na maioria dos momentos, foram um pouco abaixo dos relatados para cães saudáveis recebendo dieta com 22% de proteína²⁸. Quando comparado os valores médios de todos os momentos do G_{IRA} , com o momento basal (M0), os valores foram menores em quase todos os momentos, sendo estatisticamente diferentes ($p<0,05$) no M4d, M5d, M14d, M16d, M20d e M35d. Isto também ocorreu no G_C nos momentos M16d, M20d, M35d e M45d e, nestes momentos, os valores entre os grupos não demonstraram diferença significativa ($p>0,05$), o que demonstra que o mecanismo de regulação do sódio sérico foi mantido, assim como observado em cães doentes renais crônicos⁴³. A concentração de sódio sérico em cães com doença renal pode ser baixa, normal ou alta dependendo do grau da injúria, presença de vômitos e diarreia⁴⁴.

A avaliação dos valores médios de potássio sérico (Figura 10) demonstrou que o G_{IRA} apresentou valores menores do que o G_C com diferença estatística ($p<0,05$) nos momentos M5d, M12d, M14d e M30d. Entre os momentos dentro de cada grupo, não houve diferença significativa ($p>0,05$).

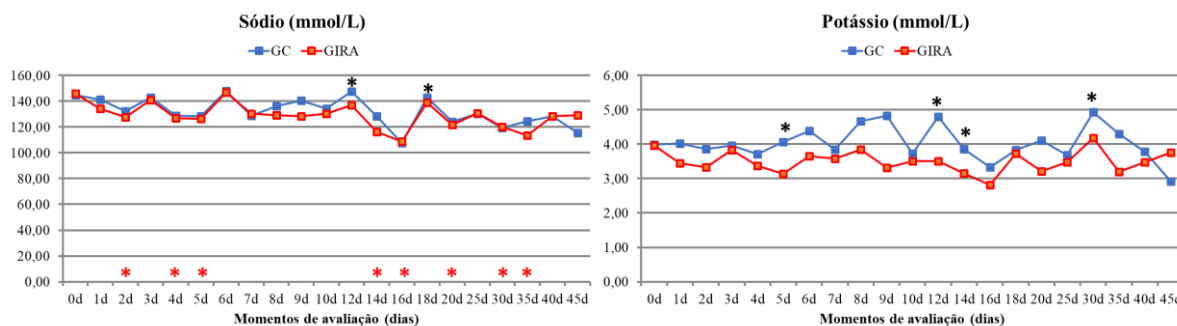


FIGURA 9 - Valores médios de sódio e potássio séricos de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). Legenda: * identifica diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos; * identifica diferença estatísticas ($p < 0,05$) de valores entre o momento e o momento basal.

A hipocalemia pode ocorrer na nefropatia por aminoglicosídeo⁴⁵, corroborando os achados deste estudo. Hipocalemia foi observada em 60% dos cães com IRA induzida por gentamicina, onde também foi relado ocorrência de hipercalemia¹⁵. Em cães com anúria ou oligúria, a hipercalemia pode ocorrer primariamente⁵, o que não foi observado neste estudo uma vez que os cães não apresentaram tais sinais clínicos.

3.5. Perfil hemogasométrico

Os valores médios de pH sanguíneo dos animais (Figura 11) não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. No G_{IRA} um cão (16,6%) apresentou valores menores em comparação ao grupo G_C a partir do M9d e quatro cães (83,3%) a partir do M12d. Essa diminuição do pH refletiu nos valores médios, pois no M9d, M12d, M14d e M18d os valores foram menores do que os do momento basal (M0). O menor valor de pH observado foi de 7,12.

Cinco cães do G_{IRA} apresentaram valores de bicarbonato sanguíneo (HCO_3^-) menores do que a média $\pm$ desvio padrão do G_C (22,9 – 26,08 mmol/L), a partir do M3d, M4d, M7d, M8d e M9d. O menor valor de HCO_3^- observado foi de 10,9 mm/L no M18d.

O G_C não apresentou alteração no déficit de base (BE). O G_{IRA} apresentou BE em cinco cães em variados momentos, iniciando-se em M7d em um cão, M8d em um cão, M9d em dois cães e M14d em um cão. Porém só a partir do M9d foi que o BE desses animais refletiu no valor médio do grupo ($P < 0,05$), persistindo até o M14d. O BE mais grave foi observado no M25d.

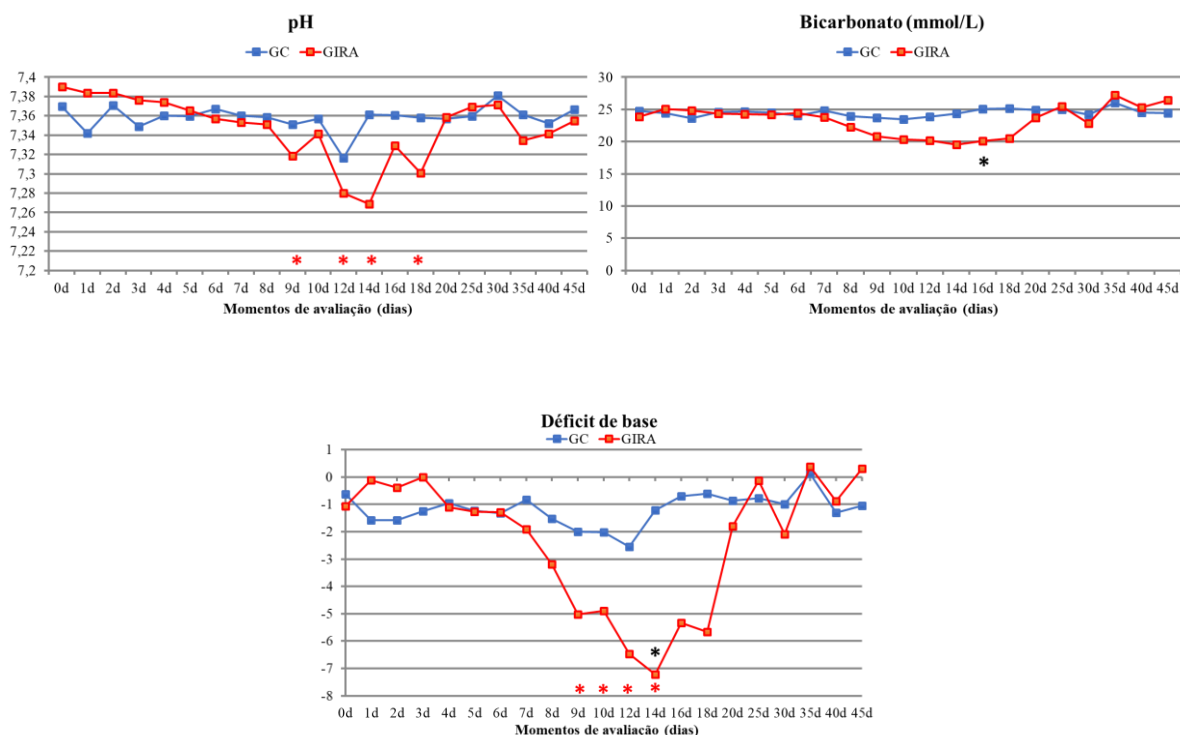


FIGURA 10 - Valores médios de pH, bicarbonato e déficit de base de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). Legenda: * identifica diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos; * identifica diferença estatísticas ($p < 0,05$) de valores entre o momento e o momento basal.

Neste estudo, a acidose metabólica ocorreu na maioria dos cães com IRA e foi mais acentuada nos azotêmicos. A acidose metabólica é frequente em cães com comprometimento da função renal, pois os rins perdem a capacidade de excreção de íons H^+ , juntamente com a dificuldade de reabsorção tubular do bicarbonato⁴⁴. A acidose metabólica ocorre com maior gravidade na fase de manutenção¹⁵, como observado neste estudo.

Um estudo com cães com IRA e DRC também foi relatado acidemia em 87,5% dos cães associada à baixos níveis de bicarbonato sanguíneo e déficit de base grave⁴⁷. Entretanto o estudo não indicou a porcentagem individualizada de cães com IRA que apresentaram o distúrbio ácido base.

O déficit de bicarbonato em gatos foi associado à diminuição da sobrevivência⁵, assim como observado neste estudo, onde o cão que veio à óbito apresentou acidemia grave (7,2), baixa concentração de HCO_3^- (10,9 mmol/L) e déficit de base grave (-15,4).

3.6. Perfil bioquímico urinário

3.6.1. Razão proteína/creatinina urinária (Pu/Cu)

Os valores médios da razão Pu/Cu (Figura 12) estavam dentro da normalidade para a espécie canina⁴⁸ no G_C em todos os momentos. Nenhum cão do G_C apresentou proteinúria durante a condução do estudo. Dos cinco cães do G_C que apresentaram proteinúria limítrofe em algum momento, ou seja, razão Pu/Cu entre 0,2 e 0,5⁴, três (60%) tinham presença de hemácias no sedimento urinário naquele mesmo momento.

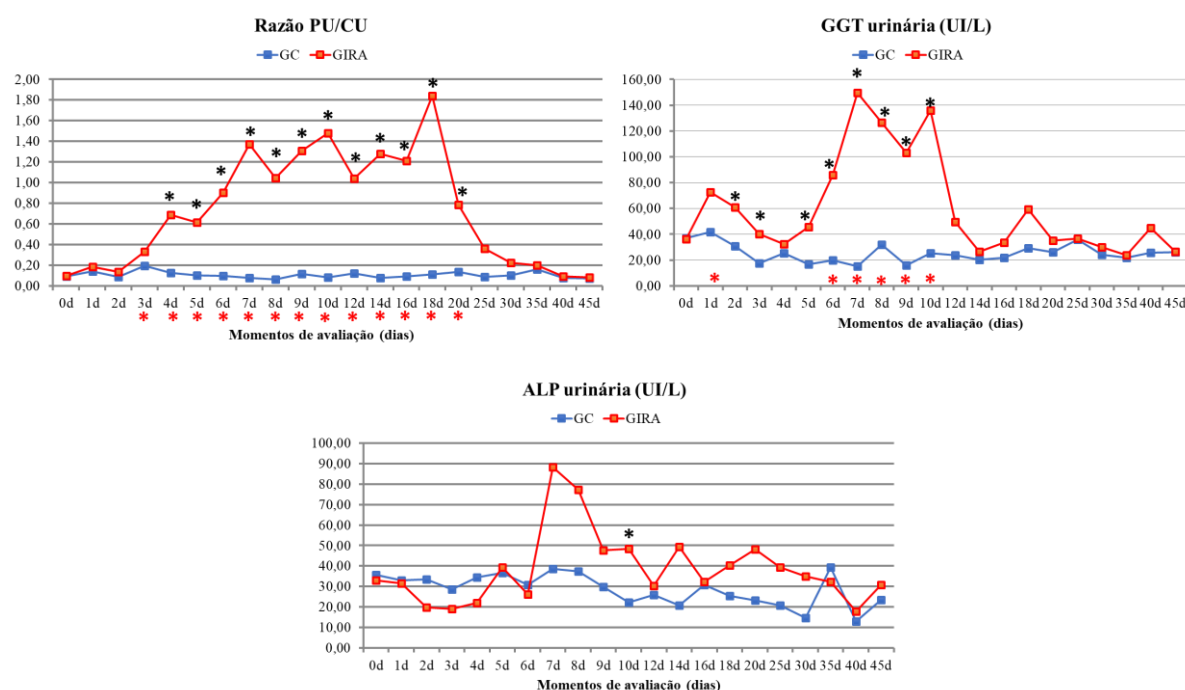


FIGURA 11 - Valores médios de razão PU/CU, GGT urinária e ALP urinária de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). Legenda: * identifica diferenças estatísticas (p<0,05) entre os grupos; * identifica diferença estatísticas (p< 0,05) de valores entre o momento e o momento basal.

A hematúria observada no G_C em alguns momentos provavelmente foi resultado do cateterismo uretral que provocou a lesão do epitélio, já que esses animais não tinham sinais clínicos de cistite, nem aumento de leucócitos e bactérias na urina que pudessem sugerir inflamação e infecção do trato urinário. Uma das desvantagens da cateterização uretral é o aumento de hemácias no sedimento urinário devido ao trauma¹⁵.

Todos os cães do G_{IRA} apresentaram proteinúria em algum momento. No G_{IRA} os valores médios da razão Pu/Cu aumentaram para o nível proteinúrico limítrofe em M3. Entre M4d e M15d os valores médios permaneceram elevados, retornando para o nível proteinúrico limítrofe em M25d e à normalidade em M30d. Nestes mesmos momentos houve diferença significativa ($p<0,05$) em relação ao momento basal (M0).

A proteinúria observada no G_{IRA}, também foi relatada por Vaden et al.⁶ em 66% de cães com IRA que a atribuíram ao processo inflamatório do trato urinário inferior e a redução na reabsorção tubular das proteínas de baixo peso molecular.

A proteinúria deve ser avaliada juntamente com os demais achados no sedimento urinário como leucócitos, hemácias, bactérias, células epiteliais e cilindros, para que a origem da proteinúria seja estabelecida¹⁵. No presente estudo, o G_{IRA} apresentou hemácias, leucócitos, bactérias, células epiteliais e cilindros em vários momentos. A proteinúria acompanhada desses achados variou entre 50% e 100% em todos os momentos no G_{IRA}. Portanto, acredita-se que a proteinúria observada no G_{IRA} associou-se à presença de depósito ativo em decorrência do processo inflamatório de origem tubular.

3.6.2 Gama glutamiltransferase urinária (GGTu)

Os valores médios GG_{Tu} do G_C (Figura 12) não ultrapassaram os limites de referência relatados por Souza (46,40 UI/L)⁴³. O G_{IRA} apresentou valores mais elevados de GG_{Tu} com diferença estatística ($p<0,05$) a partir de M6d por causa da alteração em cinco cães (83,3%). Porém no M2d, M3d e M5d já haviam dois animais (33%) que apresentavam valores acima da referência. Os valores de GG_{Tu} retornou à normalidade em um cão no M10d e em dois animais em M12d, sendo esta diminuição representativa para o gupo ($p<0,05$) a partir de M12d. Nos outros dois cães a GG_{Tu} retornou a normalidade em M18d e M20d. O cão do G_{IRA} que veio à óbito no M20d apresentou constante diminuição da enzima urinária o que indicou depleção do estoque devido à injúria tubular severa⁷.

Os valores médios de GG_{Tu} em ambos os grupos apresentaram grande variabilidade, com valores altos em momentos variados e com maior intensidade no G_{IRA}. Todos os cães do G_{IRA} apresentaram elevação da atividade de GG_{Tu} em algum momento indicando injúria tubular renal. O aumento da excreção de enzimas urinárias como GG_T e ALP ocorre devido à lesão das células epiteliais presentes na borda em escova dos túbulos

proximais renais⁴⁹. Os cães não azotêmicos e que tiveram aumento na atividade de GGTu também apresentaram alterações no sedimento urinário tais como presença de cilindros granulados grossos (50%), cilindros granulados finos (16,6%), células epiteliais renais (50%), células epiteliais transicionais (50%), células epiteliais pélvicas (16,6%), hematúria (50%) e leucocitúria (16,6%).

A elevação da atividade de GGTu em cães com IRA é frequentemente relatada^{18,28,48}, entretanto os valores citados são muito variados. Neste estudo, observou-se maior atividade de GGTu nos animais que tiveram injúria renal mais grave comprovada pela presença de azotemia, cilindrúria, isostenúria, glicosúria e maior número de células epiteliais tubulares no sedimento urinário.

Os resultados deste estudo mostraram elevação da atividade da GGTu a partir de 24 horas após a indução. Outro estudo observaram elevações mais tardias na atividade de GGTu em cães com IRA induzida por gentamicina a partir do terceiro dia da indução e valores de GGTu superiores a 400 UI/L¹⁸. Nos cães do G_{IRA}, o valor máximo de GGTu foi de 431,93 UI/L no M7d.

Outro estudo observou elevações de GGTu duas horas após a reperusão em cães com IRA isquêmica, relatando médias entre 86,52 UI/L e 115,62 UI/L nos momentos críticos da lesão renal⁵⁰, resultados inferiores aos observados neste estudo. Em outro estudo, observaram elevações na GGTu três vezes acima das concentrações basais, precedendo alterações visualizadas na ultrassonografia, elevações na creatinina plasmática e proteinúria em cães com nefrotoxicidade por gentamicina⁵¹. Valores maiores do que este foram encontrados neste estudo, pois o valor mais elevado encontrado, foi 11 vezes maior do que o valor basal (M0).

3.6.3. Fosfatase alcalina urinária (ALPu)

Devido aos poucos relatos de valores de referência de ALPu em cães, optou-se por estimar o valor de referência utilizando os valores do G_C deste estudo e do momento basal (M0) do G_{IRA}. Portanto, o intervalo de referência de ALPu considerado neste estudo foi de 0 a 61,6 UI/L.

Os valores de ALPu apresentaram grande variação entre os momentos (Figura 12), não havendo linearidade de elevação e queda, apresentando diminuição em um momento com

subsequente elevação no momento subsequente. Avaliando os valores dos cães individualmente no G_{IRA} , ocorreram aumentos na atividade ALPu nos momentos M1d, M5d, M7d, M8d, M9d, M10d, M14d, M20d, M25d e M30d. Estes valores maiores do que o intervalo de referência ocorreram em no máximo dois cães por momento, não resultando em variação ($p>0,05$) na média na maioria dos momentos. Apenas no M10d houveram valores mais altos do que os observados no G_C ($p<0,05$). O maior valor de ALPu observado no G_{IRA} foi de 292,25 UI/L no M7d.

De acordo com os resultados deste estudo, a ALPu foi menos eficiente, comparada à GGTu, em detectar a injúria tubular renal. Resultados semelhantes foram relatados por outro estudo que compararam GGTu e ALPu em pacientes humanos com nefropatia diabética tipo 2, e observaram menor sensibilidade da ALP em detectar a injúria renal⁴⁹. Por outro lado, foi observado maiores elevações de ALPu do que de GGTu em cães com IRA⁵².

A atividade de ALPu pode não se correlacionar com a extensão da injúria renal⁵³, como observado neste estudo, uma vez que a instabilidade da ALPu pode limitar sua utilidade clínica. Neste estudo, as análises de ALPu e GGTu foram realizadas imediatamente após a colheita da urina, não justificando a alta variação observada nos resultados. A grande sobreposição nos valores da atividade da GGT urinária observada entre cães saudáveis e cães com IRA pode ser explicada pela variação da razão GGTu /creatinina urinária ao longo do dia, além do fator adicional da diurese pode exercer uma grande influência na excreção urinária das enzimas⁵⁴.

3.6.4. Excreção fracional (EF) de sódio e potássio

Os valores médios de EF de sódio e de potássio estão descritos na Figura 13.

Todos os cães do G_{IRA} apresentaram elevação da EF de sódio e de potássio em algum momento, mas nos três cães azotêmicos as elevações foram maiores. A elevação da excreção fracionada ocorreu a partir de M4d para a maioria dos cães e elevou-se de forma mais acentuada a partir de M9d. Os cães não-azotêmicos apresentaram elevações menores da EF de sódio e de potássio. O cão que veio à óbito apresentou os maiores valores de EF de sódio e de potássio.

Na comparação entre as médias dos grupos, a EF de sódio apresentou diferença significativa ($p<0,05$), apenas no M18d, com maiores valores do G_{IRA} em relação ao G_C .

Na EF de potássio os valores médios de vários momentos do G_{IRA} (M4d, M5d e do M9d até o M35d) foram superiores aos basais do mesmo grupo (M0). Nos momentos M4d, M5d, M10d, M14d, M16d e M20d, esses valores foram superiores ao G_C , indicando que a EF de potássio foi sensível na detecção da IRA.

Os resultados deste estudo foram diferentes dos encontrados em outro estudo¹⁶ que não observaram aumento significativo na elevação dos eletrólitos urinários em cães com IRA induzida por gentamicina. Porém, observaram aumento da razão sódio/cloro que foi atribuída a poliúria, refletindo a diminuição da capacidade de conservação da água e de sódio¹⁶. Animais com IRA aumentam a excreção urinária de sódio e cloro, enquanto retém creatinina. Ao contrário do que ocorre na azotemia pré-renal, onde sódio e cloro são retidos, enquanto a excreção de creatinina é aumentada⁵. Isso corrobora com os resultados deste estudo, onde foi observado aumento da excreção urinária de sódio em todos os cães em algum momento, com as maiores elevações nos cães azotêmicos, indicando maior gravidade da disfunção renal nos mesmos.

A EF de sódio acima de 2% a 3% já é indicativo de disfunção tubular aguda⁵⁵, como observado neste estudo, onde os cães azotêmicos apresentaram os maiores valores de EF de sódio.

