



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

**Depuração Plasmática de Creatinina Exógena em Cães Submetidos a
Protocolos Terapêuticos de Quimioterapia**

Ana Sofia Rodrigues Melo Cabral

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Manuela Grave Rodeia
Espada Niza
Doutor António Freitas Duarte
Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier
Félix Lourenço
Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

ORIENTADOR

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier
Félix Lourenço

CO-ORIENTADOR

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

2013

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**Depuração Plasmática de Creatinina Exógena em Cães Submetidos a
Protocolos Terapêuticos de Quimioterapia**

Ana Sofia Rodrigues Melo Cabral

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

ORIENTADOR

Doutora Maria Manuela Grave Rodeia
Espada Niza

Doutora Ana Mafalda
Gonçalves Xavier Félix Lourenço

Doutor António Freitas Duarte

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier

CO-ORIENTADOR

Félix Lourenço

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

2013

LISBOA

"In order to keep a true perspective of one's importance, everyone should have a dog that will worship him and a cat that will ignore him"

Dereke Bruce

DEDICATÓRIA

Às pessoas mais importantes da minha vida: Mami, Papi, Joana, André, Guigui, Maria Rita, Nonô, Guilherme, Carol e Bruno. Ao meu avô e à minha tia Leonor. À minha avó Fátima, que está presente em mim, todos os dias, nas pequenas importantes coisas. À minha avó Zezinha que me ensinou que, apesar dos grandes obstáculos da vida, é possível ser-se feliz. A todos os meus animais de companhia Cocas I, Cocas II, Nero, Freddy e Tobias que com o seu amor incondicional permitiram que esta profissão me escolhesse a mim. Ao meu cão Golias e à minha cadela Dalila, que todos os dias me incentivam a continuar neste caminho.

Aos animais de companhia deste estudo.

A todos os animais.

Agradecimentos

A todos os que me ajudaram a estruturar e enriquecer a minha formação e todos os que acreditaram em mim.

À minha orientadora, Doutora Ana Mafalda Lourenço por ter acreditado neste projeto desde o início e me ter dado o privilégio de fazer parte dele. Pela disponibilidade, orientação prestada nos tempos mais “desorientados” e pelo enorme conhecimento que me transmitiu.

Ao meu Coorientador e, acima de tudo, grande amigo, Dr. Gonçalo Vicente, por teres aceitado a aventura de me orientar. Obrigada pela motivação diária e disponibilidade, mesmo nas alturas mais atribuladas. Obrigada pelo trabalho em equipa, amizade e companheirismo. Por partilhares comigo o amor e dedicação pelos animais. Obrigada por teres tido tanta paciência neste trabalho. Sinceramente, um parágrafo nunca será suficiente... Foi um enorme prazer trabalhar contigo! Don't be a stranger!

À Professora Doutora Berta São Braz pela admiração pessoal e profissional, e um agradecimento muito especial pelo apoio prestado, horas despendidas, e por todo o entusiasmo que depositou na realização deste trabalho. Obrigada por todos os conselhos que me ofereceu ao longo da minha formação académica. Nunca me vou esquecer do que fez por mim. Foi um gosto ser sua aluna.

À Engenheira Adriana Belas pela sua grande ajuda na realização deste estudo e pelos enormes ensinamentos dados no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia. Pela amizade e companheirismo, mesmo em momentos de maior desespero no laboratório. Por nunca me deixar desistir, mesmo quando os resultados eram os menos esperados.

À Paula do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia pela simpatia e palavra amiga sempre presente na realização deste projeto.

Ao Dr. Telmo Nunes, pelo auxílio e disponibilidade prestados no estudo estatístico.

À minha Mami e ao meu Papi que tornaram tudo isto possível. Obrigada por acreditarem em mim e me apoiarem em todas as minhas decisões. Sei que parece um cliché mas vocês são os melhores pais, que alguma vez podia ter.

Aos meus irmãos, Joana e André, por terem estado sempre presentes em todas as etapas da minha vida, por fazerem desta “pita maluca” uma mulher crescida, por tornarem a nossa família única. Obrigada por me terem dado dois (se tudo correr bem três) sobrinhos lindos, e me tirarem o fardo de ser a mais nova da família. Sem vocês seria possível... mas não teria tido piada nenhuma.