A EF de potássio apresentou elevação mais acentuada do que a EF de sódio. É importante mensurar os eletrólitos séricos em pacientes que recebem medicamentos potencialmente nefrotóxicos, como a gentamicina, que está associada ao aumento da excreção urinária de potássio e pode resultar em depleção de potássio e aumento da nefrotoxicidade⁷, achado observado neste estudo.

Um estudo constatou o aumento da EF de potássio durante a administração de anfotericina B em cães saudáveis, com variações de 13,61% a 34,26%⁵⁶, valores um pouco inferiores aos encontrados neste estudo, onde foi observado o valor máximo de 36,16% no cão que veio à óbito. Assim como acontece com a EF de sódio, os rins aumentam a EF de potássio em resposta à diminuição da TFG¹⁵. Portanto, a utilização dessa ferramenta laboratorial pode contribuir para o monitoramento da nefrotoxicidade por aminoglicosídeos, em associação a outros marcadores urinários como enzimas da borda em escova, glicose e cilindros⁵⁵. Neste estudo, a associação da EF de eletrólitos e da atividade de GGTP mostraram-se eficientes marcadores de injúria tubular precoce, justificando seu uso na rotina clínica.

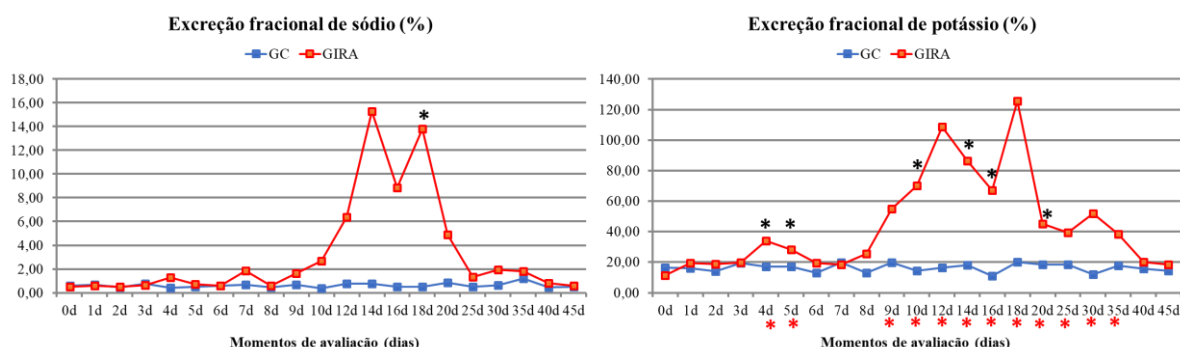


FIGURA 12 – Valores médios da excreção fracional de sódio e de potássio de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). Legenda: * identifica diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os grupos; * identifica diferença estatísticas ($p < 0,05$) de valores entre o momento e o momento basal.

3.7. Exame de urina

3.7.1. Potencial hidrogeniônico (pH) urinário

Os valores de pH (Figura 14) estiveram dentro dos parâmetros de normalidade que considera normal para a urina de carnívoros valores entre 5,0 e 7,5¹⁵.

Os valores de pH urinário foram semelhantes para os dois grupos não havendo diferença estatística ($p > 0,05$) entre eles. O pH urinário varia com a dieta e o equilíbrio ácido-base não um indicador confiável do desequilíbrio sistêmico ácido-base¹⁵, assim como observado neste estudo, pois os cães do G_{IRA} que apresentaram acidose metabólica não tiveram diminuição concomitante do pH urinário nos mesmos momentos. Na IRA o pH da urina é geralmente ácido, embora a presença de infecção bacteriana no trato urinário possa elevar o pH⁵. Neste estudo houve elevação da microbiota bacteriana nos cães que apresentaram diminuição da concentração urinária, o que pode justificar o pH dos animais mais próximos do básico em alguns momentos do G_{IRA} . Em estudo com cães doentes renais crônicos, observou-se resultados diferentes deste estudo onde os cães com DRC apresentaram valores menores de pH em comparação aos cães saudáveis e atribuiu esta alteração ao aumento da secreção de íons H^+ (H^+ e NH_4^+) pelas células tubulares proximais e à diminuição da absorção de bicarbonato pelos túbulos proximais⁴³.

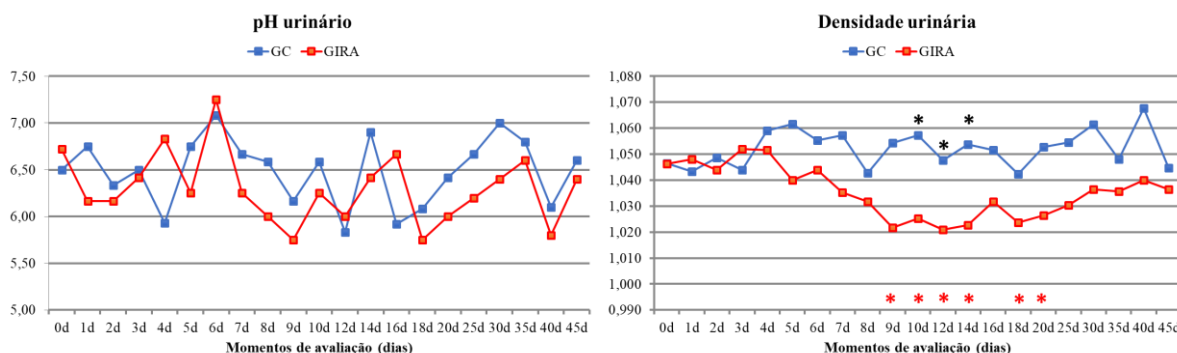


FIGURA 13 – Valores médios pH e densidade urinários de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}). Legenda: * identifica diferenças estatísticas (p<0,05) entre os grupos; * identifica diferença estatísticas (p< 0,05) de valores entre o momento e o momento basal.

3.7.2. Densidade urinária

Os valores médios da densidade urinária (Figura 14) permaneceram acima da faixa de normalidade¹⁵ na maioria dos momentos no G_C. A densidade da urina, na maioria das espécies animais, oscila entre 1,015 e 1,045, podendo ocorrer valores de até 1,080, em situações de ajuste homeostático⁵⁷. Neste estudo, os cães permaneceram em boxes de alvenaria individuais, fato que pode ter contribuído para os cães urinarem com menos frequência e assim contribuir para o aumento da densidade urinária.

Os valores médios do G_{IRA} reduziram ao longo do experimento, pois começaram com valores parecidos com os dos animais do G_C (p>0,05) e diminuíram a partir do M7d. Porém, só no M9d é que essa diferença foi significativa (p<0,05). Comparando os valores médios do G_{IRA} com o G_C, no M10d, M12d e M14d os valores do G_{IRA} foram inferiores (p<0,05). Isto demonstra que a injúria renal induzida provocou uma diminuição na densidade urinária no G_{IRA}. Os valores neste grupo só não foram abaixo da referência porque como relatado no G_C, o ambiente diminuiu a frequência de micção, elevando a concentração da urina e mascarando os resultados.

Três cães (50%) do G_{IRA} apresentaram isostenúria em algum momento do estudo, a partir de M7d, M12d e M14d. Essa alteração é frequentemente observada em cães com IRA⁵, enquanto o aumento da densidade urinária acontece na azotemia de origem pré-renal. Em estudo com cães saudáveis submetidos a aplicações de anfotericina B, um antifúngico com potencial nefrotóxico, observaram como primeira alteração a isostenúria a partir de dois dias da aplicação do fármaco⁵⁶, alterações estas, mais precoces que as observadas neste estudo,

que tiveram início a partir de M6d. Outro estudo com cães com IRA induzida por gentamicina também observaram isostenúria em seis animais (55%) 14 dias após o início da indução¹⁸.

3.7.3. Hemácias e leucócitos urinários

Os valores médios de hemácias e leucócitos urinários estão indicados na Figura 15. Os cães de ambos os grupos apresentaram hematúria. A leucocitúria ocorreu apenas no G_{IRA}, na maioria dos cães, em alguns momentos (83%), sendo mais evidente do M14d até o M40d.

No G_C a hematúria não foi correlacionada com leucocitúria, indicando que a hematúria ocorreu pelo cateterismo. No G_{IRA} a presença de hemácias e leucócitos sugeriram processo inflamatório tubular. A hematúria pode ocorrer na presença de danos glomerulares ou tubulares e a resposta inflamatória desempenha um papel importante na IRA⁵. Na IRA isquêmica a inflamação e o recrutamento de leucócitos ocorrem durante a injúria epitelial e são importantes mediadores de todas as fases da injúria celular, endotelial e tubular⁵⁸.

Resultados semelhantes a este estudo foram observados por outros estudos^{18,30} em cães com IRA induzida por gentamicina que observaram aumento discreto de leucócitos, hemácias e bactérias na fase final da indução no primeiro estudo e a partir do quinto dia de indução no segundo estudo. Apesar de outros autores atribuírem esses achados à infecção do trato urinário baseados na condição de baixa imunocompetência dos cães em decorrência da uremia e à baixa densidade urinária que predispõe o crescimento bacteriano¹⁸, no presente estudo não foi detectado sinais clínicos de febre e dor no ato da micção que sugerissem infecção urinária. Vale ressaltar que não foram realizados cultura e antibiograma da urina nos cães, que contribuiria na confirmação de presença de infecção bacteriana do trato urinário¹⁵. Os cães que apresentaram elevação de leucócitos e hemácias retornaram aos parâmetros normais no final do estudo sem antibioticoterapia.

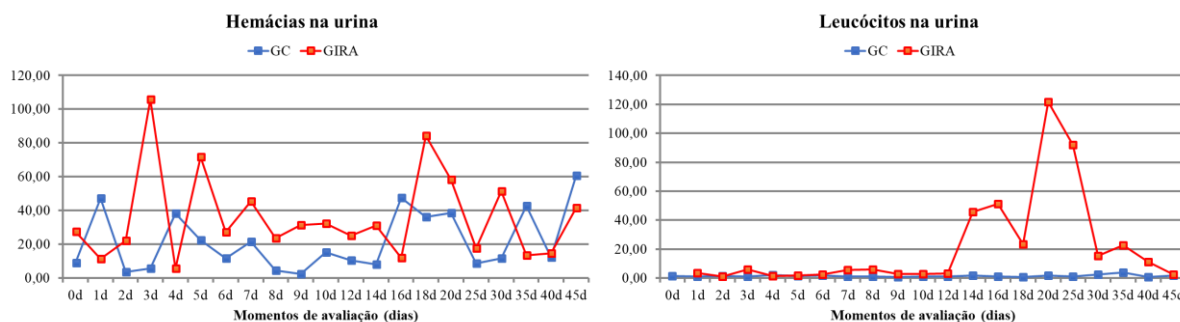


FIGURA 14 – Valores médios de hemácias e leucócitos urinários de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}).

3.7.4. Cilindros e células urinárias

No G_C observou-se cilindros granulosos grossos e finos (Figura 16) cuja quantidade não ultrapassou os limites de normalidade descritos para a espécie canina¹⁵.

No G_{IRA} todos os cães apresentaram cilindrúria em algum momento do estudo com predominância de cilindros granulosos grossos que estavam elevados a partir de M6d até M12d. A cilindrúria acentuada foi observada nos três cães (50%) azotêmicos. Os cães não azotêmicos apresentaram cilindros granulosos grossos em menor intensidade. Os cilindros granulosos finos observados no G_{IRA} estavam dentro da normalidade. Foi observado quantidade normal de cilindros hialinos no G_{IRA} em um cão (16,6%) em M1d, M4d, M14d e M25d e em dois cães em M5. Um cilindro céreo foi observado em um cão (16,6%) no M45d.

No presente estudo 100% dos cães do G_{IRA} tiveram cilindrúria com predominância de cilindros granulosos grossos. Esses resultados diferiram de outro estudo que relatou cilindros urinários em 31% dos cães com IRA, cuja composição era 39% de cilindros granulosos grossos, 39% de cilindros granulosos finos e 22% de cilindros hialinos⁶. Outros autores^{18,28} observaram cilindros granulosos grossos em cães com IRA em maior intensidade a partir de sete dias, intervalo próximo ao encontrado neste estudo. A cilindrúria é comumente relatada na IRA e sua presença correlaciona-se com o agravamento da injúria tubular⁵⁹, corroborando os achados deste estudo, onde a cilindrúria foi maior nos cães com azotemia, sendo mais acentuada ainda no cão que veio à óbito.

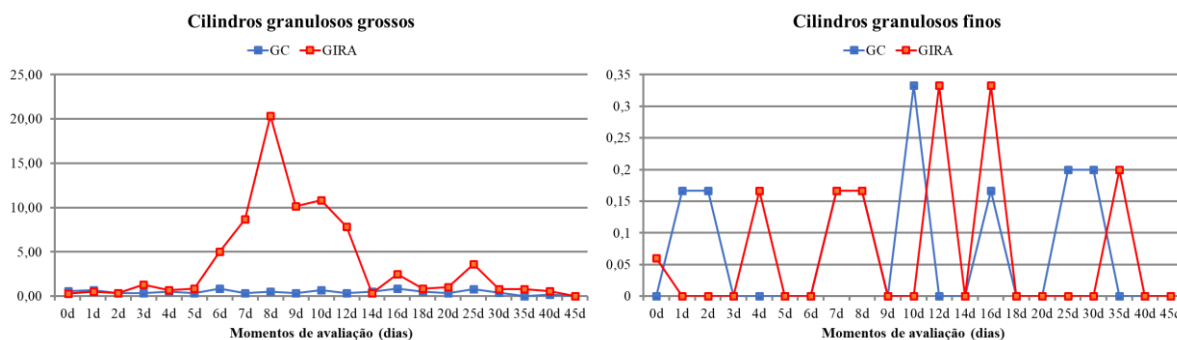


FIGURA 15 – Valores médios de cilindros granulosos grossos e finos de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}).

Em relação à celularidade (Figura 17), as células epiteliais renais foram observadas em quantidades normais no G_C . O G_{IRA} apresentou elevação de células epiteliais renais em 100% dos cães sendo observadas em maior quantidade nos cães com azotemia. As células epiteliais pélvicas (células caudadas) foram observadas em dois cães do G_C em pequenas quantidades em momentos esporádicos. No G_{IRA} ocorreu em quantidades elevadas em um cão azotêmico que apresentou também a maior quantidade de células epiteliais tubulares renais. Em outros quatro cães ocorreram em menor número e de forma esporádica. A presença de células epiteliais renais é observada com maior frequência em pacientes com IRA isquêmica, IRA nefrotóxica ou doença renal degenerativa¹⁵.

As células epiteliais de transição foram observadas em ambos os grupos. Quatro cães do G_C apresentaram elevação de células epiteliais de transição em algum momento do estudo em associação com a hematúria sugerindo inflamação do trato urinário, e ausência de leucocitúria, bacteriúria e pH alcalino. Acredita-se que a causa da inflamação seja o trauma causado pelo cateterismo uretral frequente para a colheita de urina, pois esses cães não possuíam número elevado de leucócitos e bactérias indicativos de infecção bacteriana do trato urinário. O cateterismo uretral possui como desvantagem o aumento do número de hemácias e células epiteliais no sedimento em decorrência do trauma¹⁵. Na maioria dos momentos a frequência das células epiteliais de transição foi semelhante entre os grupos.

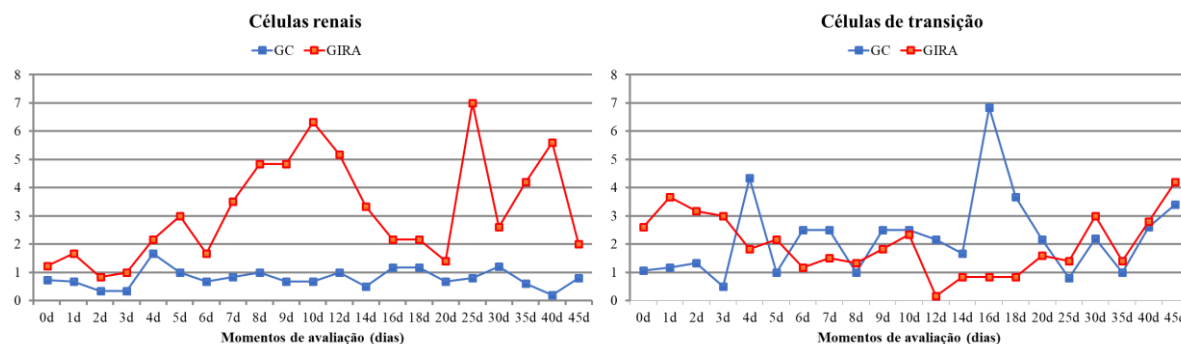


FIGURA 16 – Valores médios de células renais e células transicionais de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (GC) e dos cães do grupo indução renal (GIRA).

3.7.5. Glicosúria

A glicosúria foi observada em 50% dos cães, com início no M8d, M9d e M10d e permaneceu até o momento M16d para um dos cães e M20d para os outros dois cães. A glicosúria leve a moderada pode ser observada na lesão tubular aguda⁵, como observada neste estudo. Um estudo relatou glicosúria em 23% dos cães com IRA⁶, achado também citado por outros autores^{18,30,56}.

4. Conclusões

- A GGtur é a ferramenta diagnóstica mais sensível em detectar injúria renal precoce e as maiores concentrações estão associadas ao maior grau de comprometimento da função renal.
- A excreção fracional de sódio e de potássio são exames sensíveis no diagnóstico precoce da IRA, portanto essas ferramentas devem ser incluídas na rotina clínica veterinária.
- A creatinina e a ureia séricas não são marcadores precoces de injúria renal aguda, elevando-se em cães com disfunção renal moderada e grave.
- A presença de cilindros, células epiteliais renais, glicosúria e diminuição da densidade urinária são as principais alterações encontradas no exame de urina de cães com injúria renal aguda induzida por gentamicina e a ausência ou diminuição destes está relacionada com menor grau de comprometimento renal.
- A proteinúria é um achado comum em cães com injúria renal aguda induzida por gentamicina e sua presença deve ser confrontada com outras alterações do exame de urina a fim de determinar a origem desta alteração.

Referências

1. Singh AP, Muthuraman A, Jaggi AS, Singh N, Grover K, Dhawan R. Animal models of acute renal failure. *Pharmacol Rep.* 2012;64:31-44.
2. Araújo WL. Avaliação da atividade e da estabilidade de GGT urinário de cães hígidos. [Dissertação]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária; 2014.
3. Khan TM, Khan KNM. Acute kidney injury and chronic kidney disease. *Vet Pathol.* 2015;52(3):441-444.
4. International Renal Interest Society (IRIS). Grading of acute kidney injury (2013). [Acesso 10 dez 2016]. Disponível em: www.iris-kidney.com
5. Ross, L. Acute kidney injury in dogs and cats. *Vet Clin Small Anim.* 2011;41(1):1-14.
6. Vaden S, Levine J, Breitschwerdt EB. A retrospective case-control of acute renal failure in 99 dogs. *J Vet Intern Med.* 1997;11(2):58-64.
7. Grauer GF. Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. *Vet Clin Small Anim.* 2005;35:581-96.
8. Dantas AFM, Kommers G D, Hennemann CRA. Intoxicação experimental por gentamicina em cães. *Cienc Rural.* 1997;27(3):451-456.
9. Finco DR. Association of systemic hypertension with renal injury in dogs with induced renal failure. *J Vet Intern Med.* 2004;18:289-294.
10. Fleming SA, Hunt EL, Riviere JE, Anderson KL. Renal “clearance” and fractional excretion of electrolytes over four 6-hour periods in cattle. *Am J Vet Res.* 1991;52(1):5-8.
11. DeSchepper J, De Cock I, Capiiau E. Urinary gamma glutamil transferase and the degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. *Res Vet Sci.* 1989;46:396-400
12. Braun JP; Perxachs A; Pechereau D; De La Farge F. Plasma cystatin C in the dog: reference values and variations with renal failure. *Comp Clin Path.* 2002;11:44-49.
13. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical biochemistry of domestic animals. 7th ed. San Diego: Academic Press, 2008. 912p.
14. Heyman SN, Lieberthal W, Rogiers P, Bonventre JV. Animal models of acute tubular necrosis. *Curr Opin Crit Care.* 2002;8:526–534.

15. Chew DJ, Dibartola SP, Schenck PA. Canine and feline nephrology and urology. 2nd ed. St Louis: Elsevier Saunders; 2011. 526p.
16. Sasaki A, Sasaki Y, Iwama R, Shimamura S, Yabe K, Takasuna K, Ichijo T, Furuhashi K, Satoh H. Comparison of renal biomarkers with glomerular filtration rate in susceptibility to the detection of gentamicin-induced acute kidney injury in dogs. *J Comp Path.* 2014;151:264-70.
17. McLeland SM, Lunn KF, Duncan CG, Refsal KR, Quimby JM. Relationship among serum creatinine, serum gastrin, calcium phosphorus product, and uremic gastropathy in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med.* 2014;28:827–837.
18. Hennemann CRA, Silva C F, Schoenau W, Kommers GD, Polydoro AS, Leitzke MRM. Atividade da gama glutamil transferase urinária, dosagens séricas de uréia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeo em cães. *Cien Rural*, 1997; 27:237–244.
19. 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. *J Vet Intern Med.* 2007;21:542–558.
20. Geigy CA, Schweighauser A, Doherr M, Francey T. Occurrence of systemic hypertension in dogs with acute kidney injury and treatment with amlodipine besylate. *J Small Anim Pract.* 2011;52:340–346.
21. Jain, N.C. Essentials of veterinary hematology. Pennsylvania: Lea & Febiger. 1993. 417p.
22. Oliveira I, Girão MJBC, Sampaio MU, Oliva MLV, Andrad SS. Plaquetas: Papéis tradicionais e não tradicionais na hemostasia, na inflamação e no câncer. *ABCS Health Sci.* 2013; 38(3):153-161.
23. Oliveira JFP, Cipullo JP, Burdmann EA. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos. *Braz J Cardiovasc Surg.* 2006; 21(4): 444-452.
24. Myott, M.; Langston, C. Differentiating between acute and chronic kidney disease. *Vet Med.* 2011;106(6):295-304.
25. Trall MA. Hematologia e Bioquímica Veterinária. São Paulo: Roca, 2006. 582p.
26. Schalm OW. Plasma protein: fibrinogen ratios in disease in the dog and horse - Part II. *The California Veterinarian.* 1970;24(4):19-22.
27. Vecina JF, Patrício RF, Ciarlini PC. Importância do fibrinogênio plasmático na identificação de processos inflamatórios de cães. *Cienc Vet Trop.* 2006;9(1):31-35.

28. Ferreira RP. Função renal de cães adultos saudáveis alimentados com diferentes teores de proteína bruta. [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia; 2006
29. Médaille C, Trumel C, Concordet D, Vergez F, Braun JP. Comparison of plasma/serum urea and creatinine concentrations in the dog: a 5-year retrospective study in a commercial veterinary clinical pathology laboratory. *J Vet Med*. 2004; 51:119-123.
30. Melchert A, Laposy CB, Motta YP, Garcia ACFZ. Gama glutamil transferase urinária como indicador de insuficiência renal aguda induzida por gentamicina em cães. *Arq Ciênc Vet Zool*. 2007;10(2):111-16.
31. Lefebvre HP, Watson ADJ, Heiene R. Interpreting blood creatinine concentration in dogs [online]. 2015. [acesso 10 out 2016]. Disponível em: http://www.iris-kidney.com/education/creatinine_dogs.html.
32. Queiroz LL. Abordagem diagnóstica e terapêutica de cães com doença renal crônica com ênfase na hiperfosfatemia. [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia; 2015.
33. Behrend EN, Grauer GF, Mani I, Groman RP, Salman MD, Greco DS. Hospital-acquired acute renal failure in dogs: 29 cases (1983-1992). *J Am Vet Med Assoc*. 1996;208(4):537-541.
34. Geist M, Langston C. Laboratory evaluation of kidney disease. *Vet. Med*. 2011;106(5):242-249.
35. Vaden, S. Glomerular disease. *Topics Comp Anim Med*. 2011;26(3):128-134.
36. Klosterman ES, Pressler BM. Nephrotic syndrome in dogs: clinical features and evidence-based treatment considerations. *Top Companion Anim Med*. 2011;26(3):135-142.
37. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. Schalm's veterinary hematology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. 1344p.
38. Kataoka A, Santana AE, Seki MC. Alterações do proteinograma sérico em cães naturalmente infectados por *Ehrlichia canis*. *Ars Vet*. 2006;22(2):98-102.
39. Jain S, Gautam V, Naseem S. Acute-phase proteins: as diagnostic tool. *J Pharm Bioall Sci*. 2011;3:118-127.
40. Wiedermann CJ, Wiedermann W, Joannidis M. Hypoalbuminemia and acute kidney injury: a meta-analysis of observational clinical studies. *Intensive Care Med*. 2010; 36:1657-1665.
41. Naoum PC. Eletroforese: técnicas e diagnósticos. 2a ed. São Paulo: Livraria Santos Editora; 1999. 212 p.

42. Carneiro LFR. Proteínas de fase aguda em cães com diferentes escores corporais. [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária; 2013.
43. Souza SN. Aplicação dos exames complementares no diagnóstico da insuficiência renal crônica em cães. [Dissertação] Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia; 2011.
44. Langston, C. Managing fluid and electrolyte disorders in renal failure. *Vet Clin Small Anim.* 2008;38:677–697.
45. Da Costa, JAC; Vieira-Neto, OM; Neto, MM. Insuficiência renal aguda. *Rev Med.* 2003;36(2):307-324.
46. Polzin DJ, Osborne CA, Ross S. Chronic Kidney Disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC, editors. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 6th edition. St Louis: Elsevier Saunders; 2005. p.1756-85.
47. Silva PTD, Kogika MM, Coelho BMP, Wirthl VABF, Monteiro PRG, Hagiwara MK. Avaliação dos valores plasmáticos de amônia em cães com insuficiência renal em síndrome urêmica. *Ars Vet.* 2005;21(Supl)116-120.
48. Grauer GF. Measurement and interpretation of proteinuria and albuminuria [online] 2013. [Citado 21 jul 2016]. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com/education/proteinuria.html>.
49. Carvalho JAM. Avaliação da atividade urinária das enzimas gama glutamil transferase e fosfatase alcalina para a detecção da nefropatia em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. [Dissertação]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria. Centro de Ciências da Saúde, 2011.
50. Menezes LB, Fioravanti MCS, Silva MSB, Franco LG, Sales TP, Andrascko MM, Veado JCC, Araújo EG. Avaliação do efeito da clorpromazina sobre a função renal de cães submetidos à isquemia e reperfusão. *Pesq. Vet. Bras.* 2010;30(2):108-114.
51. Rivers BJ, Walter PA, O'brien TD, King VL, Polzin DJ. Evaluation of urine gamma-glutamyl transpeptidase to-creatinine ratio as a diagnostic tool in an experimental model of aminoglycoside-induced acute renal failure in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1996;32:323-336.
52. Heiene R, Biewenga WJ, Koeman PTT. Urinary alkaline phosphatase and gama glutamyl transferase as indicators of acute renal damage in dogs. *J Small Anim Pract.* 1991;32:521-24.
53. Vaidya VS, Ferguson MA, Bonventre JV. Biomarkers of acute kidney injury. *Annual Vet Pharmacol Toxicol.* 2008;48:463–493.
54. De Loor J, Daminet S, Smets P, Maddens B, Meyer E. Urinary biomarkers for acute kidney injury in dogs. *J Vet Intern Med.* 2013;27:998-1010.

55. Waldrop, JE. Urinary electrolytes, solutes and osmolality. *Vet Clin Small Anim.* 2008;38:503–512.
56. Santin F, Moutinho FQ, Amaral AS, Takahira RK. Acompanhamento laboratorial da função renal de cães sadios tratados experimentalmente com doses terapêuticas de anfotericina B. *Cien Rural*, 2006;36(6):1816-23.
57. Finco DR. Kidney function. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5nd ed. San Diego: Academic Press; 1997. p. 441-484.
58. Sharfuddin AA, Molitoris BA. Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol.* 2011;7:189-200.
59. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute kidney injury. *The Lancet.* 2012;380:756-766.

Anexos

TABELA 1 – Valores médios e desvio padrão dos valores de pressão arterial sistólica (PAS) de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

PAS (mmHg)		
M	G _C	G _{IRA}
0	94,07±13,32 ^{Aa}	100,56±9,47 ^{Aa}
1d	101,56±22,27 ^{Aa}	102,44±11,76 ^{Aa}
2d	94,44±22,32 ^{Aa}	100,00±14,85 ^{Aa}
3d	90,89±10,63 ^{Aa}	87,67±13,30 ^{Aa}
4d	90,33±13,74 ^{Aa}	103,00±16,84 ^{Aa}
5d	100,89±11,22 ^{Aa}	107,89±17,13 ^{Aa}
6d	93,78±17,07 ^{Aa}	93,89±10,73 ^{Aa}
7d	92,44±7,59 ^{Aa}	107,22±21,12 ^{Aa}
8d	89,56±14,11 ^{Aa}	103,56±16,34 ^{Aa}
9d	94,67±16,77 ^{Aa}	104,94±21,21 ^{Aa}
10d	92,67±11,84 ^{Aa}	101,22±13,55 ^{Aa}
12d	83,33±14,34 ^{Aa}	104,67±25,43 ^{Aa}
14d	89,83±10,56 ^{Aa}	106,67±19,29 ^{Aa}
16d	90,78±19,18 ^{Aa}	107,11±27,04 ^{Aa}
18d	99,22±13,84 ^{Aa}	96,13±14,56 ^{Aa}
20d	91,44±9,05 ^{Aa}	112,67±32,18 ^{Aa}
25d	91,67±12,86 ^{Aa}	91,07±9,69 ^{Aa}
30d	89,60±12,21 ^{Aa}	99,80±27,18 ^{Aa}
35d	90,93±16,06 ^{Aa}	99,47±23,31 ^{Aa}
40d	89,22±13,25 ^{Aa}	86,93±14,45 ^{Aa}
45d	92,40±18,25 ^{Aa}	90,00±10,91 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).
 Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).
 Momentos: 0 – parâmetros basais, 1d a 10d – indução da lesão renal, 12d a 45d – regressão da lesão renal

TABELA 2 – Valores médios e desvio padrão dos valores de hemácias, hemoglobina, hematócrito e plaquetas de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

M	Hemácias (10 ⁶ /μL)		Hemoglobina (g/dL)		Hematócrito (%)		Plaquetas (10 ³ /μL)	
	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}
0	5,85±0,90 ^{Aa}	5,82±0,64 ^{Aa}	13,52±2,22 ^{Aa}	13,68±1,40 ^{Aa}	40,31±5,21 ^{Aa}	40,56±3,53 ^{Aa}	280,06±139,83 ^{Aa}	305,50±109,47 ^{Aa}
1	5,50±0,79 ^{Aa}	5,73±0,77 ^{Aa}	12,58±2,08 ^{Aa}	13,37±1,84 ^{Aa}	38,53±4,58 ^{Aa}	40,38±4,58 ^{Aa}	245,33±149,54 ^{Aa}	231,33±142,66 ^{Aa}
2	5,36±0,75 ^{Aa}	5,52±0,52 ^{Aa}	12,47±1,90 ^{Aa}	12,85±1,31 ^{Aa}	36,87±4,50 ^{Aa}	38,55±3,79 ^{Aa}	217,83±117,67 ^{Aa}	267,67±143,17 ^{Aa}
3	5,45±0,76 ^{Aa}	5,66±0,71 ^{Aa}	12,50±1,87 ^{Aa}	13,13±1,85 ^{Aa}	37,90±4,13 ^{Aa}	39,67±5,14 ^{Aa}	231,50±118,28 ^{Aa}	319,50±153,58 ^{Aa}
4	5,27±0,63 ^{Aa}	5,41±0,81 ^{Aa}	11,83±1,74 ^{Aa}	12,63±1,89 ^{Aa}	35,75±3,65 ^{Aa}	37,98±5,07 ^{Aa}	248,17±114,92 ^{Aa}	289,33±139,74 ^{Aa}
5	5,16±0,96 ^{Aa}	5,65±0,37 ^{Aa}	11,67±2,31 ^{Aa}	13,38±0,97 ^{Aa}	35,43±5,53 ^{Aa}	39,68±2,99 ^{Aa}	242,50±127,01 ^{Aa}	367,67±129,67 ^{Aa}
6	5,17±0,92 ^{Aa}	5,45±0,55 ^{Aa}	15,93±9,80 ^{Aa}	12,65±0,80 ^{Aa}	31,67±11,38 ^{Aa}	37,95±2,23 ^{Aa}	211,83±99,95 ^{Aa}	363,50±116,22 ^{Ba}
7	5,47±1,12 ^{Aa}	5,94±0,56 ^{Aa}	12,10±2,31 ^{Aa}	13,68±1,40 ^{Aa}	37,18±5,68 ^{Aa}	42,08±5,18 ^{Aa}	236,33±114,60 ^{Aa}	340,50±151,39 ^{Aa}
8	5,17±0,79 ^{Aa}	5,31±0,38 ^{Aa}	11,67±1,58 ^{Aa}	12,27±1,12 ^{Aa}	37,25±5,75 ^{Aa}	41,48±6,44 ^{Aa}	214,00±100,18 ^{Aa}	352,50±150,95 ^{Aa}
9	5,21±0,75 ^{Aa}	5,36±0,38 ^{Aa}	11,93±1,47 ^{Aa}	12,52±1,14 ^{Aa}	37,58±5,87 ^{Aa}	39,08±3,29 ^{Aa}	249,33±110,43 ^{Aa}	373,00±128,17 ^{Aa}
10	4,92±0,61 ^{Aa}	5,23±0,43 ^{Aa}	11,30±1,52 ^{Aa}	12,07±1,35 ^{Aa}	35,37±5,22 ^{Aa}	38,07±3,32 ^{Aa}	259,50±129,92 ^{Aa}	354,67±153,87 ^{Aa}
11	4,75±0,87 ^{Aa}	5,08±0,62 ^{Aa}	10,87±2,28 ^{Aa}	11,87±1,52 ^{Aa}	33,87±6,75 ^{Aa}	37,18±5,58 ^{Aa}	235,00±86,01 ^{Aa}	364,00±139,40 ^{Aa}
12	5,46±0,72 ^{Aa}	5,15±0,47 ^{Aa}	12,75±2,11 ^{Aa}	12,32±0,81 ^{Aa}	39,67±5,74 ^{Aa}	37,72±2,95 ^{Aa}	290,00±93,29 ^{Aa}	376,83±130,68 ^{Aa}
13	5,07±0,44 ^{Aa}	5,46±0,22 ^{Aa}	11,88±1,30 ^{Aa}	13,07±0,88 ^{Aa}	36,38±3,49 ^{Aa}	39,90±2,12 ^{Aa}	256,17±94,42 ^{Aa}	371,83±133,11 ^{Aa}
14	5,34±0,61 ^{Aa}	5,86±0,72 ^{Aa}	12,18±1,30 ^{Aa}	13,73±2,45 ^{Aa}	38,78±5,26 ^{Aa}	43,28±6,37 ^{Aa}	302,33±72,02 ^{Aa}	358,17±131,57 ^{Aa}
15	5,19±0,46 ^{Aa}	5,29±0,62 ^{Aa}	12,02±1,36 ^{Aa}	12,36±1,71 ^{Aa}	37,03±3,50 ^{Aa}	38,10±5,13 ^{Aa}	271,00±59,94 ^{Aa}	360,60±100,13 ^{Aa}
16	5,58±0,40 ^{Aa}	5,81±0,36 ^{Aa}	12,62±1,05 ^{Aa}	13,54±0,88 ^{Aa}	39,63±2,75 ^{Aa}	41,36±3,04 ^{Aa}	277,67±126,23 ^{Aa}	452,00±71,30 ^{Ba}
17	5,60±0,45 ^{Aa}	5,64±0,56 ^{Aa}	13,00±0,97 ^{Aa}	13,30±1,69 ^{Aa}	40,38±3,03 ^{Aa}	40,94±5,20 ^{Aa}	264,83±130,68 ^{Aa}	415,60±84,11 ^{Ba}
18	5,61±0,42 ^{Aa}	5,40±0,47 ^{Aa}	13,43±1,31 ^{Aa}	12,80±1,30 ^{Aa}	40,35±2,22 ^{Aa}	39,00±3,74 ^{Aa}	281,00±108,90 ^{Aa}	442,60±110,04 ^{Ba}
19	5,80±0,16 ^{Aa}	5,74±0,63 ^{Aa}	13,33±1,27 ^{Aa}	13,48±1,82 ^{Aa}	41,35±2,50 ^{Aa}	41,34±4,80 ^{Aa}	305,67±173,98 ^{Aa}	365,80±72,23 ^{Aa}
20	5,89±0,45 ^{Aa}	5,74±0,96 ^{Aa}	13,38±1,08 ^{Aa}	13,54±2,12 ^{Aa}	41,22±2,94 ^{Aa}	40,98±6,54 ^{Aa}	232,89±139,58 ^{Aa}	364,00±97,71 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 3 – Valores médios e desvio padrão dos valores absolutos médios e desvio padrão de leucócitos totais, bastonetes, segmentados, eosinófilos, linfócitos e monócitos de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

M	Leucócitos Totais (10 ³ /μL)		Bastonetes (/μL)		Segmentados (/μL)		Eosinófilos (/μL)		Linfócitos (/μL)		Monócitos (/μL)	
	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}
0	10561±3385 ^{Aa}	8617±2600 ^{Aa}	25±49	16±18	7194±3123 ^{Aa}	5465±1892 ^{Aa}	644±629 ^{Aa}	714±457 ^{Aa}	1692±792 ^{Aa}	1567±585 ^{Aa}	932±412 ^{Aa}	838±474 ^{Aa}
1	7250±1914 ^{Aa}	7250±3002 ^{Aa}	45±38	8±20	4394±1269 ^{Aa}	4071±1930 ^{Aa}	414±779 ^{Aa}	672±739 ^{Aa}	1488±820 ^{Aa}	1566±701 ^{Aa}	841±568 ^{Aa}	933±1048 ^{Aa}
2	7700±2523 ^{Aa}	8083±2046 ^{Aa}	28±44	24±39	4247±1872 ^{Aa}	4441±1795 ^{Aa}	790,83±708 ^{Aa}	977±496 ^{Aa}	1871±763 ^{Aa}	1643±904 ^{Aa}	748±761 ^{Aa}	998±923 ^{Aa}
3	7217±1181 ^{Aa}	8067±2396 ^{Aa}	49±78	18±28	4260±1353 ^{Aa}	5315±2064 ^{Aa}	519±572 ^{Aa}	566±396 ^{Aa}	1649±641 ^{Aa}	1482±648 ^{Aa}	740±485 ^{Aa}	686±642 ^{Aa}
4	6767±2220 ^{Aa}	8500±1872 ^{Aa}	29±46	17±42	4094±1840 ^{Aa}	5068±884 ^{Aa}	574±212 ^{Aa}	1134±1566 ^{Aa}	1538±661 ^{Aa}	1783±1381 ^{Aa}	533±297 ^{Aa}	498±369 ^{Aa}
5	6650±2437 ^{Aa}	9967±1850 ^{Ba}	4±11	47±73	4086±1735 ^{Aa}	6118±978 ^{Ba}	390±206 ^{Aa}	1156±988 ^{Aa}	1730±1520 ^{Aa}	1980±998 ^{Aa}	440±306 ^{Aa}	668±207 ^{Aa}
6	7600±769 ^{Aa}	9133±1853 ^{Aa}	37±41	20±48	4828±943 ^{Aa}	5844±1338 ^{Aa}	653±221 ^{Aa}	1022±624 ^{Aa}	1509±664 ^{Aa}	1697±961 ^{Aa}	523±191 ^{Aa}	572±346 ^{Aa}
7	7650±2177 ^{Aa}	10367±2866 ^{Aa}	18±29	69±79	5040±1490 ^{Aa}	6983±1408 ^{Ba}	750±642 ^{Aa}	1029±991 ^{Aa}	1367±504 ^{Aa}	1630±1040 ^{Aa}	475±387 ^{Aa}	656±301 ^{Aa}
8	8167±1981 ^{Aa}	9517±2071 ^{Aa}	0±0	32±53	5398±1611 ^{Aa}	5855±1762 ^{Aa}	611±403 ^{Aa}	1359±843 ^{Aa}	1598±632 ^{Aa}	1810±1407 ^{Aa}	560±249 ^{Aa}	461±142 ^{Aa}
9	9133±1395 ^{Aa}	9500±2107 ^{Aa}	51±87	30±73	5279±1241 ^{Aa}	6630±1479 ^{Aa}	966±518 ^{Aa}	1004±698 ^{Aa}	2158±1021 ^{Aa}	1196±662 ^{Aa}	645±370 ^{Aa}	641±456 ^{Aa}
10	8033±1337 ^{Aa}	8983±2966 ^{Aa}	47±53	48±59	5389±760 ^{Aa}	6177±1664 ^{Aa}	783±605 ^{Aa}	925±773 ^{Aa}	1191±609 ^{Aa}	1151±724 ^{Aa}	592±212 ^{Aa}	683±156 ^{Aa}
11	6800±994 ^{Aa}	8933±2923 ^{Aa}	58±44	26±52	3884±517 ^{Aa}	7558±4228 ^{Ba}	550±590 ^{Aa}	538±575 ^{Aa}	1542±372 ^{Aa}	1239±1471 ^{Aa}	302±115 ^{Aa}	464±286 ^{Aa}
12	7467±771 ^{Aa}	10533±3455 ^{Aa}	36±39	27±43	4960±939 ^{Aa}	8140±3615 ^{Aa}	560±476 ^{Aa}	743±560 ^{Aa}	1414±958 ^{Aa}	890±731 ^{Aa}	497±235 ^{Aa}	733±241 ^{Aa}
13	8317±2815 ^{Aa}	11783±4003 ^{Aa}	44±55	64±72	5210±2096 ^{Aa}	9076±3778 ^{Aa}	720±466 ^{Aa}	415±543 ^{Aa}	1830±1019 ^{Aa}	1197±705 ^{Aa}	513±233 ^{Aa}	1032±582 ^{Aa}
14	8983±2606 ^{Aa}	10167±2938 ^{Aa}	107±147	20±49	5290±1618 ^{Aa}	7582±3017 ^{Aa}	959±703 ^{Aa}	468±394 ^{Aa}	2062±1092 ^{Aa}	991±729 ^{Aa}	566±190 ^{Aa}	1105±599 ^{Aa}
15	9467±3563 ^{Aa}	9400±4381 ^{Aa}	20±48	44±99	5683±2451 ^{Aa}	7309±4410 ^{Aa}	985±1604 ^{Aa}	566±813 ^{Aa}	2089±1322 ^{Aa}	1004±526 ^{Aa}	666±203 ^{Aa}	477±342 ^{Aa}
16	7283±2027 ^{Aa}	11360±6012 ^{Aa}	20±32	123±158	3825±1416 ^{Aa}	6848±3221 ^{Aa}	662±489 ^{Aa}	1564±1877 ^{Aa}	2360±1556 ^{Aa}	2092±1363 ^{Aa}	417±205 ^{Aa}	732±268 ^{Aa}
17	8000±1758 ^{Aa}	8900±2444 ^{Aa}	41±47	27±37	4863±1461 ^{Aa}	6237±1690 ^{Aa}	556±446 ^{Aa}	1074±1196 ^{Aa}	1971±1218 ^{Aa}	980±582 ^{Aa}	569±223 ^{Aa}	560±254 ^{Aa}
18	8100±1559 ^{Aa}	9200±1685 ^{Aa}	27±44	49±68	5286±1013 ^{Aa}	5469±824 ^{Aa}	519±329 ^{Aa}	1500±1261 ^{Aa}	1761±640 ^{Aa}	1765±975 ^{Aa}	483±235 ^{Aa}	404±147 ^{Aa}
19	8783±1713 ^{Aa}	6920±2408 ^{Aa}	10±25	30±45	4825±929 ^{Aa}	4026±1423 ^{Aa}	671±312 ^{Aa}	1098±712 ^{Aa}	2742±1104 ^{Aa}	1500±646 ^{Ba}	536±185 ^{Aa}	287±85 ^{Ba}
20	8350±1477 ^{Aa}	7600±2416 ^{Aa}	48±52	12±28	4952±434 ^{Aa}	4946±1554 ^{Aa}	1059±530 ^{Aa}	919±530 ^{Aa}	1736±697 ^{Aa}	1356±785 ^{Aa}	545±283 ^{Aa}	348±176 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 4 – Valores médios e desvio padrão dos valores de fibrinogênio de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