Ao meu Gui, porque só ele sabe o que teve de aturar durante esta fase. Foste o meu pilar nos momentos mais difíceis. Obrigada por todo o amor, carinho, paciência e principalmente por fazeres parte da minha vida.

Obrigada Carol e Bruno, por se juntarem a nós e nos tornarem ainda mais únicos.

Ao meu Avô e à minha Tia Leonor pelo amor incondicional que sempre me deram, e por quererem estar sempre presentes na minha vida.

À minha tia Dilinha, tia doida por animais, agradeço-te pela boas recordações que tenho das férias da minha infância, por todo o carinho que sempre partilhamos, mas principalmente por me provares que nesta família tenho a quem sair.

Obrigada à Adélia, ao Ti Tó e ao Joãozinho por me ensinarem, desde muito pequena, que as palavras “família” e “amigos”, muitas vezes são sinónimos, e este é um desses casos.

Ao meu Golias e à minha Dalila, cães mais lindos do mundo, e os melhores companheiros de estudo, que tornam todos os dias, dias mais felizes.

Às minhas babes Ângela, Marlene, Mary, Trícia, e Albinha pela amizade e apoio, que sei com que posso sempre contar. Um especial obrigado a ti, Ângela, minha amiga incondicional por me acompanhares nesta fase atribulada, ouvires os meus desalentos, e aturares o meu pseudónimo mais insuportável. Obrigada pelos momentos de diversão e descontração que me impuseste quando eu mais precisava.

À minha turma dos Açores, a minha pequena grande Família, David Pereira, Edgar Sousa, Gonçalo Basílio, Tânia Sena, Joana Garrido, Cláudia Dias por partilharem tantos e tão bons momentos, que guardo com imensa saudade. Em especial a ti, Porki, porque tu és a voz da minha consciência quando preciso, a voz da minha maluqueira quando me esqueço dela, a voz da minha alegria quando não me lembro de sorrir. Obrigada por me dares tanta força e nunca me deixares desistir. Contigo partilhei, partilho e irei continuar a partilhar, momentos e aventuras inesquecíveis. Como te disse uma vez “a vida são dois dias e o carnaval são só três, por isso enjoy it”.

Às minhas queridas amigas Ana Isabel Filipe e Marta Elias pelo companheirismo e amizade crescentes ao longo desta fase, pela partilha de experiências e pelos desabafos nos momentos mais difíceis, obrigada por tudo.

Ao meu amigo Felipe Almeida por ter integrado, o melhor que conseguiu, o pessoal dos Açores, e pela amizade durante todos estes anos.

À Bé, ao Hugo e à “Trinta porumalinha” por tornarem a minha estadia em Barcelona tão mais colorida. É graças a vocês que guardo com tanta saudade os tempos vividos na cidade da folia.

À equipa Hospitalar da FMV, Professores, Doutores, Auxiliares e enfermeiros. Um muito obrigado a todos os médicos, enfermeiros, auxiliares e funcionários com quem tive o prazer de trabalhar.

Ao Diretor do Hospital Escolar da FMV, Professor Doutor António Ferreira por ter proporcionado as condições de realizar este estudo no Hospital que dirige.

À equipa do centro veterinário Beira-Alta e Castro Daire, Dr. Nelson Loureiro, Dr. Gonçalo Santos, Dra. Joana Ferreira e Dra. Rita Baptista pela oportunidade de trabalhar convosco, e por todos os ensinamentos, dedicação e companheirismo. Foi um prazer trabalhar convosco.

DEPURAÇÃO PLASMÁTICA DE CREATININA EXÓGENA EM CÃES SUBMETIDOS A PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS DE QUIMIOTERAPIA

Resumo

A incidência de lesões oncológicas em animais de companhia tem vindo a aumentar nos últimos anos, devido principalmente a uma maior longevidade dos mesmos. Consequentemente, cada vez mais, animais de companhia são submetidos a protocolos de quimioterapia.