Fibrinogênio (mg/dL)		
M	G _C	G _{IRA}
0	173,24±88,58 ^{Aa}	153,80±34,84 ^{Aa}
1	149,75±134,78 ^{Aa}	149,37±178,75 ^{Aa}
2	204,07±83,18 ^{Aa}	171,07±73,72 ^{Aa}
3	231,30±99,15 ^{Aa}	163,92±50,99 ^{Aa}
4	108,53±61,82 ^{Aa}	132,95±105,00 ^{Aa}
5	148,93±94,58 ^{Aa}	137,60±113,90 ^{Aa}
6	214,12±185,52 ^{Aa}	99,00±61,16 ^{Aa}
7	174,95±88,15 ^{Aa}	107,45±78,58 ^{Aa}
8	173,80±115,01 ^{Aa}	198,03±112,79 ^{Aa}
9	175,44±177,64 ^{Aa}	141,77±107,17 ^{Aa}
10	114,80±53,92 ^{Aa}	143,63±91,41 ^{Aa}
11	188,00±119,29 ^{Aa}	156,30±91,16 ^{Aa}
12	123,23±72,66 ^{Aa}	199,20±109,57 ^{Aa}
13	252,35±193,38 ^{Aa}	423,57±197,99 ^{Aa}
14	134,88±50,36 ^{Aa}	232,93±163,04 ^{Aa}
15	158,35±59,74 ^{Aa}	381,62±314,74 ^{Aa}
16	167,48±52,96 ^{Aa}	203,86±68,07 ^{Aa}
17	159,40±87,64 ^{Aa}	148,70±21,95 ^{Aa}
18	148,22±44,41 ^{Aa}	141,36±28,14 ^{Aa}
19	153,30±108,25 ^{Aa}	103,32±73,16 ^{Aa}
20	152,83±102,22 ^{Aa}	102,00±74,28 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 5 – Valores médios e desvio padrão dos valores séricos de creatinina, ureia, cálcio, fósforo e colesterol de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

	Creatinina (mg/dL)		Ureia (mg/dL)		Cálcio (mg/dL)		Fósforo (mg/dL)		Colesterol (mg/dL)	
M	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}
0	0,86±0,09 ^{Aa}	0,86±0,13 ^{Aa}	35,77±3,64 ^{Aa}	34,27±5,77 ^{Aa}	9,46±0,52 ^{Aa}	8,67±0,69 ^{Aa}	5,11±1,48 ^{Aa}	3,79±0,24 ^{Aa}	207,83±28,80 ^{Aa}	157,33±49,76 ^{Aa}
1	0,83±0,12 ^{Aa}	0,82±0,06 ^{Aa}	35,32±7,11 ^{Aa}	36,45±6,09 ^{Aa}	9,29±0,83 ^{Aa}	8,72±0,39 ^{Aa}	5,08±1,68 ^{Aa}	4,11±0,45 ^{Aa}	207,82±31,51 ^{Aa}	150,87±50,61 ^{Aa}
2	0,79±0,07 ^{Aa}	0,91±0,14 ^{Aa}	40,01±11,33 ^{Aa}	40,01±5,58 ^{Aa}	9,58±0,64 ^{Aa}	9,43±0,93 ^{Aa}	5,23±1,62 ^{Aa}	4,69±0,56 ^{Aa}	191,98±24,97 ^{Aa}	148,37±41,96 ^{Aa}
3	0,72±0,14 ^{Aa}	0,89±0,11 ^{Ba}	35,15±8,37 ^{Aa}	32,34±3,48 ^{Aa}	9,80±0,71 ^{Aa}	9,17±0,46 ^{Aa}	5,22±1,68 ^{Aa}	4,28±0,36 ^{Aa}	190,25±30,07 ^{Aa}	139,18±46,13 ^{Aa}
4	0,77±0,11 ^{Aa}	0,93±0,24 ^{Aa}	35,89±6,09 ^{Aa}	40,46±8,18 ^{Aa}	9,38±0,81 ^{Aa}	8,81±1,29 ^{Aa}	5,17±1,21 ^{Aa}	4,33±0,85 ^{Aa}	187,05±21,83 ^{Aa}	148,88±44,01 ^{Aa}
5	0,86±0,15 ^{Aa}	1,11±14,63 ^{Bb}	39,11±3,40 ^{Aa}	28,35±24,76 ^{Aa}	10,00±0,44 ^{Aa}	9,76±0,19 ^{Ab}	5,37±1,58 ^{Aa}	4,77±0,71 ^{Aa}	207,57±28,58 ^{Aa}	183,46±53,26 ^{Aa}
6	0,82±0,24 ^{Aa}	1,04±0,13 ^{Aa}	36,42±12,91 ^{Aa}	37,87±11,11 ^{Aa}	9,03±3,12 ^{Aa}	8,21±0,77 ^{Aa}	5,13±2,37 ^{Aa}	4,45±0,93 ^{Aa}	186,15±47,12 ^{Aa}	145,77±35,86 ^{Aa}
7	0,91±0,12 ^{Aa}	1,12±0,44 ^{Aa}	48,12±11,86 ^{Aa}	39,10±13,50 ^{Aa}	10,41±1,11 ^{Aa}	9,80±0,57 ^{Ab}	5,98±1,88 ^{Aa}	4,15±0,80 ^{Aa}	211,50±13,13 ^{Aa}	159,20±72,29 ^{Aa}
8	0,96±0,26 ^{Aa}	1,60±0,93 ^{Bb}	38,3±15,09 ^{Aa}	42,91±15,23 ^{Aa}	9,32±0,82 ^{Aa}	10,10±0,69 ^{Ab}	5,32±1,56 ^{Aa}	4,52±0,85 ^{Aa}	200,57±21,79 ^{Aa}	124,07±78,40 ^{Aa}
9	0,83±0,09 ^{Aa}	2,38±1,79 ^{Bb}	36,07±4,77 ^{Aa}	52,11±32,64 ^{Aa}	9,05±0,73 ^{Aa}	9,34±1,29 ^{Aa}	5,15±1,26 ^{Aa}	5,19±1,42 ^{Aa}	184,30±29,73 ^{Aa}	154,56±52,00 ^{Aa}
10	0,76±0,13 ^{Aa}	3,50±3,25 ^{Bb}	33,34±5,07 ^{Aa}	72,27±63,06 ^{Aa}	8,84±0,88 ^{Aa}	9,87±1,41 ^{Ab}	4,87±1,76 ^{Aa}	6,11±3,22 ^{Aa}	178,30±26,11 ^{Aa}	153,68±42,14 ^{Aa}
11	0,87±0,14 ^{Aa}	5,81±5,70 ^{Bb}	34,83±6,69 ^{Aa}	93,12±86,18 ^{Aa}	8,97±0,49 ^{Aa}	9,81±1,94 ^{Aa}	5,02±1,43 ^{Aa}	7,90±4,83 ^{Aa}	177,67±17,77 ^{Aa}	146,55±36,14 ^{Aa}
12	0,87±0,15 ^{Aa}	5,65±5,43 ^{Ab}	42,97±9,55 ^{Aa}	107,52±91,42 ^{Aa}	10,58±0,56 ^{Aa}	9,91±0,73 ^{Ab}	5,68±1,39 ^{Aa}	7,37±4,41 ^{Aa}	166,88±28,28 ^{Aa}	138,72±19,28 ^{Aa}
13	0,76±0,08 ^{Aa}	3,10±3,49 ^{Bb}	33,95±8,71 ^{Aa}	132,06±152,83 ^{Aa}	9,69±1,55 ^{Aa}	8,90±0,66 ^{Aa}	5,25±1,77 ^{Aa}	6,80±4,58 ^{Aa}	197,40±22,73 ^{Aa}	184,88±42,63 ^{Aa}
14	0,83±0,11 ^{Aa}	5,05±5,31 ^{Bb}	38,86±4,49 ^{Aa}	143,77±178,77 ^{Aa}	9,14±1,03 ^{Aa}	8,33±0,59 ^{Aa}	5,15±1,34 ^{Aa}	8,51±8,86 ^{Aa}	216,02±33,27 ^{Aa}	216,90±56,75 ^{Aa}
15	0,85±0,10 ^{Aa}	2,10±1,81 ^{Aa}	34,93±5,36 ^{Aa}	53,91±34,74 ^{Aa}	9,76±0,89 ^{Aa}	8,71±0,91 ^{Aa}	5,14±1,71 ^{Aa}	4,01±0,99 ^{Aa}	194,85±33,94 ^{Aa}	176,74±51,35 ^{Aa}
16	0,82±0,13 ^{Aa}	1,88±1,43 ^{Aa}	37,62±5,78 ^{Aa}	84,77±81,62 ^{Aa}	9,40±1,08 ^{Aa}	9,36±1,52 ^{Aa}	5,34±1,84 ^{Aa}	6,06±2,09 ^{Aa}	155,35±29,28 ^{Aa}	159,80±67,72 ^{Aa}
17	0,91±0,05 ^{Aa}	1,71±1,06 ^{Aa}	36,21±7,43 ^{Aa}	65,86±54,22 ^{Aa}	9,78±0,59 ^{Aa}	9,92±0,75 ^{Aa}	5,09±1,60 ^{Aa}	4,52±0,76 ^{Aa}	193,57±44,77 ^{Aa}	192,40±52,47 ^{Aa}
18	0,89±0,14 ^{Aa}	1,42±0,75 ^{Aa}	43,70±7,49 ^{Aa}	52,48±19,48 ^{Aa}	10,11±0,66 ^{Aa}	9,58±0,77 ^{Aa}	5,54±1,56 ^{Aa}	4,46±0,81 ^{Aa}	197,35±46,83 ^{Aa}	177,50±43,78 ^{Aa}
19	0,85±0,11 ^{Aa}	1,21±0,43 ^{Aa}	37,54±5,63 ^{Aa}	45,26±14,08 ^{Aa}	10,41±0,47 ^{Aa}	10,26±0,74 ^{Aa}	5,91±1,35 ^{Aa}	4,69±0,71 ^{Aa}	211,98±38,04 ^{Aa}	198,26±60,13 ^{Aa}
20	0,78±0,11 ^{Aa}	1,06±0,41 ^{Aa}	36,72±8,33 ^{Aa}	51,19±20,57 ^{Aa}	9,69±0,99 ^{Aa}	9,52±0,58 ^{Aa}	4,94±1,07 ^{Aa}	4,10±0,59 ^{Aa}	191,92±35,36 ^{Aa}	185,30±70,01 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 6 – Valores médios e desvio padrão dos valores séricos de proteínas totais, albumina e globulinas de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

M	Proteínas Totais (g/dL)		Albumina(g/dL)		Globulinas(g/dL)	
	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}
0	7,32±0,73 ^{Aa}	7,61±0,99 ^{Aa}	3,39±0,46 ^{Aa}	3,06±0,39 ^{Aa}	3,93±1,06 ^{Aa}	4,55±1,17 ^{Aa}
1	7,44±0,63 ^{Aa}	7,64±1,14 ^{Aa}	3,37±0,47 ^{Aa}	3,12±0,29 ^{Aa}	4,07±0,86 ^{Aa}	4,53±1,20 ^{Aa}
2	7,28±1,03 ^{Aa}	7,80±0,40 ^{Aa}	3,27±0,40 ^{Aa}	3,12±0,45 ^{Aa}	4,01±0,91 ^{Aa}	4,68±0,74 ^{Aa}
3	6,93±0,88 ^{Aa}	7,00±0,68 ^{Aa}	2,91±0,20 ^{Aa}	2,65±0,35 ^{Aa}	4,02±0,94 ^{Aa}	4,35±0,96 ^{Aa}
4	6,85±1,05 ^{Aa}	7,58±0,93 ^{Aa}	3,07±0,29 ^{Aa}	3,11±0,46 ^{Aa}	3,79±1,15 ^{Aa}	4,38±0,93 ^{Aa}
5	7,34±1,20 ^{Aa}	8,07±1,08 ^{Aa}	3,27±0,44 ^{Aa}	3,27±0,59 ^{Aa}	4,07±1,21 ^{Aa}	4,70±0,81 ^{Aa}
6	6,56±1,27 ^{Aa}	7,28±0,96 ^{Aa}	3,08±0,78 ^{Aa}	3,07±0,35 ^{Aa}	3,49±0,79 ^{Aa}	4,21±1,08 ^{Aa}
7	7,77±0,98 ^{Aa}	7,48±2,02 ^{Aa}	3,49±0,43 ^{Aa}	3,25±0,46 ^{Aa}	4,28±1,11 ^{Aa}	4,60±1,14 ^{Aa}
8	6,96±0,97 ^{Aa}	7,40±1,51 ^{Aa}	3,32±0,49 ^{Aa}	3,34±0,94 ^{Aa}	3,64±0,81 ^{Aa}	4,07±0,84 ^{Aa}
9	6,91±1,14 ^{Aa}	7,53±1,24 ^{Aa}	3,25±0,47 ^{Aa}	3,07±0,58 ^{Aa}	3,66±1,28 ^{Aa}	4,46±1,27 ^{Aa}
10	6,63±0,99 ^{Aa}	7,67±1,06 ^{Aa}	2,89±0,29 ^{Aa}	3,25±0,30 ^{Aa}	3,74±1,17 ^{Aa}	4,43±1,06 ^{Aa}
11	6,63±0,67 ^{Aa}	6,76±0,74 ^{Aa}	2,97±0,31 ^{Aa}	2,92±0,58 ^{Aa}	3,67±0,62 ^{Aa}	3,85±0,94 ^{Aa}
12	7,37±0,96 ^{Aa}	7,46±1,33 ^{Aa}	2,91±0,14 ^{Aa}	2,79±0,35 ^{Aa}	4,46±1,03 ^{Aa}	4,67±1,30 ^{Aa}
13	7,76±1,15 ^{Aa}	7,46±1,60 ^{Aa}	3,14±0,65 ^{Aa}	3,26±0,28 ^{Aa}	4,62±1,39 ^{Aa}	4,20±1,56 ^{Aa}
14	7,27±0,55 ^{Aa}	7,26±1,00 ^{Aa}	3,53±0,41 ^{Aa}	3,08±0,28 ^{Aa}	3,74±0,73 ^{Aa}	4,18±1,00 ^{Aa}
15	7,48±1,11 ^{Aa}	6,58±1,03 ^{Aa}	3,48±0,47 ^{Aa}	2,78±0,48 ^{Ba}	4,00±1,36 ^{Aa}	3,79±1,07 ^{Aa}
16	7,05±0,51 ^{Aa}	7,26±1,84 ^{Aa}	2,78±0,39 ^{Aa}	2,65±0,41 ^{Aa}	4,27±0,46 ^{Aa}	4,36±1,62 ^{Aa}
17	7,63±1,11 ^{Aa}	7,78±0,80 ^{Aa}	3,60±0,17 ^{Aa}	3,35±0,80 ^{Aa}	4,03±1,08 ^{Aa}	4,43±1,24 ^{Aa}
18	8,10±0,75 ^{Aa}	8,09±1,58 ^{Aa}	3,32±0,28 ^{Aa}	3,16±0,56 ^{Aa}	4,79±0,86 ^{Aa}	4,94±1,91 ^{Aa}
19	7,55±1,76 ^{Aa}	7,30±0,89 ^{Aa}	3,52±0,60 ^{Aa}	3,37±0,56 ^{Ba}	3,79±1,25 ^{Aa}	3,93±0,91 ^{Aa}
20	7,41±1,10 ^{Aa}	7,30±0,84 ^{Aa}	3,39±0,34 ^{Aa}	3,31±0,75 ^{Aa}	4,02±0,87 ^{Aa}	3,99±1,18 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 7 – Valores médios e desvio padrão dos valores da eletroforese sérica das proteínas albumina, das globulinas alfa 1, alfa 2, beta1, beta 2 e gama, e da relação albumina/globulina de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