O uso de quimioterapia surge com intuito de induzir a remissão em neoplasias quimiossensíveis, mas também de forma paliativa, apresentando potenciais efeitos secundários nefastos, entre os quais surge a nefrotoxicidade.

O rim é um órgão fundamental, no que toca à eliminação de xenobióticos. Esta eliminação pode acontecer por filtração glomerular, secreção, reabsorção e metabolização a nível tubular. Assim, compreende-se que, ligeiras e discretas alterações em qualquer uma das suas funções possam ter um papel relevante, no que toca à farmacocinética dos fármacos com eliminação/metabolização renal.

A função renal deve ser sempre avaliada, previamente à realização de um protocolo quimioterápico, de modo a condicionar as doses, duração e escolha do fármaco ou mesmo a sua realização. Em Medicina Veterinária, esta avaliação é feita, na grande maioria das vezes, através da medição da concentração de ureia e creatinina séricas e densidade urinária. No entanto, estes parâmetros apenas se encontram alterados quando há perda de pelo menos 65-75% da massa renal funcional.

Por outro lado, estudos em Medicina Humana evidenciam um aumento acentuado na prevalência de insuficiência renal em pacientes oncológicos sendo que, o seu diagnóstico precoce é cada vez mais importante para a instituição de uma terapêutica adequada de forma a diminuir a sua progressão. Este diagnóstico pode ser feito, através da avaliação da taxa de filtração glomerular (TFG), pela depuração de um marcador de filtração, sendo considerado hoje, tanto em Medicina Humana como em veterinária, o método mais preciso na avaliação da função renal.

Com este projeto, pretende-se avaliar a função renal através da determinação da TFG através da depuração plasmática de creatinina exógena em cães submetidos a protocolos quimioterápicos. Foi escolhido este método uma vez que oferece resultados precisos, é pouco dispendioso, rápido e conveniente de medir na clínica de rotina do hospital escolar da FMV.

Palavras-chave: Quimioterapia, nefrotoxicidade, taxa de filtração glomerular, depuração de creatinina exógena, cães

CLEARANCE OF EXOGENOUS CREATININE IN DOGS UNDERGOING THERAPEUTIC CHEMOTHERAPY PROTOCOLS

Abstract

As pets live longer the incidence of oncological diseases have been increased in the last years. Consequently our pets are more and more submitted to chemotherapy protocols.

The use of chemotherapy came to lead the mitigation of chemosensible neoplasias, but also in a palliative way, presenting potential secondary effects, among them, the nephrotoxicity.

The kidney is a fundamental organ because it eliminates xenobiotics and this elimination can occur by glomerular filtration, secretion, reabsorption and tubular metabolism. So we can understand that slight and discreet alterations in each of its functions can have a relevant role in the field of pharmacokinetics of the medicines with renal elimination/metabolization.

The renal function must always be evaluated before a chemotherapy protocol takes place, in order to regulate the dose, duration and choose of the medicine or even its realization. In veterinary medicine, in the great majority, this evaluation is done through the measurement of the BUN and serum creatinine concentration and also the urinary density. However these parameters are only modified when there is a loss of, at least, 65-75% of the functional renal mass.

Otherwise, studies in human medicine shows a great increase in the predominance of the renal insufficiency in oncologic patients, but a premature diagnosis is more and more important for the use of a suitable therapy in order to reduce its advance.

This diagnosis can be done through the evaluation of the glomerular filtration rate (GFR), through the clearance of a filtration marker, and it is now considered, not only in human but also in veterinary medicine, as the most precise evaluation of the renal function.

With this project, we intend to evaluate the renal function through the determination of GFR through the plasma clearance in dogs which are submitted to chemotherapy protocols. This method was chosen because it gives exact results, it is not very expensive, and it is quickly and convenient to measure in the routine clinic of the scholar hospital of FMW.

Keywords: Chemotherapy, nephrotoxicity, glomerular filtration rate, clearance of exogenous creatinine, dogs

Apresentações científicas

Durante a realização deste trabalho, a aluna elaborou um poster (Anexo 1, Figura 12) que foi exposto no congresso anual 2013 da European Society of Veterinary Oncology (ESVONC), em Lisboa.

ÍNDICE GERAL

II. Revisão teórica.....	3
1. Anatomia do rim.....	3
2. Fisiologia do rim.....	4
2.1- Funções do rim.....	5
2.2- Fluxo sanguíneo renal	5
2.3- Nefrónio: Unidade Funcional do Rim	6
2.3.1- Componentes do nefrónio.....	6
2.3.2- Tipos de nefrónios	7
2.3.3- Aparelho justaglomerular	7
2.3.4- Inervação glomerular	8
2.4- Formação da urina.....	8
2.4.1- Filtração Glomerular	8
2.4.1.1- Permeabilidade seletiva da barreira de filtração glomerular	9
2.4.1.2- Determinantes da Taxa de Filtração Glomerular	10
2.4.1.3- Regulação da filtração glomerular e fluxo sanguíneo renal	11
2.4.2- Função tubular renal.....	13
2.4.3- Mecanismo de concentração urinária	14
2.4.3.2- Papel da hormona antidiurética no mecanismo de concentração urinário	15
3 - Função glomerular.....	16
3.1- Ureia sérica	16
3.2- Creatinina sérica.....	17
3.3- Cistatina C.....	19
3.4- Determinação da taxa de filtração glomerular.....	20
3.4.1- Definição dos conceitos de depuração e marcadores de filtração glomerular	20
3.4.2- Indicação para a determinação da TFG.....	21
3.4.3- Depuração urinária e depuração plasmática.....	22
3.4.4- Modelos farmacocinéticos para o cálculo da TFG.....	23
3.4.5- Variabilidade da TFG e sua padronização	25
3.4.6- Técnicas e marcadores utilizados	26
3.4.6.1- Inulina	26
3.4.6.2- Creatinina.....	27
3.4.6.3- Marcadores radioativos	29
3.4.6.4-Iohexol	31
4 - Doença renal crónica.....	32
4.1- Etiologia.....	32
4.2- Fisiopatologia	33
4.3 – Consequências clínicas e métodos de diagnóstico	34
4.4 - Estadiamento da doença renal crónica	36
5- Quimioterapia e seus princípios gerais	38

5.1- Mecanismo de ação.....	39
5.2 - Nefrotoxicidade associada a fármacos antineoplásicos	40
5.2.1 - Fatores de risco que potenciam a nefrotoxicidade	41
5.2.1.1 - Fatores do Paciente	41
5.2.1.2- Fatores ligados ao metabolismo renal dos fármacos.....	42
5.3.1.3 - Fatores associados à toxicidade inata dos fármacos anti-neoplásicos	42
5.2- Grupos de fármacos antineoplásicos	43
5.2.1- Antibióticos antineoplásicos.....	43
5.2.1.1- Antraciclina.....	43
5.2.2 – Agentes anti-microtúbulos.....	44
5.2.2.1- Alcaloides da vinca.....	44
5.2.3- Corticoesteróides.....	45
5.2.3.1- Prednisona.....	45
5.2.4- Outros.....	46
5.2.4.1- Compostos platinados.....	46
5.2.4.2- L-asparaginase	46
5.2.5. Novas abordagens e fármacos em estudo	47
5.2.5.1. Quimioterapia metronómica.....	47
5.2.5.2 Inibidores da tirosina quinase (PTKI).....	48
III. Depuração Plasmática de Creatinina Exógena em Cães Submetidos a Protocolos Terapêuticos de Quimioterapia	50
1. Desenho experimental	50
1.1 Objetivo geral.....	50
1.2 Objetivos específicos	50
2. Materiais e métodos.....	51
2.1 Montagem da técnica de DPCEx	51
2.2 Animais.....	51
2.1.2 Critérios de inclusão	52
2.1.3 Critérios de exclusão	52
2.2. Avaliação da depuração plasmática de creatinina.....	53
2.2.1 Material e equipamentos.....	53
2.2.2 Solução de creatinina exógena	54
2.2.3. Administração endovenosa da solução de creatinina exógena	54
2.2.4 Colheita de amostra.....	54
2.2.5. Doseamento de creatinina exógena nas amostras de plasma	56
2.2.6. Cálculo da TFG.....	57
3. Resultados.....	57
3.1 Caracterização da amostra	57
3.1.1 Peso e género	57
3.1.2. Idade e raça.....	58
3.1.3 Protocolo antineoplásico	59