	Albumina (g/dL)		α -1 globulina (g/dL)		α -2 globulina (g/dL)		β -1 globulina (g/dL)		β -2 globulina (g/dL)		γ -globulina (g/dL)		Razão A/G	
M	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	GI
0	2,51±0,31 ^{Aa}	2,69±0,22 ^{Aa}	0,76±0,18 ^{Aa}	0,73±0,12 ^{Aa}	1,13±0,25 ^{Aa}	1,10±0,23 ^{Aa}	0,61±0,08 ^{Aa}	0,72±0,23 ^{Aa}	0,92±0,21 ^{Aa}	0,96±0,20 ^{Aa}	1,37±0,57 ^{Aa}	1,42±0,59 ^{Aa}	0,54±0,13 ^{Aa}	0,57±0,14 ^{Aa}
1	2,60±0,22 ^{Aa}	2,62±0,22 ^{Aa}	1,10±0,09 ^{Aa}	0,93±0,22 ^{Aa}	0,90±0,10 ^{Aa}	0,84±0,26 ^{Aa}	0,54±0,10 ^{Aa}	0,74±0,31 ^{Aa}	0,93±0,13 ^{Aa}	0,87±0,29 ^{Aa}	1,28±0,56 ^{Aa}	1,48±0,62 ^{Aa}	0,55±0,10 ^{Aa}	0,55±0,12 ^{Aa}
2	2,60±0,57 ^{Aa}	2,84±0,23 ^{Aa}	1,07±0,41 ^{Aa}	1,01±0,25 ^{Aa}	0,86±0,2 ^{Aa}	0,94±0,30 ^{Aa}	0,54±0,13 ^{Aa}	0,65±0,17 ^{Aa}	0,85±0,12 ^{Aa}	0,89±0,28 ^{Aa}	1,30±0,59 ^{Aa}	1,42±0,36 ^{Aa}	0,57±0,14 ^{Aa}	0,58±0,08 ^{Aa}
3	2,29±0,02 ^{Aa}	2,45±0,19 ^{Ab}	0,68±0,20 ^{Aa}	0,95±0,39 ^{Aa}	1,23±0,19 ^{Aa}	0,58±0,40 ^{Aa}	0,70±0,3 ^{Aa}	0,66±0,41 ^{Aa}	0,85±0,12 ^{Aa}	1,02±0,43 ^{Aa}	1,56±0,87 ^{Aa}	1,05±0,39 ^{Aa}	0,47±0,13 ^{Aa}	0,61±0,22 ^{Aa}
4	2,41±0,13 ^{Aa}	2,56±0,34 ^{Aa}	0,90±0,34 ^{Aa}	0,89±0,32 ^{Aa}	0,95±0,25 ^{Aa}	0,90±0,17 ^{Aa}	0,50±0,12 ^{Aa}	0,71±0,40 ^{Aa}	0,87±0,22 ^{Aa}	0,84±0,16 ^{Aa}	1,18±0,61 ^{Aa}	1,57±0,47 ^{Aa}	0,57±0,12 ^{Aa}	0,53±0,13 ^{Aa}
5	2,56±0,19 ^{Aa}	2,58±0,25 ^{Aa}	1,05±0,14 ^{Aa}	0,97±0,37 ^{Aa}	0,85±0,15 ^{Aa}	0,97±0,16 ^{Aa}	0,65±0,21 ^{Aa}	0,69±0,34 ^{Aa}	0,84±0,19 ^{Aa}	1,02±0,22 ^{Aa}	1,31±0,65 ^{Aa}	1,67±0,54 ^{Aa}	0,56±0,09 ^{Aa}	0,49±0,10 ^{Aa}
6	2,39±0,60 ^{Aa}	2,50±0,23 ^{Aa}	0,78±0,35 ^{Aa}	0,75±0,33 ^{Aa}	0,81±0,23 ^{Aa}	0,85±0,05 ^{Aa}	0,72±0,36 ^{Aa}	0,76±0,43 ^{Aa}	0,67±0,15 ^{Aa}	0,91±0,19 ^{Ba}	1,13±0,34 ^{Aa}	1,44±0,51 ^{Aa}	0,58±0,1 ^{Aa}	0,54±0,13 ^{Aa}
7	2,93±0,41 ^{Aa}	2,65±0,17 ^{Ab}	0,47±0,02 ^{Aa}	0,49±0,09 ^{Aa}	1,31±0,14 ^{Aa}	0,92±0,09 ^{Ba}	0,72±0,38 ^{Aa}	0,99±0,51 ^{Aa}	1,00±0,28 ^{Aa}	1,03±0,32 ^{Aa}	1,61±0,50 ^{Aa}	1,42±0,60 ^{Aa}	0,58±0,13 ^{Aa}	0,57±0,16 ^{Aa}
8	2,46±0,44 ^{Aa}	2,84±0,23 ^{Aa}	1,02±0,26 ^{Aa}	0,97±0,21 ^{Aa}	0,79±0,39 ^{Aa}	0,88±0,24 ^{Aa}	0,52±0,17 ^{Aa}	0,73±0,63 ^{Aa}	0,95±0,17 ^{Aa}	0,95±0,13 ^{Aa}	1,37±0,48 ^{Aa}	1,55±0,44 ^{Aa}	0,53±0,07 ^{Aa}	0,57±0,12 ^{Aa}
9	2,42±0,24 ^{Aa}	2,54±0,41 ^{Aa}	0,84±0,21 ^{Aa}	0,82±0,22 ^{Aa}	1,02±0,33 ^{Aa}	0,97±0,20 ^{Aa}	0,47±0,10 ^{Aa}	0,70±0,45 ^{Aa}	1,02±0,17 ^{Aa}	1,02±0,40 ^{Aa}	1,37±0,64 ^{Aa}	1,51±0,59 ^{Aa}	0,52±0,1 ^{Aa}	0,53±0,16 ^{Aa}
10	2,32±0,27 ^{Aa}	2,60±0,40 ^{Aa}	0,77±0,25 ^{Aa}	0,81±0,27 ^{Aa}	0,90±0,33 ^{Aa}	0,92±0,14 ^{Aa}	0,48±0,12 ^{Aa}	0,84±0,41 ^{Aa}	0,91±0,08 ^{Aa}	0,95±0,26 ^{Aa}	1,21±0,50 ^{Aa}	1,50±0,48 ^{Aa}	0,55±0,06 ^{Aa}	0,53±0,14 ^{Aa}
11	2,57±0,32 ^{Aa}	2,58±0,44 ^{Ab}	0,56±0,11 ^{Aa}	0,61±0,13 ^{Aa}	1,00±0,19 ^{Aa}	0,78±0,19 ^{Aa}	0,73±0,28 ^{Aa}	0,73±0,30 ^{Aa}	0,69±0,11 ^{Aa}	1,04±0,37 ^{Aa}	1,28±0,50 ^{Aa}	1,24±0,50 ^{Aa}	0,62±0,14 ^{Aa}	0,61±0,21 ^{Aa}
12	2,85±0,19 ^{Aa}	2,84±0,29 ^{Ab}	1,13±0,11 ^{Aa}	0,86±0,26 ^{Aa}	0,71±0,28 ^{Aa}	0,90±0,42 ^{Aa}	0,64±0,20 ^{Aa}	0,71±0,43 ^{Aa}	0,90±0,20 ^{Aa}	0,97±0,28 ^{Aa}	1,33±0,54 ^{Aa}	1,22±0,50 ^{Aa}	0,62±0,13 ^{Aa}	0,63±0,12 ^{Aa}
13	2,79±0,49 ^{Aa}	2,59±0,35 ^{Aa}	1,11±0,27 ^{Aa}	0,93±0,29 ^{Aa}	0,82±0,30 ^{Aa}	0,91±0,33 ^{Aa}	0,52±0,16 ^{Aa}	0,81±0,47 ^{Aa}	0,90±0,30 ^{Aa}	0,81±0,16 ^{Aa}	1,38±0,59 ^{Aa}	1,37±0,68 ^{Aa}	0,57±0,10 ^{Aa}	0,56±0,12 ^{Aa}
14	2,73±0,49 ^{Aa}	2,61±0,28 ^{Aa}	1,13±0,18 ^{Aa}	0,96±0,08 ^{Aa}	0,80±0,12 ^{Aa}	0,97±0,34 ^{Aa}	0,67±0,23 ^{Aa}	0,62±0,24 ^{Aa}	0,76±0,19 ^{Aa}	0,85±0,17 ^{Aa}	1,15±0,37 ^{Aa}	1,27±0,68 ^{Aa}	0,6±0,11 ^{Aa}	0,59±0,18 ^{Aa}
15	2,80±0,32 ^{Aa}	2,21±0,31 ^{Ba}	1,13±0,17 ^{Aa}	0,87±0,18 ^{Ba}	0,87±0,11 ^{Aa}	0,84±0,23 ^{Aa}	0,57±0,25 ^{Aa}	0,59±0,22 ^{Aa}	0,92±0,16 ^{Aa}	0,79±0,18 ^{Aa}	1,36±0,53 ^{Aa}	1,23±0,61 ^{Aa}	0,58±0,04 ^{Aa}	0,52±0,13 ^{Aa}
16	2,65±0,47 ^{Aa}	2,53±0,30 ^{Aa}	0,99±0,25 ^{Aa}	0,58±0,42 ^{Aa}	0,78±0,13 ^{Aa}	0,85±0,54 ^{Aa}	0,65±0,16 ^{Aa}	0,69±0,40 ^{Aa}	0,74±0,14 ^{Aa}	0,46±0,28 ^{Aa}	1,30±0,41 ^{Aa}	1,35±1,02 ^{Aa}	0,6±0,14 ^{Aa}	0,42±0,24 ^{Aa}
17	2,34±0,34 ^{Aa}	2,71±0,60 ^{Aa}	0,70±0,32 ^{Aa}	0,79±0,39 ^{Aa}	1,21±0,05 ^{Aa}	1,10±0,23 ^{Aa}	0,70±0,24 ^{Aa}	0,70±0,25 ^{Aa}	0,84±0,15 ^{Aa}	0,89±0,07 ^{Aa}	2,01±0,55 ^{Aa}	1,54±0,82 ^{Aa}	0,44±0,08 ^{Aa}	0,56±0,23 ^{Aa}
18	3,18±0,53 ^{Aa}	3,11±0,26 ^{Ab}	0,96±0,33 ^{Aa}	1,01±0,17 ^{Aa}	1,02±0,33 ^{Aa}	0,82±0,32 ^{Aa}	0,76±0,15 ^{Aa}	0,78±0,26 ^{Aa}	0,82±0,37 ^{Aa}	1,04±0,55 ^{Aa}	1,62±0,70 ^{Aa}	1,19±0,83 ^{Aa}	0,64±0,22 ^{Aa}	0,69±0,20 ^{Aa}
19	2,98±0,31 ^{Aa}	2,34±0,12 ^{Aa}	0,66±0,24 ^{Aa}	0,49±0,20 ^{Aa}	1,15±0,59 ^{Aa}	1,11±0,23 ^{Aa}	0,65±0,22 ^{Aa}	0,71±0,22 ^{Aa}	0,78±0,19 ^{Aa}	0,79±0,18 ^{Aa}	1,20±0,44 ^{Aa}	1,86±0,68 ^{Aa}	0,69±0,11 ^{Aa}	0,48±0,09 ^{Ba}
20	2,48±0,16 ^{Aa}	2,44±0,32 ^{Aa}	1,01±0,13 ^{Aa}	0,99±0,35 ^{Aa}	0,90±0,21 ^{Aa}	0,86±0,19 ^{Aa}	0,73±0,12 ^{Aa}	0,69±0,18 ^{Aa}	0,74±0,32 ^{Aa}	0,89±0,16 ^{Aa}	1,55±0,90 ^{Aa}	1,39±0,61 ^{Aa}	0,54±0,16 ^{Aa}	0,51±0,08 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 8 – Valores médios e desvio padrão dos valores séricos de sódio e potássio de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

M	Sódio (mmol/L)		Potássio (mmol/L)	
	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}
0	144,72±12,28 ^{Aa}	146,08±8,89 ^{Aa}	3,99±0,59 ^{Aa}	3,97±0,37 ^{Aa}
1	141,50±18,29 ^{Aa}	134,17±20,21 ^{Aa}	4,02±0,78 ^{Aa}	3,45±0,80 ^{Aa}
2	132,17±23,53 ^{Aa}	127,50±18,91 ^{Ab}	3,87±0,97 ^{Aa}	3,33±0,56 ^{Aa}
3	143,00±4,26 ^{Aa}	140,77±7,63 ^{Aa}	3,96±0,51 ^{Aa}	3,84±0,48 ^{Aa}
4	128,78±18,25 ^{Aa}	126,73±16,69 ^{Ab}	3,72±1,11 ^{Aa}	3,38±1,00 ^{Aa}
5	128,33±22,12 ^{Aa}	126,50±20,17 ^{Ab}	4,07±0,79 ^{Aa}	3,13±0,47 ^{Ba}
6	148,00±8,41 ^{Aa}	141,33±17,14 ^{Aa}	4,38±0,73 ^{Aa}	3,65±0,72 ^{Aa}
7	128,83±16,73 ^{Aa}	130,33±14,25 ^{Aa}	3,85±0,66 ^{Aa}	3,58±1,18 ^{Aa}
8	136,17±18,61 ^{Aa}	129,33±21,58 ^{Aa}	4,67±1,54 ^{Aa}	3,85±0,92 ^{Aa}
9	140,62±21,58 ^{Aa}	128,43±25,37 ^{Aa}	4,83±1,26 ^{Aa}	3,31±1,01 ^{Aa}
10	134,33±10,65 ^{Aa}	130,33±12,82 ^{Aa}	3,73±0,89 ^{Aa}	3,50±0,85 ^{Aa}
11	147,5±2,97 ^{Aa}	136,95±13,97 ^{Ba}	4,81±0,63 ^{Aa}	3,51±0,96 ^{Ba}
12	128,50±20,72 ^{Aa}	116,15±17,77 ^{Ab}	3,87±0,54 ^{Aa}	3,15±0,39 ^{Ba}
13	107,50±10,71 ^{Ab}	108,83±5,04 ^{Ab}	3,33±0,54 ^{Aa}	2,82±0,33 ^{Aa}
14	142,83±21,62 ^{Aa}	139,17±23,53 ^{Ba}	3,83±0,61 ^{Aa}	3,73±0,83 ^{Aa}
15	123,95±15,49 ^{Ab}	121,84±21,32 ^{Ab}	4,11±0,33 ^{Aa}	3,21±0,8 ^{Aa}
16	130,50±13,75 ^{Aa}	130,80±17,61 ^{Aa}	3,68±0,62 ^{Aa}	3,48±0,60 ^{Aa}
17	207,60±91,67 ^{Aa}	205,60±83,70 ^{Ab}	4,94±1,36 ^{Aa}	4,18±1,14 ^{Ba}
18	124,50±16,21 ^{Ab}	113,40±8,44 ^{Ab}	4,30±1,19 ^{Aa}	3,20±0,38 ^{Aa}
19	128,50±12,99 ^{Aa}	128,40±8,50 ^{Aa}	3,78±0,47 ^{Aa}	3,48±0,63 ^{Aa}
20	115,67±5,75 ^{Ab}	129,20±21,78 ^{Aa}	2,91±0,20 ^{Aa}	3,76±1,22 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 9 – Valores médios e desvio padrão dos valores sanguíneos de pH, HCO_3^- e BE de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

M	pH		$\text{HCO}_3^- (\text{mmol L}^{-1})$		BE	
	G_C	G_{IRA}	G_C	G_{IRA}	G_C	G_{IRA}
0	7,37±0,01 ^{Aa}	7,39±0,02 ^{Aa}	24,71±1,06 ^{Aa}	23,88±1,81 ^{Aa}	-0,63±0,82 ^{Aa}	-1,06±0,98 ^{Aa}
1	7,34±0,03 ^{Aa}	7,38±0,02 ^{Aa}	24,43±2,91 ^{Aa}	25,10±1,74 ^{Aa}	-1,58±2,55 ^{Aa}	-0,12±1,70 ^{Aa}
2	7,37±0,02 ^{Aa}	7,38±0,04 ^{Aa}	23,60±1,68 ^{Aa}	24,83±0,42 ^{Aa}	-1,58±1,32 ^{Aa}	-0,38±1,10 ^{Aa}
3	7,35±0,03 ^{Aa}	7,38±0,06 ^{Aa}	24,58±1,38 ^{Aa}	24,32±2,04 ^{Aa}	-1,25±1,30 ^{Aa}	0±1,50 ^{Aa}
4	7,36±0,02 ^{Aa}	7,37±0,03 ^{Aa}	24,65±2,01 ^{Aa}	24,25±1,76 ^{Aa}	-0,95±1,73 ^{Aa}	-1,10±1,07 ^{Aa}
5	7,36±0,03 ^{Aa}	7,37±0,02 ^{Aa}	24,48±1,60 ^{Aa}	24,20±2,81 ^{Aa}	-1,23±1,42 ^{Aa}	-1,27±2,25 ^{Aa}
6	7,37±0,02 ^{Aa}	7,36±0,03 ^{Aa}	24,02±0,90 ^{Aa}	24,38±1,97 ^{Aa}	-1,33±0,91 ^{Aa}	-1,28±1,81 ^{Aa}
7	7,36±0,02 ^{Aa}	7,35±0,05 ^{Aa}	24,82±2,22 ^{Aa}	23,77±2,94 ^{Aa}	-0,83±1,77 ^{Aa}	-1,92±1,85 ^{Aa}
8	7,36±0,04 ^{Aa}	7,35±0,05 ^{Aa}	23,97±0,94 ^{Aa}	22,28±2,56 ^{Aa}	-1,53±0,92 ^{Aa}	-3,18±1,50 ^{Aa}
9	7,35±0,04 ^{Aa}	7,32±0,05 ^{Ab}	23,73±1,44 ^{Aa}	20,83±3,32 ^{Aa}	-2,00±0,88 ^{Aa}	-5,02±3,44 ^{Ab}
10	7,36±0,03 ^{Aa}	7,34±0,04 ^{Aa}	23,45±1,11 ^{Aa}	20,32±3,81 ^{Aa}	-2,02±0,91 ^{Aa}	-4,90±3,92 ^{Ab}
11	7,32±0,01 ^{Aa}	7,28±0,04 ^{Ab}	23,87±1,19 ^{Aa}	20,17±4,47 ^{Aa}	-2,55±1,18 ^{Aa}	-6,47±4,00 ^{Ab}
12	7,36±0,03 ^{Aa}	7,27±0,08 ^{Ab}	24,32±1,33 ^{Aa}	19,50±5,50 ^{Aa}	-1,22±1,36 ^{Aa}	-7,22±5,58 ^{Bb}
13	7,36±0,01 ^{Aa}	7,33±0,07 ^{Aa}	25,03±1,52 ^{Aa}	20,12±3,59 ^{Ba}	-0,7±1,05 ^{Aa}	-5,33±4,32 ^{Aa}
14	7,36±0,03 ^{Aa}	7,30±0,08 ^{Ab}	25,13±0,44 ^{Aa}	20,47±6,46 ^{Aa}	-0,62±0,85 ^{Aa}	-5,67±6,81 ^{Aa}
15	7,36±0,03 ^{Aa}	7,36±0,06 ^{Aa}	24,90±1,26 ^{Aa}	23,70±3,96 ^{Aa}	-0,87±0,77 ^{Aa}	-1,80±3,92 ^{Aa}
16	7,36±0,04 ^{Aa}	7,37±0,04 ^{Aa}	25,02±2,01 ^{Aa}	25,44±4,00 ^{Aa}	-0,77±2,43 ^{Aa}	-0,14±4,18 ^{Aa}
17	7,38±0 ^{Aa}	7,37±0,01 ^{Aa}	24,15±1,77 ^{Aa}	22,80±5,09 ^{Aa}	-1,0±1,41 ^{Aa}	-2,10±4,24 ^{Aa}
18	7,36±0,02 ^{Aa}	7,33±0,06 ^{Aa}	26,03±2,32 ^{Aa}	27,20±2,97 ^{Aa}	0,12±2,34 ^{Aa}	0,38±3,53 ^{Aa}
19	7,35±0,02 ^{Aa}	7,34±0,05 ^{Aa}	24,53±0,94 ^{Aa}	25,34±1,39 ^{Aa}	-1,30±0,58 ^{Aa}	-0,88±2,09 ^{Aa}
20	7,37±0,02 ^{Aa}	7,36±0,03 ^{Aa}	24,38±1,69 ^{Aa}	26,42±2,15 ^{Aa}	-1,05±1,13 ^{Aa}	0,30±1,62 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento ($p < 0,05$).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo ($p < 0,05$).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 10 – Valores médios e desvio padrão dos valores urinários de razão proteína/creatinina (Pu/Cu), gama glutamil transferase (GGTu) e fosfatase alcalina (ALPu) de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