3.1.4 Ureia e Creatinina	61
3.2. Cálculo da concentração plasmática de creatinina exógena	61
3.3 Resultados dos parâmetros da avaliação da função renal	62
3.3.1. TFG, Tempo de semivida da creatinina ($T_{1/2}Cr$)	63
4.1. Análise individual da TFG	66
5. Conclusões	68
6. Considerações finais e perspectivas futuras	69
Bibliografia	71

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Género da amostra de cães	58
Gráfico 2 - Representação gráfica da reta de calibração (em escala semi-logarítmica) da creatinina no plasma, respetiva equação e coeficiente de determinação	62
Gráfico 3: Variação do T _{1/2} da creatinina e da TFG da amostra de cães, ao longo do protocolo quimioterápico.....	63
Gráfico 4: a) Distribuição da TFG em ml/min/Kg, do total da amostra de cães nos diversos dias das colheitas sanguíneas; b) Distribuição do T _{1/2} Cr em minutos (min.), do total da amostra de cães nos diversos dias das colheitas sanguíneas	63
Gráfico 5: Frequência relativa (%) dos casos clínicos acompanhados nas áreas de Medicina Preventiva, Patologia Médica e Patologia Cirúrgica.....	86
Gráfico 6: Frequência relativa (%) dos casos clínicos acompanhados nas áreas de Medicina Preventiva referente à vacinação e identificação eletrónica.....	87
Gráfico 7: Frequências relativas (%) das diferentes espécies animais na área da Patologia Médica.....	87
Gráfico 8: Frequências relativas (%) dos casos acompanhados nas diferentes áreas da Patologia.....	88
Gráfico 9: Frequências relativas (%) dos casos acompanhados nas diferentes áreas da Patologia Médica, por espécie	88
Gráfico 10: Frequências relativas (%) das análises efetuadas no âmbito da Medicina Laboratorial.....	89
Gráfico 11: Frequências relativas (%) das análises efetuadas no âmbito da Medicina Laboratorial, por espécie.	89
Gráfico 12: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada na área de Imagiologia.....	91
Gráfico 13: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada na área de Imagiologia, por espécie	92
Gráfico 14: Frequências relativas (%) referentes aos exames de radiologia simples, por espécie	93
Gráfico 15: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada em Patologia Cirúrgica.....	94
Gráfico 16: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada em Patologia Cirúrgica, por espécie	94

Índice de Equações

Equação 1: Cálculo da pressão efetiva de filtração.....	11
Equação 2: Cálculo da TFG.....	11
Equação 3: Cálculo da depuração urinária de uma substância.....	22
Equação 4: Depuração plasmática de uma substância.....	23
Equação 5: Cálculo da TFG.....	57