M	Razão Pu/Cu		GGTu (UI/L)		ALPu(UI/L)	
	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}
0	0,09±0,05 ^{Aa}	0,10±0,04 ^{Aa}	37,21±13,96 ^{Aa}	36,32±17,30 ^{Aa}	35,58±18,78 ^{Aa}	33,11±16,87 ^{Aa}
1	0,14±0,07 ^{Aa}	0,18±0,11 ^{Aa}	41,74±36,92 ^{Aa}	72,62±61,75 ^{Ab}	33,07±25,18 ^{Aa}	31,58±22,78 ^{Aa}
2	0,09±0,05 ^{Aa}	0,14±0,04 ^{Aa}	30,93±8,71 ^{Aa}	60,76±38,84 ^{Ba}	33,54±28,13 ^{Aa}	19,91±15,27 ^{Aa}
3	0,19±0,18 ^{Aa}	0,33±0,32 ^{Ab}	17,55±6,56 ^{Ab}	40,31±13,43 ^{Ba}	28,62±23,47 ^{Aa}	19,08±11,28 ^{Aa}
4	0,13±0,04 ^{Aa}	0,69±0,93 ^{Bb}	25,18±14,45 ^{Aa}	32,46±27,15 ^{Aa}	34,44±35,25 ^{Aa}	22,14±15,30 ^{Aa}
5	0,10±0,05 ^{Aa}	0,61±0,53 ^{Bb}	16,70±12,70 ^{Ab}	45,61±25,02 ^{Ba}	36,74±24,60 ^{Aa}	39,36±22,26 ^{Aa}
6	0,10±0,03 ^{Aa}	0,91±0,82 ^{Bb}	19,80±10,35 ^{Ab}	85,79±54,83 ^{Bb}	30,92±26,30 ^{Aa}	26,12±12,23 ^{Aa}
7	0,08±0,04 ^{Aa}	1,37±1,49 ^{Bb}	15,11±8,62 ^{Ab}	149,7±145,98 ^{Bb}	38,70±34,44 ^{Aa}	88,29±101,14 ^{Aa}
8	0,07±0,04 ^{Aa}	1,13±1,44 ^{Bb}	31,97±11,64 ^{Aa}	126,51±79,30 ^{Bb}	37,41±16,69 ^{Aa}	77,34±89,69 ^{Aa}
9	0,12±0,07 ^{Aa}	0,95±0,85 ^{Bb}	16,15±10,38 ^{Ab}	103,27±42,85 ^{Bb}	29,74±17,08 ^{Aa}	47,61±48,88 ^{Aa}
10	0,08±0,04 ^{Aa}	1,22±1,41 ^{Bb}	25,23±14,15 ^{Aa}	135,85±128,31 ^{Bb}	22,30±2,89 ^{Aa}	48,32±22,30 ^{Ba}
11	0,12±0,09 ^{Aa}	1,04±1,02 ^{Bb}	23,63±12,35 ^{Aa}	49,55±33,10 ^{Aa}	25,82±3,94 ^{Aa}	30,38±12,55 ^{Aa}
12	0,08±0,03 ^{Aa}	1,02±0,83 ^{Bb}	20,18±12,65 ^{Ab}	26,54±23,31 ^{Aa}	20,74±9,03 ^{Aa}	49,43±26,13 ^{Aa}
13	0,09±0,03 ^{Aa}	1,21±1,19 ^{Bb}	21,90±7,93 ^{Aa}	33,65±31,96 ^{Aa}	30,81±18,91 ^{Aa}	32,33±15,16 ^{Aa}
14	0,11±0,04 ^{Aa}	1,84±3,04 ^{Bb}	29,09±13,98 ^{Aa}	59,28±31,72 ^{Aa}	25,39±12,94 ^{Aa}	40,40±15,36 ^{Aa}
15	0,14±0,10 ^{Aa}	0,78±0,65 ^{Bb}	26,14±3,55 ^{Aa}	35,22±21,11 ^{Aa}	23,22±8,05 ^{Aa}	48,16±25,11 ^{Aa}
16	0,09±0,04 ^{Aa}	0,36±0,42 ^{Aa}	36,05±20,35 ^{Aa}	36,54±14,62 ^{Aa}	20,80±9,99 ^{Aa}	39,43±22,93 ^{Aa}
17	0,10±0,03 ^{Aa}	0,22±0,14 ^{Aa}	24,33±5,33 ^{Aa}	30,13±8,21 ^{Aa}	14,76±5,27 ^{Aa}	34,91±19,58 ^{Aa}
18	0,16±0,09 ^{Aa}	0,20±0,15 ^{Aa}	21,64±4,82 ^{Ab}	23,81±10,91 ^{Aa}	39,35±24,97 ^{Aa}	32,28±6,99 ^{Aa}
19	0,08±0,02 ^{Aa}	0,09±0,07 ^{Aa}	25,55±5,61 ^{Aa}	45,06±26,62 ^{Aa}	12,93±6,98 ^{Aa}	17,84±6,16 ^{Aa}
20	0,07±0,01 ^{Aa}	0,08±0,06 ^{Aa}	26,21±7,78 ^{Aa}	26,34±9,58 ^{Aa}	23,51±3,32 ^{Aa}	30,93±22,75 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 11 – Valores médios e desvio padrão dos valores de excreção fracional de sódio e excreção fracional de potássio de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

M	EF de sódio (%)		EF de potássio (%)	
	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}
0	0,58±0,30 ^{Aa}	0,47±0,32 ^{Aa}	16,39±2,61 ^{Aa}	10,88±4,93 ^{Ba}
1	0,69±0,42 ^{Aa}	0,61±0,59 ^{Aa}	16,21±6,42 ^{Aa}	19,44±8,93 ^{Aa}
2	0,44±0,22 ^{Aa}	0,51±0,33 ^{Aa}	14,11±7,45 ^{Aa}	18,64±5,53 ^{Aa}
3	0,74±0,62 ^{Aa}	0,61±0,33 ^{Aa}	19,34±4,46 ^{Aa}	19,68±13,99 ^{Aa}
4	0,43±0,19 ^{Aa}	1,26±0,74 ^{Aa}	17,02±7,60 ^{Aa}	33,94±13,20 ^{Bb}
5	0,51±0,25 ^{Aa}	0,65±0,42 ^{Aa}	17,14±4,45 ^{Aa}	28,31±7,61 ^{Bb}
6	0,59±0,39 ^{Aa}	0,58±0,46 ^{Aa}	12,99±7,72 ^{Aa}	19,34±8,64 ^{Aa}
7	0,68±0,42 ^{Aa}	1,87±3,53 ^{Aa}	19,85±7,81 ^{Aa}	18,33±4,45 ^{Aa}
8	0,45±0,43 ^{Aa}	0,58±0,55 ^{Aa}	13,00±9,12 ^{Aa}	25,46±15,34 ^{Aa}
9	0,65±0,16 ^{Aa}	1,63±1,04 ^{Aa}	19,64±3,91 ^{Aa}	54,94±44,13 ^{Ab}
10	0,36±0,23 ^{Aa}	2,66±3,18 ^{Aa}	14,53±9,61 ^{Aa}	70,20±85,83 ^{Bb}
11	0,72±0,68 ^{Aa}	6,38±9,81 ^{Aa}	16,39±15,62 ^{Aa}	108,69±111,51 ^{Ab}
12	0,74±0,34 ^{Aa}	15,29±17,44 ^{Aa}	17,99±4,31 ^{Aa}	86,42±70,63 ^{Bb}
13	0,48±0,45 ^{Aa}	3,80±6,19 ^{Aa}	11,06±4,99 ^{Aa}	67,28±72,39 ^{Bb}
14	0,52±0,35 ^{Aa}	13,79±26,95 ^{Ba}	20,03±11,12 ^{Aa}	125,44±229,62 ^{Ab}
15	0,84±0,66 ^{Aa}	4,88±5,80 ^{Aa}	18,59±3,20 ^{Aa}	45,00±17,75 ^{Bb}
16	0,51±0,34 ^{Aa}	1,33±1,17 ^{Aa}	18,55±5,21 ^{Aa}	39,37±18,42 ^{Ab}
17	0,63±0,22 ^{Aa}	1,93±1,70 ^{Aa}	11,97±3,31 ^{Aa}	51,98±48,72 ^{Ab}
18	1,18±0,34 ^{Aa}	1,83±1,99 ^{Aa}	17,80±3,83 ^{Aa}	38,23±20,53 ^{Ab}
19	0,48±0,23 ^{Aa}	0,79±0,60 ^{Aa}	15,64±3,79 ^{Aa}	20,22±14,92 ^{Aa}
20	0,51±0,27 ^{Aa}	0,61±0,26 ^{Aa}	14,23±6,26 ^{Aa}	18,41±7,57 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 12 – Valores médios e desvio padrão dos valores de pH e densidade urinária de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

M	pH		Densidade	
	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}
0	6,50±0,68 ^{Aa}	6,72±1,04 ^{Aa}	1,047±0,00 ^{Aa}	1,046±0,00 ^{Aa}
1	6,75±0,76 ^{Aa}	6,17±0,93 ^{Aa}	1,043±0,02 ^{Aa}	1,048±0,02 ^{Aa}
2	6,33±1,03 ^{Aa}	6,17±1,13 ^{Aa}	1,049±0,02 ^{Aa}	1,044±0,02 ^{Aa}
3	6,50±1,05 ^{Aa}	6,42±1,02 ^{Aa}	1,044±0,02 ^{Aa}	1,052±0,01 ^{Aa}
4	5,93±2,55 ^{Aa}	6,83±1,47 ^{Aa}	1,059±0,02 ^{Aa}	1,052±0,02 ^{Aa}
5	6,75±0,99 ^{Aa}	6,25±0,99 ^{Aa}	1,062±0,02 ^{Aa}	1,040±0,02 ^{Aa}
6	7,08±1,50 ^{Aa}	7,25±1,41 ^{Aa}	1,055±0,02 ^{Aa}	1,044±0,02 ^{Aa}
7	6,67±0,75 ^{Aa}	6,25±0,76 ^{Aa}	1,057±0,01 ^{Aa}	1,035±0,02 ^{Aa}
8	6,58±1,20 ^{Aa}	6,00±0,55 ^{Aa}	1,043±0,02 ^{Aa}	1,032±0,02 ^{Aa}
9	6,17±1,13 ^{Aa}	5,75±0,61 ^{Aa}	1,054±0,01 ^{Aa}	1,022±0,01 ^{Ab}
10	6,58±0,80 ^{Aa}	6,25±0,76 ^{Aa}	1,057±0,01 ^{Aa}	1,025±0,01 ^{Bb}
11	5,83±0,68 ^{Aa}	6,00±0,55 ^{Aa}	1,048±0,02 ^{Aa}	1,021±0,01 ^{Bb}
12	6,90±1,60 ^{Aa}	6,42±0,97 ^{Aa}	1,054±0,01 ^{Aa}	1,023±0,01 ^{Bb}
13	5,92±0,80 ^{Aa}	6,67±1,33 ^{Aa}	1,052±0,02 ^{Aa}	1,032±0,02 ^{Aa}
14	6,08±1,11 ^{Aa}	5,75±0,88 ^{Aa}	1,042±0,02 ^{Aa}	1,024±0,01 ^{Ab}
15	6,42±1,02 ^{Aa}	6,00±1,41 ^{Aa}	1,053±0,01 ^{Aa}	1,026±0,02 ^{Ab}
16	6,67±0,75 ^{Aa}	6,20±1,30 ^{Aa}	1,055±0,01 ^{Aa}	1,039±0,02 ^{Aa}
17	7,00±1,00 ^{Aa}	6,40±1,14 ^{Aa}	1,064±0,02 ^{Aa}	1,034±0,04 ^{Aa}
18	6,80±1,30 ^{Aa}	6,60±1,47 ^{Aa}	1,050±0,02 ^{Aa}	1,033±0,02 ^{Aa}
19	6,10±0,74 ^{Aa}	5,80±0,84 ^{Aa}	1,075±0,03 ^{Aa}	1,047±0,02 ^{Aa}
20	6,60±0,55 ^{Aa}	6,40±0,82 ^{Aa}	1,046±0,01 ^{Aa}	1,029±0,02 ^{Aa}

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 13 – Valores médios e desvio padrão dos valores de hemácias e leucócitos nos sedimentos urinários de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

M	Hemácias (p/c)		Leucócitos (p/c)	
	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}
0	9±1	28±21	1±1	3±3
1	47±57	12±7	1±0	3±4
2	3±1	22±30	2±1	1±0
3	5±7	106±242	1±0	6±10
4	38±4	6±7	2±2	1±1
5	22±38	72±161	1±1	2±2
6	11±18	27±22	2±2	2±2
7	21±31	45±37	1±1	6±6
8	4±7	24±21	1±1	6±8
9	2±2	32±35	1±1	3±3
10	15±13	32±29	1±1	3±3
11	10±11	25±37	1±1	3±4
12	8±13	31±59	2±1	46±78
13	47±75	12±12	1±1	51±46
14	36±80	84±157	1±0	24±32
15	38±79	58±81	2±2	122±107
16	8±7	18±19	1±1	92±172
17	11±21	51±86	2±3	15±24
18	42±88	14±21	4±6	23±28
19	12±14	15±16	1±1	11±17
20	61±89	41±89	2±2	3±3

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

TABELA 14 – Valores médios e desvio padrão dos valores de cilindros granulosos (CG) grossos, cilindros granulosos (CG) finos, células renais e células transicionais nos sedimentos urinários de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA})

M	CG grossos (p/c)		CG finos (p/c)		Células renais (p/c)		Células transicionais (p/c)	
	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}	G _C	G _{IRA}
0	0,56±0,54	0,28±0,39	0±0	0,06±0,14	0,72±0,44	1,22±0,54	1,06±0,71	2,61±1,39
1	0,67±0,52	0,50±0,55	0,17±0,41	0±0	0,67±0,52	1,67±1,75	1,17±1,60	3,67±3,27
2	0,33±0,52	0,33±0,52	0,17±0,41	0±0	0,33±0,52	0,83±0,41	1,33±1,03	3,17±3,06
3	0,33±0,52	1,33±2,34	0±0	0±0	0,33±0,52	1,00±0,89	0,50±0,55	3,00±3,29
4	0,50±0,55	0,67±0,52	0±0	0,17±0,41	1,67±1,51	2,17±2,93	4,33±7,74	1,83±2,23
5	0,33±0,52	0,83±0,75	0±0	0±0	1,00±0	3,00±3,52	1,00±0,89	2,17±1,94
6	0,83±0,41	5,00±9,82	0±0	0±0	0,67±0,52	1,67±1,21	2,50±1,38	1,17±0,98
7	0,33±0,52	8,67±13,05	0,17±0,41	0,17±0,41	0,83±0,41	3,50±3,73	2,50±3,67	1,50±1,05
8	0,50±0,55	20,33±39,81	0,17±0,41	0,17±0,41	1,00±0	4,83±8,06	1,00±0,63	1,33±1,75
9	0,33±0,52	10,17±15,37	0±0	0±0	0,67±1,21	4,83±5,67	2,50±2,51	1,83±1,17
10	0,67±1,21	10,83±11,94	0,33±0,52	0±0	0,67±0,52	6,33±7,63	2,50±2,35	2,33±3,14
11	0,33±0,52	7,83±8,70	0±0	0,33±0,82	1,00±0,63	5,17±5,34	2,17±1,47	0,17±0,41
12	0,50±0,55	0,33±0,52	0±0	0±0	0,50±0,55	3,33±3,83	1,67±1,37	0,83±0,75
13	0,83±0,75	2,50±2,43	0,17±0,41	0,33±0,52	1,17±1,47	2,17±2,23	6,83±9,11	0,83±1,60
14	0,50±0,55	0,83±0,98	0±0	0±0	1,17±0,98	2,17±2,14	3,67±4,18	0,83±0,98
15	0,33±0,52	1,00±1,73	0±0	0±0	0,67±0,82	1,40±0,55	2,17±2,40	1,60±1,95
16	0,80±0,45	3,6±4,83	0,20±0,45	0±0	0,80±0,84	7,00±10,27	0,80±0,45	1,40±1,14
17	0,40±0,55	0,8±1,79	0,20±0,45	0±0	1,20±1,30	2,60±2,07	2,20±1,64	3,00±2,92
18	0±0	0,8±1,79	0±0	0,2±0,45	0,60±0,89	4,20±4,92	1,00±0,71	1,40±1,34
19	0,20±0,45	0,6±0,89	0±0	0±0	0,20±0,45	5,60±6,84	2,60±2,07	2,80±4,15
20	0±0	0±0	0±0	0±0	0,80±0,84	2,00±1,87	3,40±3,51	4,20±4,87

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre grupos dentro de cada momento (p<0,05).

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre momentos de cada grupo (p<0,05).

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

CAPÍTULO 3 - CISTATINA C SÉRICA NA INJÚRIA TUBULAR AGUDA INDUZIDA E NA DOENÇA RENAL CRÔNICA EM CÃES

CHAPTER 3 - SERIC CISTATIN C IN ACUTE TUBULAR INJURY AND CHRONIC RENAL DISEASE IN DOGS

Resumo

A cistatina C tem sido apontada como uma alternativa na detecção precoce da injúria renal aguda (IRA) e da doença renal crônica (DRC) em humanos. Na medicina veterinária os estudos ainda são escassos. Com este estudo objetivou-se avaliar a eficácia da utilização da cistatina C sérica como biomarcador da IRA e da DRC em cães. A cistatina C sérica foi mensurada por ensaio imunoturbidimétrico em 54 cães com DRC e em seis cães com IRA induzida por gentamicina. Os cães com DRC foram subdivididos conforme os estádios da *International Renal Interest Society*: IRIS 2 (n=9), IRIS 3 (n=21) e IRIS 4 (n=24). Para os cães do grupo IRA, a injúria renal foi induzida com 30mg/kg do fármaco gentamicina, administrado por via subcutânea, uma vez ao dia, durante dez dias. Os cães do grupo controle (n=6) e IRA (n=6) foram acompanhados por 48 dias, compreendendo 20 momentos de avaliação. Os resultados mostraram que a concentração da cistatina C sérica nos animais saudáveis apresentou valor limite de 0,78 mg/l conforme a distribuição de Gauss. Foi observado diferença estatística nas concentrações de cistatina C séricas entre os cães saudáveis e os cães com DRC estádios 3 e 4 da IRIS. Não houve diferença significativa entre os cães saudáveis e os cães do grupo IRA. Os resultados deste estudo mostraram que a cistatina C sérica não foi um marcador eficiente em detectar a diminuição da função renal em cães com IRA e nos estádios iniciais da DRC.

Palavras-chaves: caninos, nefropatia, patologia clínica, cistatina C sérica

Abstract

Cystatin C has been identified as an alternative tool in the early detection of acute renal injury (ARF) and chronic kidney disease (CKD) in humans. Studies in veterinary medicine are still lacking. The present study aimed to evaluate the efficacy of serum cystatin C as a biomarker of ARF and CKD in dogs. Healthy animals were included as controls (n=6). Serum cystatin C was measured by immunoturbidimetric assay in 58 dogs with CKD and in six dogs with gentamicin-induced AKI. Dogs with CKD were grouped based on the IRIS (International Renal Interest Society) staging: IRIS 2 (n = 9), IRIS 3 (n = 24) and IRIS 4 (n = 25). For dogs in the IRA group, renal injury was induced with 30 mg / kg of the drug gentamicin, administered subcutaneously once daily for ten days. The IRA group were followed up for 48 days, comprising 20 time points evaluation. The limit value for serum cystatin C levels in healthy animals was 0.78 mg / l, according to the Gaussian distribution. Statistical difference ($p<0,05$) was observed in serum Cystatin C levels of healthy dogs in comparison with CKD dogs in stages IRIS 3 or 4. No significant difference were detected between healthy animals and dogs in the ARF group. The

results of this study indicate that serum cystatin C has limited value as a marker of decreased renal function in ARF and in early stages of CKD in dogs.

Keywords: canines, clinical pathology, nephropathy, serum cystatin C

1. Introdução

O rim é um órgão de múltiplas funções orgânicas (excretória, regulatória e biossintética) e, para preservar a homeostase, não é necessária a presença do número original de néfrons, mas sim o suficiente para manter as funções básicas¹. A partir do momento em que ocorre uma diminuição abrupta da taxa de filtração glomerular (TFG), causando uma inabilidade do rim em desempenhar estas funções, esta alteração é caracterizada como uma injúria renal aguda (IRA)². Em alguns casos a função renal pode continuar alterada por mais tempo (mais de três meses), a partir daí é considerada como doença renal crônica (DRC)¹.

Neste sentido, a detecção precoce de uma lesão renal aguda permite o tratamento apropriado a fim de evitar ou amenizar os danos às células tubulares e o desenvolvimento da IRA e da DRC². A determinação da taxa de filtração glomerular (TFG) é o principal parâmetro para avaliação da função renal³, pois a taxa de filtração glomerular se reduz antes do aparecimento dos sintomas ou sinais de insuficiência renal⁴. A TFG é definida como o volume de fluido plasmático que é filtrado para dentro da cápsula de Bowman por unidade de tempo⁵. A determinação da TFG é estimada por meio da depuração plasmática (*clearance*) de determinadas substâncias endógenas ou exógenas pelos rins⁶. Para que o *clearance* de uma substância possa refletir a TFG, esta substância deve apresentar as seguintes características: não se ligar a proteínas plasmáticas, ser livremente filtrada pelos glomérulos, possuir ritmo de produção estável, manutenção constante do seu nível circulante por não ser influenciado por outras doenças e não deve sofrer a interferência tubular, como secreção ou reabsorção⁴. Entretanto, os métodos disponíveis para determinação da TFG nem sempre preenchem todos esses requisitos.

Este é o caso da quantificação da creatinina sérica, pois a sua concentração sofre influência da idade, sexo, estado nutricional, massa muscular e utilização de medicamentos, o que o torna um estimador ineficaz em algumas situações⁷. Apesar da quantificação da creatinina

sérica não ser o melhor teste diagnóstico para a detecção precoce da IRA, ele ainda é o teste padrão laboratorial mais utilizado na rotina clínica, pois sua análise é muito barata e a molécula mostra boa estabilidade química².

Em decorrência da ineficácia da creatinina em detectar precocemente a IRA, é imperativo encontrar biomarcadores que possam estadiar corretamente o grau de lesão renal e o risco de desenvolver doença renal crônica (DRC). São considerados biomarcadores emergentes em nefrologia humana: lipocaína associada à gelatinase neutrofílica (NGAL), interleucina-18, molécula de injúria renal-1 (KIM-1), cistatina C, proteínas de ligação de ácidos graxos (L-FABP), N-acetil- β -d-glucosaminidase (NAG), netrina-1, vanina-1 e peptídeo-1 quimiotático para monócitos (MCP-1) e SDMA².

Dentre estes marcadores a cistatina C tem sido apontada como uma alternativa principalmente na detecção da IRA, pois tem se revelado um biomarcador precoce e preciso e, em populações selecionadas, mostrou-se superior à creatinina em alguns estudos⁴. Para cães a cistatina C sérica também é um biomarcador confiável, não sofre influência de fatores extrarrenais e é de rápida execução⁸.

Alguns estudos têm sido realizados na medicina veterinária utilizando a cistatina C como biomarcador da injúria renal⁸⁻¹³. Somente um desses estudos⁹ não indicou a cistatina C como adequado biomarcador da IRA. A cistatina C deve ser submetida a mais pesquisas, pois são inúmeras as possíveis causas de divergências nos resultados obtidos nos diferentes estudos⁹.

Diante dessas lacunas, com o presente estudo objetivou avaliar a eficácia da cistatina C como biomarcador na injúria tubular aguda e na doença renal crônica em cães.

2. Materiais e métodos

O estudo foi dividido em duas etapas. Uma etapa constituiu-se na mensuração da cistatina C sérica em cães com doença renal crônica. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFG (CEUA/UFG) e registrado sob número 072/2013. A outra etapa constituiu-se na mensuração da cistatina C sérica em cães com injúria renal aguda, com a aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFG sob o protocolo número 007/2013. Ambos delineamentos experimentais obedeceram aos preceitos estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório.

2.1. Grupo doença renal crônica

Os cães que compuseram o grupo doença renal crônica (G_{DRC}) eram pertencentes a tutores (domiciliados), que após triagem por veterinários do HV-UFG e de outras clínicas da cidade de Goiânia foram conduzidos ao Ambulatório de Pesquisa em Nefrologia do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (HV-UFG), na cidade de Goiânia.

Foram avaliados 54 cães de ambos os sexos com idades variadas, divididos de acordo com o estadiamento IRIS. Foi utilizado como critério de inclusão a presença de azotemia (creatinina sérica $>1,4\text{mg/dL}$).

O grupo DRC foi subdividido em três subgrupos: IRIS 2 - composto por nove animais com creatinina sérica entre 1,5 e 2,0 mg/dL. IRIS 3 - composto por 21 cães com creatinina sérica entre 2,1 e 5,0 mg/dL. IRIS 4 - composto por 24 cães com creatinina sérica acima de 5,0 mg/dL.

Como não existiu grupo controle no G_{DRC} , utilizou-se como “valor controle” a estimativa dos limites de referência que foi realizada utilizando os resultados dos cães do estudo com IRA. Para tanto avaliou-se os resultados dos cães do grupo controle (6 animais com 23 repetições por animal = 138 valores) e dos momentos basais (6 animais com 3 repetições por animal = 18 valores) dos cães do grupo indução (G_{IRA}). Estes valores foram submetidos à distribuição de Gauss e retirados os *outliers*, adotando o percentil de 0,025 e 0,975. Posteriormente, a média aritmética e o desvio padrão foram realizados e definido o intervalo de referência como a média mais ou menos dois desvios padrões. Esta metodologia foi descrita por Braun et al.¹² e por Kaneco et al.¹⁴.

2.2. Grupo controle e grupo IRA

Os cães que compuseram o grupo injúria renal aguda (G_{IRA}) e grupo controle (G_C) eram oriundos do Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura de Goiânia. Essa etapa foi conduzida no canil experimental do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (HV-UFG).

O G_{IRA} foi composto por seis cães adultos, machos, saudáveis, sem raça definida (SRD), de diferentes idades que variava entre um e sete anos. A injúria renal foi induzida com 30mg/kg do fármaco gentamicina (Pangran® 10%, Virbac, São Paulo - SP), administrado por via subcutânea, uma vez ao dia, durante dez dias.

O G_C foi composto por seis cães clinicamente saudáveis, machos, SRD, de diferentes idades, que variava entre um e sete anos. Os animais que apresentaram enfermidades pré-existent e doenças de origem renal foram excluídos do experimento.

Para os animais do G_C, foi aplicada solução fisiológica NaCl 0,9% como placebo por via subcutânea, uma vez ao dia, durante dez dias, nos mesmos volumes do G_{IRA}.

O experimento teve duração de 48 dias com 21 momentos de avaliação, sendo a primeira avaliação considerada como o momento zero (M0) onde se definiram os parâmetros basais. Para isso, foram colhidas três amostras de sangue e urina de cada animal, com intervalo de 24 horas entre as colheitas e utilizada sua média aritmética como valor basal, sendo considerado o momento zero (M0).

A indução da injúria renal se iniciou 24 horas antes do momento um (M1). Nos momentos 1 a 10 (M1 a M10) as amostras de sangue foram colhidas diariamente. Nos momentos 11 a 15 (M11 a M15), as amostras de sangue foram colhidas em intervalos de 48 horas. Nos momentos 16 a 20 (M16 ao M20), as amostras de sangue foram colhidas em intervalos de cinco dias.

2.3. Análise da Cistatina C sérica

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório Multiusuário do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG.

Foram colhidos 2,0 mL de sangue por venopunção jugular em tubo sem anticoagulante, que foi centrifugado após retração do coágulo. Em seguida, o soro foi dividido em alíquotas, armazenado em microtubos de polipropileno e submetido ao congelamento (-20° C) até o momento da realização dos exames.

Para a análise da cistatina C sérica foi realizado ensaio imunoturbidimétrico utilizando reagente comercial padronizado Randox® (Randox Laboratories Ltd., Antrim, Reino

Unido) sendo a leitura realizada em espectrofotômetro automático (Analisador Bioquímico Automático CM200®, Winerlab, Rosário, Argentina).

2.4. Análise estatística

Após a tabulação dos dados foram aplicados o teste de Bartlett para avaliação da homogeneidade de variâncias e o teste de Shapiro-Wilk para verificação de normalidade.

Foram aplicados os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis, para comparação dos momentos dentro de cada grupo e de Wilcoxon Mann-Whitney, para comparação entre os grupos dentro de cada momento. Adotou-se o nível de significância de 5%. Todos os testes foram calculados por meio do *software* estatístico R[®] (The R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria).

3. Resultados e discussão

3.1. Grupo DRC (G_{DRC})

Os valores de cistatina C sérica (CIS-C) nos cães do grupo controle não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os diferentes momentos. Devido aos diversos valores de referência relatados na literatura, optou-se por utilizar os resultados obtidos nos cães no M0 no estudo da IRA. Os valores variaram de 0 a 0,99 mg/L, a média foi de 0,35 mg/l e o desvio padrão foi de 0,21 mg/l. Portanto o limite superior de referência do grupo controle determinado pela média mais duas vezes o desvio padrão foi de 0,78 mg/L.

Os valores de CIS-C relatados para cães saudáveis são variados¹⁵. Neste estudo, os valores médios observados no grupo controle foram inferiores aos relatados por outros autores que utilizaram ensaio imunoturbidimétrico^{10,12,16}. Entretanto, valores inferiores aos observados neste estudo foram relatados por Waki¹⁷.

Os valores de CIS-C observados nos cães com DRC estão descritos na Tabela 1 e houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o G_C e os grupos IRIS 3 e IRIS 4.

A CIS-C não foi eficiente em detectar a doença renal crônica em cães nos estádios iniciais da doença. Nos estádios mais avançados mostrou baixa eficiência em diagnosticar cães

com DRC, apresentando elevações somente em 14% e 29% dos cães nos estádios IRIS 3 e IRIS 4, respectivamente.

TABELA 1 - Valores de média, mediana, desvio padrão (S), coeficiente de variação (CV), intervalo de confiança (IC) e porcentagem de animais com valor acima da referência de cistatina C sérica nos cães dos grupos G_C, IRIS 2, IRIS 3 e IRIS 4.

	Média (mg/L)	Mediana	S	CV	IC	% animais ≥ 0,79
G_C	0,35 ^a	0,31	0,21	0,60	0,14 - 0,55	0 (0/6)
IRIS 2	0,38 ^{ab}	0,32	0,24	0,63	0,14 - 0,62	0 (0/9)
IRIS 3	0,57 ^b	0,56	0,30	0,52	0,27 - 0,87	14% (3/21)
IRIS 4	0,55 ^b	0,44	0,39	0,71	0,16 - 0,93	29% (7/24)

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05)

Existem vários estudos a respeito da eficiência da CIS-C como marcador precoce de DRC em humanos¹⁸⁻²¹, entretanto dois deles mostraram que a CIS-C não apresentou vantagens diagnóstica em pacientes com DRC avançada^{22,23}.

Na medicina veterinária, a eficiência da CIS-C no diagnóstico da DRC tem sido controversa e os valores de cistatina C relatados são variados.

Miyagawa et al.²⁴ observaram valores maiores em cães doentes renais crônicos ($1,23 \pm 0,21$ mg/L) comparados aos cães saudáveis ($0,85 \pm 0,15$ mg/L), valores superiores do que os encontrados neste estudo. Jensen et al.¹⁶ observaram valores médios superiores em cães com doença renal (5,01 mg/L) comparados a cães saudáveis (1,06 mg/L) e cães com doenças de origem extrarenal (1,62 mg/L).

Antognoni et al.⁸ relataram valores médios de CIS-C em cães com azotemia renal de moderada a grave de 0,89 mg/L, em ensaio nefelométrico, superiores aos encontrados neste estudo, que utilizou imunoturbidimetria. Cabe salientar que a técnica nefelométrica resulta em valores mais baixos do que os obtidos em ensaios imunoturbidimétrico³.

Resultados semelhantes aos observados neste estudo foram relatados por Rodrigues⁹, que observou baixa eficiência da CIS-C no diagnóstico da DRC nos estádios iniciais da disfunção renal (8,7%) e frequências maiores de elevação de CIS C nos cães dos estádios mais avançados (37,5% e 52,2% para IRIS 3 e IRIS 4, respectivamente). Em outro estudo Waki¹⁷ observou maiores frequências de CIS-C em cães com DRC do que neste estudo,

porém a CIS-C sérica elevou-se somente em 20%, 40% e 66% dos cães com DRC nos estádios 1, 2 e 3 respectivamente, demonstrando que houve aumento da cistatina C à medida que a TFG diminuiu, entretanto a CIS-C não foi eficiente no diagnóstico precoce da DRC em estádios iniciais.

Em estudo em humanos Keevil et al.²⁵ observaram que a CIS-C possui alta variabilidade intraindividual, sendo menos eficiente do que a creatinina sérica em detectar alterações em análises seriadas em indivíduos com doença renal estabelecida. Estes autores atribuíram o uso da CIS-C como um teste de rastreio para detecção de pequenas mudanças da TFG em estádios iniciais da DRC, o que não foi observado nos resultados do presente estudo.

Apesar da elevação da CIS-C ter ocorrido em alguns cães dos estádios IRIS 3 e 4, a sua sensibilidade foi baixa, não justificando seu uso na rotina clínica veterinária.

3.2. Grupo IRA (G_{IRA})

Os valores médios de CIS-C nos cães do G_{IRA} não diferiram entre os grupos em nenhum momento ($p > 0,05$) (Figura 1).

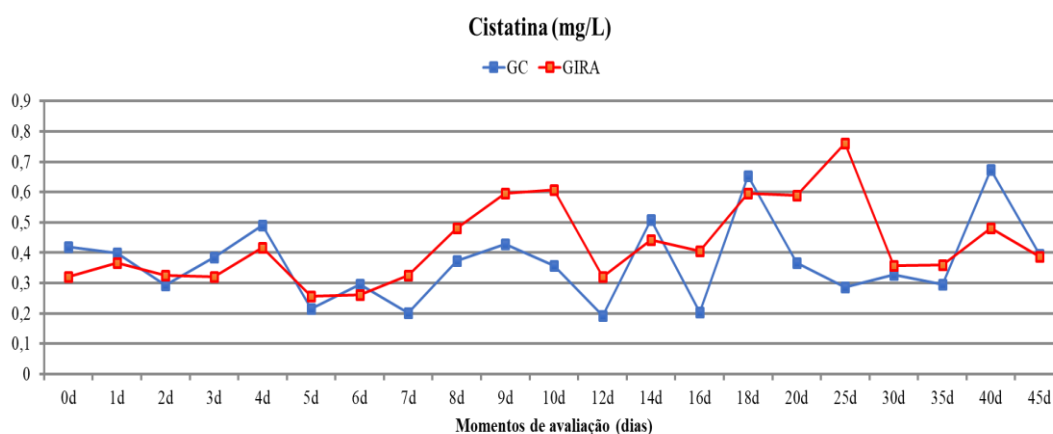


FIGURA 1 - Valores médios de Cistatina C de acordo com os momentos de avaliação dos cães do grupo sem lesão renal (G_C) e dos cães do grupo indução renal (G_{IRA}).

Neste trabalho a CIS-C não foi eficiente em detectar a IRA em cães. Na Medicina Veterinária, estudos que avaliam a utilidade da CIS-C em detectar IRA em cães e gatos são escassos. Almy et al.²⁶ não observaram elevações de CIS-C em cães com IRA intrínseca e IRA

pré-renal por depleção de volume, não sendo um indicador sensível de diminuição da TFG nesses casos.

Quando se trata da eficiência da CIS-C como preditor da IRA em humanos, os resultados são controversos. Royakkers et al.²⁷ em estudo em pacientes humanos com IRA internados na Unidade de Terapia Intensiva, não observou eficiência da CIS-C em prever a IRA e a necessidade de terapia de substituição renal. Young et al.²⁸ em estudo de meta-análise em humanos relataram que a CIS-C foi um bom marcador diagnóstico em prever a IRA de diferentes causas. Resultados diferentes foram relatados por Herget-Rosenthal et al.²⁹ em estudo com 85 pacientes humanos que possuíam alto risco de desenvolver IRA, e detectaram elevações da CIS-C dois dias antes das elevações da creatinina sérica.

De acordo com esses resultados fica claro que mais estudos a respeito do uso da CIS-C em cães devem ser realizados. Pagitz et al.¹⁰ afirmaram que ao contrário do que acontece em humanos, os componentes de variação biológica da CIS-C podem impedir que este parâmetro seja altamente superior para detecção da redução da TFG. Além disso, o desenvolvimento de reagentes que utilizem anticorpos a CIS-C canina podem fornecer resultados mais concretos a respeito de sua eficiência como marcador indireto da TFG em cães.

4. Conclusão

A cistatina C sérica não é um bom indicador da DRC e da IRA em cães, principalmente em estádios iniciais. Sua aplicabilidade é questionável tanto no diagnóstico da DRC quanto da injúria renal aguda em cães, tornando seu uso desvantajoso já que o custo é mais oneroso do que as outras ferramentas laboratoriais utilizadas na rotina clínica.

Referências

1. Waki MF, Martorelli CR, Mosko PE, Kogika MM. Classificação em estádios da doença renal crônica em cães e gatos - abordagem clínica, laboratorial e terapêutica. *Ciência Rural*. 2010;40(10):2226-34.
2. Peres LAB, Júnior ADC, Schäfer AJ, Silva AL, Gaspar AD, Scarpari DF, Alves JBF, Neto RG, Oliveira TFT. Biomarcadores da injúria renal aguda. *J Bras Nefrol*. 2013;35(3):229-236.
3. Prates AB, Amaral FB, Vacaro MZ, Gross JL, Camargo JL, Silveiro, SP. Avaliação da filtração glomerular através da medida da cistatina c sérica. *J Bras Nefrol*. 2007;29(1):48-

- 55.
4. Gabriel IC, Nishida SK, Kirsztajn GM. Cistatina c sérica: uma alternativa prática para avaliação de função renal. *J Bras Nefrol.* 2011;33(2):261-67.
5. Novo ACACF. Evolução dos níveis séricos de cistatina c em recém-nascidos de termo no primeiro mês de vida. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina;2009.
6. Neri LAL, Mendes ME, David-Neto E, Sumita NM, Medeiros FS. Determinação de cistatina C como marcador de função renal. *J Bras Patol Med Lab.*2010;46(6):443-453.
7. Macedo E. Biomarcadores na injúria renal aguda [online]. In: Abensur H, editor. Biomarcadores na Nefrologia. São Paulo: Sociedade Brasileira de Nefrologia; 2011. 2:19-34. [acesso 10 out 2016]. Disponível em: <http://arquivos.sbn.org.br/pdf/biomarcadores.pdf>.
8. Antognoni MT, Siepi D, Porciello F, Fruganti G. Use of serum cistatin c determination as a marker of renal function in the dog. *Vet Res Commun.* 2005;29(2):265-7.
9. Rodrigues RD. Estudo das alterações hematológicas e urinárias em cães em diferentes estádios de disfunção renal e avaliação do biomarcador cistatina C. [Dissertação]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia; 2016.
10. Pagitz M, Frommlet F, Schwendenwein I. Evaluation of Biological Variance of Cystatin C in Comparison With Other Endogenous Markers of Glomerular Filtration Rate in Healthy Dogs. 2007;936–42.
11. Pasa S, Bayramli G, Atasoy A, Karul A, Ertug S, Toz SO. Evaluation of serum cystatin-C in dogs with visceral leishmaniasis. 2009;529–34.
12. Braun JP, Perxachs A, Pechereau D, De La Farge F. Plasma cystatin C in the dog: reference values and variations with renal failure. *Comp Clin Path.* 2002;11:44-9.
13. Antognoni MT, Siepi D, Porciello F, Rueca F, Fruganti G. Serum cystatin-C evaluation in dogs affected by different diseases associated or not with renal insufficiency. *Vet Res Commun.* 2007;31(1)269-271.
14. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical biochemistry of domestic animals. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.
15. Ghys L, Paepe D, Smets P, Lefebvre H, Delanghe J, Daminet S. Cystatin C: a new renal marker and its potential use in small animal medicine. *J Vet Intern Med.* 2014;28:1152-64.
16. Jensen AL, Bomholt M, Moe L. Preliminary evaluation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay (PETIA) for the determination of serum cystatin C- like immunoreactivity in dogs. *Vet Clin Pathol.* 2001;30:86-90.
17. Waki MF. Estudo da progressão da doença renal crônica em cães, segundo a classificação em estádios, pela avaliação sequencial da proteinúria pela eletroforese de proteínas

urinárias e determinação de albuminúria. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina;2013.

18. Okay TS. Cistatina c: um novo marcador de função renal em crianças. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2002;48(2):112-13.
19. Sarkar PD, Rajeshwari G, Shivaprakash TM. Cystatin c - a novel marker of glomerular filtration rate: a review. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2005;20(1):139-144.
20. Uzun H, Keles MO, Ataman R, Aydin S, Kalender B, Uslu E, Simsek G, Halac M, Kaya S. Serum cystatin C level as a potentially good marker for impaired kidney function. *Clinical Biochemistry*. 2005;38:792-798.
21. López Gómez JM, Sacristán Enciso B, Micó M, Arias Meneses F, Sande Medel F, Alejo S. Cistatina C sérica y microalbuminuria en la detección del daño vascular y renal en estadios precoces, em pacientes de riesgo sin enfermedad renal crónica. *Nefrol*. 2011;31(5):560-6.
22. Schück O, Teplan V, Jabor A, Stollova M, Skibova J. Glomerular filtration rate estimation in patients with advanced chronic renal insufficiency based on serum cystatin C levels. *Nephron Clin Pract*. 2003;93(4):146-51.
23. Horio M, Imai E, Yasuda Y, Watanabe T, Matsuo S. Performance of serum cystatin C versus serum creatinine as a marker of glomerular filtration rate as measured by inulin renal clearance. *Clin Exp Nephrol*. 2011;15(6):868-76.
24. Miyagawa Y, Takemura N, Hirose H. Evaluation of the measurement of serum cystatin C by an enzyme-linked immunosorbent assay for humans as a marker of the glomerular filtration rate in dogs. *J. Vet. Med. Sci*. 2009;71(9):1169–1176.
25. Keevil BG, Kilpatrick ES, Nichols SP, Maylor PW. Biological variation of cystatin C: implications for the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chem*. 1998;44(7):1535-39.
26. Almy FS, Christopher MM, King DP, Brown SA. Evaluation of cystatin C as an endogenous marker of glomerular filtration rate in dogs. *J Vet Intern Med*. 2002;16:45–51.
27. Royakkers AANM, Korevaar JC, Suijlen JDE, Hofstra LS, Kuiper MA, Spronk PE, Schultz MJ, Bouman CS. Serum and urine cystatin c are poor biomarkers for acute kidney injury and renal replacement therapy. *Intensive Care Med*. 2011;37:493-501.
28. Yong Z, Pei X, Zhu B, Yuan H, Zhao W. Predictive value of serum cystatin C for acute kidney injury in adults: a meta-analysis of prospective cohort trials. *Sci Rep*. 2017;7:1-11.
29. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Goring F, Pietruck F, Janssen O, Philipp T, Kribben A. early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int*. 2004;66:1115-22.

Anexo

TABELA 1 – Média e desvio padrão dos valores de cistatina C sérica de acordo com os momentos (M) de avaliação dos cães do grupo Controle e dos cães do grupo IRA

M	Cistatina C (mg/L)	
	Controle (n=6)	IRA (n=6)
0	0,42±0,14 ^{Aa}	0,32±0,17 ^{Aa}
1	0,40±0,08 ^{Aa}	0,37±0,25 ^{Aa}
2	0,29±0,18 ^{Aa}	0,33±0,11 ^{Aa}
3	0,39±0,08 ^{Aa}	0,32±0,21 ^{Aa}
4	0,49±0,26 ^{Aa}	0,42±0,20 ^{Aa}
5	0,22±0,13 ^{Aa}	0,26±0,14 ^{Aa}
6	0,30±0,13 ^{Aa}	0,26±0,09 ^{Aa}
7	0,20±0,10 ^{Aa}	0,33±0,15 ^{Aa}
8	0,37±0,18 ^{Aa}	0,48±0,17 ^{Aa}
9	0,43±0,32 ^{Aa}	0,60±0,17 ^{Aa}
10	0,36±0,14 ^{Aa}	0,61±0,55 ^{Aa}
11	0,19±0,06 ^{Aa}	0,32±0,19 ^{Aa}
12	0,51±0,45 ^{Aa}	0,44±0,34 ^{Aa}
13	0,20±0,16 ^{Aa}	0,41±0,23 ^{Aa}
14	0,65±0,59 ^{Aa}	0,60±0,57 ^{Aa}
15	0,37±0,12 ^{Aa}	0,59±0,37 ^{Aa}
16	0,29±0,31 ^{Aa}	0,76±0,47 ^{Aa}
17	0,33±0,19 ^{Aa}	0,36±0,27 ^{Aa}
18	0,30±0,05 ^{Aa}	0,36±0,15 ^{Aa}
19	0,67±0,30 ^{Aa}	0,48±0,20 ^{Aa}
20	0,39±0,33 ^{Aa}	0,39±0,29 ^{Aa}

Momentos: 0 – parâmetros basais, 1 a 10 – indução da lesão renal, 11 a 20 – regressão da lesão renal

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$) e letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p<0,05$)

CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

A melhoria na qualidade de vida em decorrência de alimentações específicas e balanceadas para cães, a prevenção de doenças infectocontagiosas e melhores cuidados pelos tutores proporcionaram aumento na expectativa de vida dos cães. Consequentemente, a incidência de doenças renais aumentaram pois apresentam maior ocorrência em animais idosos.

Diante disto, a avaliação da função renal é de extrema importância em cães. Sabe-se que a injúria renal aguda e a doença renal crônica (DRC) são uma das principais causas de morbidade e mortalidade em cães. A doença renal crônica possui evolução insidiosa, o que dificulta o diagnóstico precoce e medidas terapêuticas eficazes no manejo do paciente. A injúria renal aguda possui evolução rápida e se não tratada imediatamente culmina com óbito do paciente.

As doenças renais ocorrem em grande parte secundariamente a um processo patológico e o agente etiológico nem sempre é removido o que torna o tratamento restrito às alterações apresentadas e ao suporte do paciente.

Portanto, o manejo das doenças renais ainda é um dos grandes desafios para os clínicos veterinários. Mesmo diante de diversos exames laboratoriais disponíveis, ainda nos deparamos com diagnósticos realizados tardiamente, em parte devido à inacessibilidade dessas ferramentas, como por exemplo, os biomarcadores que possuem custo oneroso e que ainda são restritos à pesquisa, e por outro lado devido à falta de conscientização do tutor em realizar exames periódicos, já que a maioria dos cães atendidos já apresentam a doença renal em estágios avançados. Neste estudo, a casuística de cães com DRC foi maior nos estágios mais avançados da doença, corroborando com a afirmação citada anteriormente. Infelizmente, nesses estágios o tratamento não apresenta bons resultados e aqui enfatizamos novamente a importância da realização do diagnóstico quando há pequenas perdas de função renal, para que o manejo conservativo proporcione melhor qualidade de vida ao paciente.

Há uma série de exames laboratoriais que são acessíveis e que auxiliam o clínico na condução do melhor protocolo terapêutico. A creatinina sérica é o principal marcador de função renal utilizado na rotina clínica e têm exercido função no acompanhamento do paciente que já apresenta insuficiência, pois sua elevação dá-se somente quando mais de 75% da função renal está comprometida.

Assim, torna-se necessário utilizar-se de ferramentas que possibilitem o diagnóstico mais precoce, a fim de evitar grandes perdas da função renal.

Os biomarcadores de função renal são exames mais onerosos e sua utilização ainda restringe-se à pesquisa. Neste estudo tivemos grandes dificuldades em importar o kit de cistatina C. O custo oneroso do kit dificulta a sua comercialização e devido a isso houve atraso na condução do experimento.

Em humanos, a cistatina C é fundamentada como biomarcador de função renal. Sua utilização na medicina veterinária ainda é escassa e os estudos apresentam resultados divergentes. Por esse motivo ela foi objeto de nosso estudo, a fim de esclarecer sua eficiência em detectar lesão renal em cães. No presente estudo, a cistatina C não foi eficiente no diagnóstico da injúria renal aguda e da doença renal crônica em cães. Novos estudos são necessários quanto ao uso desse biomarcador de função renal para que seja validado na Medicina Veterinária.

A perspectiva para o futuro é que o uso de biomarcadores específicos de função renal sejam incluídos na rotina clínica. Pesquisas em andamento sugerem que novos biomarcadores como NGAL (gelatinase neutrofílica associada à lipocalina) e SDMA (dimetilarginina simétrica) sejam marcadores eficientes de função renal em cães, assim como têm sido demonstrado em humanos.

Por outro lado, existem ferramentas de diagnóstico que são fáceis de serem realizadas e que possuem baixo custo. Os resultados deste estudo comprovaram que ferramentas laboratoriais como a GGT urinária e a excreção fracional de eletrólitos auxiliam o médico veterinário na detecção da injúria renal de maneira mais precoce do que a creatinina e a ureia. Por serem exames de baixo custo e de fácil realização, sua implementação na rotina clínica não possui limitações.

ANEXOS

ANEXO A

Ficha de anamnese e exame clínico

Identificação do proprietário

Nome do proprietário: _____

Endereço: _____

Cidade: _____

Telefone: _____

Identificação do animal

Nome: _____

Sexo: _____

Idade: _____

Raça: _____

Porte: _____

Peso: _____

Aspectos gerais

Qual o motivo da consulta?

Qual a queixa principal?

O animal passa por algum tipo de tratamento?

O animal apresentou algum tipo de doença nos dois últimos anos?

O animal apresenta alterações de comportamento?

O animal aumentou a ingestão de água?

O animal alimenta-se normalmente? Qual o tipo de alimentação?

Houve alteração na frequência de micção?

Houve alteração no volume de urina produzido?

O animal sente dor ao urinar?

Qual a coloração da urina?

Exame físico

Pele e pêlos:_____

Turgor cutâneo:_____

Linfonodos:

Sub-mandibulares:_____

Pré-escapulares:_____

Poplíteos:_____

Mucosas:_____

TPC:_____

Cavidade oral:_____

Olhos:_____

Frequência respiratória:_____

Tipo de movimento respiratório:_____

Auscultação pulmonar:_____

Frequência cardíaca:_____

Auscultação cardíaca:_____

Pulso:_____

Palpação abdominal e renal:_____

Temperatura:_____

ANEXO B

Parâmetros de referência das variáveis hematológicas em cães sadios

Variáveis		Unidade	Caninos
Hematócrito		%	37-55
Eritrócitos		$10^6/\mu\text{L}$	5,5-8,5
Hemoglobina		g/dL	12-18
VCM		fL	60-77
HCM		g/dL	19,5-24,5
CHCM		%	32-36
Reticulócitos		%	0-1,5
Plaquetas		$10^3/\mu\text{L}$	170-500
Leucócitos		$10^3/\mu\text{L}$	6-17
Bastonetes	Relativo	%	0-3
	Absoluto	$/\mu\text{L}$	0-300
Segmentados	Relativo	%	60 – 77
	Absoluto	$/\mu\text{L}$	3000 – 11500
Linfócitos	Relativo	%	12-30
	Absoluto	$/\mu\text{L}$	1000 – 4800
Monócitos	Relativo	%	3-10
	Absoluto	$/\mu\text{L}$	150 – 1350
Eosinófilos	Relativo	%	2-10
	Absoluto	$/\mu\text{L}$	100 – 1250
Basófilos	Relativo	%	Raros
	Absoluto	$/\mu\text{L}$	Raros

Fonte: JAIN²¹

ANEXO C

Parâmetros de referência do perfil bioquímico sanguíneo em cães saudáveis

Variáveis	Valores de referência
Proteínas totais (g/dL)	6,9 – 8,3*
Albumina (g/dL)	2,8 – 4,0*
Globulina (g/dL)	3,2 – 5,3*
Cistatina (g/L)	0,29 – 0,91**
Creatinina (mg/dL)	1,0 – 1,4*
Ureia (mg/dL)	27,8 – 52,6*
Cálcio (mg/dL)	9,8 – 12,5*
Fósforo (mg/dL)	3,3 – 4,5*
Colesterol (mg/dL)	135 – 270
Fibrinogênio (mg/dL)	100 – 500
Sódio (mmol/L)	128,8 - 145,6*
Potássio (mmol/L)	3,9 – 4,6*
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	18 – 24
pH	7,31 – 7,42
BE	0 a -4

Fonte: **Braun et al.¹²; *Ferreira²⁵; Kaneko et al.¹³

ANEXO D

Parâmetros de referência da urinálise em cães saudáveis

Variáveis	Valores de referência
Densidade	1,015 – 1,050 > 1,030 (urina da manhã antes das refeições e ingestão hídrica)
pH	5 – 7,5
Proteínas	Negativa, traços +: densidade 1,040 – 1,050 ou ++:densidade >1,060
Glicose	Ausente
Sangue	Ausente a traços
Cilindros (p/c)	Hialinos: 0 - 2 Granulosos: 0 - 1 Celulares: ausentes
Células epiteliais (p/c)	Descamativas: 0 a poucas Transição: 0 a poucas Caudadas: nenhuma
Hemácias (p/c)	Micção natural: 0 – 8 Cateterismo uretral: 0 – 5 Cistocentese: <10
Leucócitos (p/c)	Micção natural: <10 Cateterismo uretral: <7 Cistocentese: <3
Bactérias (p/c)	Micção natural: raras Cateterismo uretral: raras Cistocentese: nenhuma

Fonte: Chew et al. (2011)

ANEXO E

Parâmetros de referência do perfil eletroforético sérico em cães sadios

Variáveis	Valores de referência
Albumina (g/dL)	2,60 – 3,30
Globulina Total (g/dL)	2,89 – 3,91
α_1 globulina (g/dL)	0,20 – 0,50
α_2 globulina (g/dL)	0,30 – 1,10
β_1 globulina (g/dL)	0,70 – 1,30
β_2 globulina (g/dL)	0,60 – 1,40
γ globulina (g/dL)	0,90 – 2,20
Relação A/G	0,59 – 1,11

Fonte: Kaneko et al.¹³

ANEXO F

Parecer do comitê de ética



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Goiânia, 10/06/2013.

ATENDIMENTO DE PENDÊNCIAS

PROTOCOLO Nº: 007/13

I - Finalidade do projeto (pesquisa/ensino)
PROJETO DE PESQUISA

II - Identificação:

☐ **Título do projeto:**
Biomarcadores no diagnóstico da doença renal em cães: microalbuminúria e cistatina c

☐ **Pesquisador Responsável:**
o Saura Nayane de Souza – EVZ/UFG

☐ **Pesquisadores Participantes:**

Nome	Instituição	Formação Básica	Titulação	Função na Pesquisa
Saura Nayane de Souza	UFG	Veterinária	Mestrado	Doutorado da PPGCA/EVZ/UFG
Maria Clorinda Soares Fioravanti	UFG	Veterinária	Pós-doutorado	Orientadora
Adilson Donizeti Damasceno	UFG	Veterinária	Doutorado	Comitê de orientação
Naida Cristina Borges	UFG	Veterinária	Doutorado	Comitê de orientação

☐ **Instituição onde será realizado:**
Escola de Veterinária e Zootecnia - Universidade Federal de Goiás.

☐ **Data de apresentação ao CEUA:** 08/02/2013

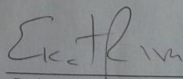
☐ **Data do relato:** 18/02/2013

☐ **Data do atendimento de pendência:** 22/04/2013

III - Parecer do CEUA:
Após análise foi verificado que todas as pendências foram contempladas, desta forma, consideramos o projeto **APROVADO**, s.m.j. deste Comitê.

Informação aos pesquisadores:
Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar à CEUA-PRPPG-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de 08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para conclusão em 31/03/2015.

V - Data da reunião: 10/06/2013



Profª. Drª. Ekaterina Akimovna B. Rivera
Coordenadora do CEUA/PRPPG/UFG
Profª. Ekaterina Akimovna B. Rivera
Coordenadora do Conselho de Ética no Uso de Animais
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação / UFG

Prédio da Reitoria - Térreo - Campus II - CEP-74001-970 - Goiânia-GO - Fones: 0 XX62 3521-1076 - Fax: 3521-1163
Homepage: www.prppg.ufg.br - E-mail: prppg@prppg.ufg.br

ANEXO G

Termo de consentimento livre e esclarecido ao tutor do animal

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO AO TUTOR DO ANIMAL

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, de uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir e, caso aceite participar do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra do pesquisador responsável. Se recusar não será penalizado de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Goiás, pelo telefone (62)3521-1215.

Título da Pesquisa: Quelantes de fósforo na redução da hiperfosfatemia em cães com doença renal crônica

Pesquisadores: LaylaLivia de Queiroz – CRMV 5946 e Profª. Drª. Maria Clorinda Soares Fioravanti; telefones: (62) 81610347

Esta pesquisa tem como principal objetivo avaliar a eficiência do cloridrato de sevelamer na redução da hiperfosfatemia em cães com doença renal crônica, sem custos aos proprietários dos cães selecionados. O exame clínico consistirá no exame físico completo, em que todos os dados serão anotados em ficha clínica específica ao experimento. Para realização dos exames laboratoriais, há necessidade de jejum alimentar de 12 horas. Serão realizadas colheitas de sangue, pela punção da veia jugular e cefálica, e de urina, por cistocentese (punção da bexiga através do abdome). No laboratório serão realizados os seguintes exames: hemograma, exame de urina bioquímica sérica, bioquímica urinária e hemogasometria. Para a ultrassonografia abdominal, os cães serão tricotomizados (raspagem dos pêlos) no abdome. Será verificada a pressão arterial com o aparelho de Doppler. O acompanhamento dos cães selecionados será realizado mensalmente. Nesses dias, pré-determinados, o proprietário deverá colaborar e levar seu cão à clínica veterinária estipulada pelo pesquisador. O principal resultado esperado dessa pesquisa é a possibilidade de escolha do quelante de fósforo intestinal mais adequado para cães com doença renal crônica com a finalidade de promover bem-estar e aumentar o tempo de vida desses cães. Como o cão doente renal crônico deve ser monitorado periodicamente, independente da pesquisa, a grande vantagem para o proprietário e também para seu animal em participar desse experimento é que estes cães serão constantemente avaliados, podendo-se fazer ajustes na terapia ou também detectar precocemente complicações que poderão ser reversíveis, caso tratadas a tempo. **A pesquisa não gerará dor ou riscos ao animal, pelo contrário contribuirá para o seu bem-estar. O proprietário tem a garantia de sigilo nas informações obtidas, bem como o direito de retirar o consentimento a qualquer tempo, sem qualquer problema ou retaliações de qualquer natureza.**

Assinatura da Pesquisadora: _____.

Eu, _____, RG _____ CPF _____, abaixo assinado e proprietário do cão de nome _____, raça, _____, e idade _____, concordo que o mesmo participe do estudo “Quelantes de fósforo na redução da hiperfosfatemia em cães com doença renal crônica”, como sujeito. Estou ciente e fui devidamente informado e esclarecido, pela pesquisadora LaylaLivia de Queiroz, sobre a pesquisa, os procedimentos envolvidos, assim como os riscos e benefícios decorrentes da participação de meu animal. Também me foi garantida a retirada de meu consentimento a qualquer momento, sem que isso resulte em qualquer penalidade ou retaliação.

Local e data
Assinatura do responsável

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do proprietário do animal em participar.

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores)

1) Nome _____
Assinatura _____

2) Nome _____
Assinatura _____

ANEXO H

Parecer do comitê de ética



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



Goiânia, 17 de março de 2014.

**PARECER CONSUBSTANCIADO REFERENTE AO ATENDIMENTO DE
PENDÊNCIA DO PROTOCOLO Nº. 072/2013**

I. IDENTIFICAÇÃO:

- Título do projeto:** Quelantes de fósforo na redução da hiperfosfatemia em cães com doença renal crônica.
- Pesquisador Responsável:** Layla Livia de Queiroz
- Unidade/Órgão do pesquisador:** Escola de Veterinária e Zootecnia EVZ-UFG
- Pesquisadores Participantes:**

Nome	Instituição	Formação Básica	Titulação Mais Recente	Função na Pesquisa
Maria Clorinda Soares Fioravanti	UFG	Medicina Veterinária	Doutorado	Orientadora
Adilson Donizeti Damasceno	UFG	Medicina Veterinária	Doutorado	Co-orientador
Celina Tie Nishimori Duque	UFG	Medicina Veterinária	Doutorado	Co-orientadora
Saura Nayane de Souza	UFG	Medicina Veterinária	Mestrado	Acompanhamento dos casos clínicos

- Unidade onde será realizado:** Escola de Veterinária e Zootecnia EVZ-UFG
- Data de apresentação do protocolo a CEUA:** 09/12/2013
- Data de Atendimento das Pendências:** 24/02/2014

II - Parecer da CEUA:

Informamos que a *Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA* da Universidade Federal de Goiás, após análise das adequações solicitadas, **Aprovou** o projeto acima referido, e o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes.

O pesquisador responsável deverá encaminhar à CEUA/UFG, relatórios da pesquisa, encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões) de acordo com as recomendações da Resolução n. 01, da Lei 11.794/08. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar à CEUA-PRPPG-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de

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

Parecer do comitê de ética (continuação)



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



08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para conclusão em março de 2015.

III - Data da reunião: 17/03/2014

Dra. Ekaterina Akimovna Botovchenko Rivera
Coordenadora da CEUA/PRPPG/UFG

Profª Ekaterina Akimovna Botovchenko Rivera
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação / UFG

Nome	Instituição	Assinatura	Assinatura	Assinatura
Maria Cristina de Fátima Botovchenko	UFG	Assinatura	Assinatura	Assinatura
Adriana Botovchenko Botovchenko	UFG	Assinatura	Assinatura	Assinatura
Profª Ekaterina Akimovna Botovchenko Rivera	UFG	Assinatura	Assinatura	Assinatura
Profª Ekaterina Akimovna Botovchenko Rivera	UFG	Assinatura	Assinatura	Assinatura

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