Índice de Figuras

Figura 1: Anatomia do rim canino (Adaptado de Randall, Burggren & French, 2011) e vascularização do nefrónio renal (Adaptado de Clarckson & Flecher, 2011).....	4
Figura 2: a) Diagrama de um corpúsculo renal (Adaptado de Carneiro & Junqueira, 2008); b) Diagrama de um nefrónio justaglomerular (Adaptado de Tartaglia & Waugh 2002)	7
Figura 3: Diagrama da barreira de filtração (Adaptado de Carneiro & Junqueira, 2008)	10
Figura 4: Efeitos da alteração do tónus das arteríolas eferente e aferente na TFG (GFR) e FRS (RBF) (Adaptado de DiBartola, 2012)	13
Figura 5: Permeabilidades diferenciais do sistema tubular e mecanismo de concentração de urina (Adaptado de Jamison & Maffly, 1979)	15
Figura 6: Relação entre a TFG e a concentração de creatinina plasmática	19
Figura 7: Concentração plasmática de iohexol versus tempo num modelo di-compartimental; b) Concentração plasmática de iohexol versus tempo num modelo não comportamental da concentração versus tempo (Adaptado de Heiene & Moe, 1988)	25
Figura 8: a) Alterações adaptativas dos nefrónios associadas a perdas estruturais (Adaptado de Chew, DiBartola, & Schenck, 2011); b) hipótese para a perda progressiva da TFG e aumento das lesões renais na DRC (Adaptado de Chew, DiBartola, & Schenck, 2011)	34
Figura 9: Tubos <i>Eppendorf</i> com amostras de plasma correspondentes a um animal, colhidos em tempos seriados, prontas a serem congeladas (original)	55
Figura 10: Placa de 96 pocilhos com 96 amostras de plasma, correspondentes a 4 animais diferentes, após a reação de <i>Jaffe</i> (Original)	56
Figura 11: Poster apresentado no ESVONC.....	85
Figura 12: Sistema de estadiamento da DRC (IRIS)	102
Figura 13: Substadiamento da DRC em cães (IRC).....	103

Índice de Tabelas

Tabela 1: Marcadores de filtração mais comumente usados (Adaptado de Linnetz & Graves, 2010).....	21
Tabela 2: Consequências clínicas da DRC (Polzin, 2010)	35
Tabela 3: Métodos de diagnóstico da DRC.....	35
Tabela 4: Estadiamento com base na concentração de creatinina plasmática (IRIS, 2007). 36	
Tabela 5: Substadiamento com base nos valores de proteinúria (IRIS, 2007)	37
Tabela 6: Substadiamento com base nos valores de pressão sanguínea (PS) (IRIS, 2007) 37	
Tabela 7: Fatores que afetam a estratégia terapêutica (adaptado de Coppoc, 2009)	39
Tabela 8: Sensibilidade à quimioterapia dos diferentes tipos de tumores (adaptado de Morris & Dobson, 2001).....	39
Tabela 9: Sumário das diferenças entre a quimioterapia metronômica e quimioterapia citotóxica convencional (Adaptado de Bahl & Bakhshi, 2012).....	48
Tabela 10: Neoplasia diagnosticada em cada indivíduo da amostra de cães.....	52
Tabela 11: Resultados da validação da equação da reta	57
Tabela 12: Peso em Kg da amostra de cães ao longo das colheitas	58
Tabela 13: Idade em anos e raça correspondente a cada indivíduo da amostra de cães.....	59
Tabela 14: Características da população estudo	60
Tabela 15: Creatinina e ureia plasmática de cada animal antes de iniciar o protocolo quimioterápico	61
Tabela 16: Frequências relativas (%) referentes ao Painel Bioquímico Sanguíneo efetuado, por espécie.....	90
Tabela 17: Frequências relativas (%) referentes aos exames serológicos efetuados, em canídeos e respectivos resultados.....	90
Tabela 18: Frequências relativas (%) referentes aos exames serológicos efetuados, em canídeos e respectivos resultados.....	91
Tabela 19: Frequências relativas (%) referentes aos diversos tipos de urianálise efetuadas, por espécie.....	91
Tabela 20: Frequências relativas (%) referentes a outros exames realizados e/ou interpretados, por espécie	93
Tabela 21: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada no âmbito da Cirurgia Geral, por área e espécie	95
Tabela 22: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada no âmbito da Ortopedia/Traumatologia, por área e espécie	96

Tabela 23: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada no âmbito da neurocirurgia, por espécie	97
Tabela 24: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada no âmbito da Cirurgia Oftálmica	97
Tabela 25: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada no âmbito da Pequena Cirurgia	97
Tabela 26: Frequências relativas (%) referentes à casuística dos procedimentos médicos, por espécie	98
Tabela 27: Frequências absolutas e relativas (%) referentes ao ato de Eutanásia, por espécie	99
Tabela 28: Marcadores de lesão renal (adaptado de Polzin, 2010).....	100
Tabela 29: Causas de Insuficiência renal crónica (Adaptado de Polzin, 2010)	101
Tabela 30 - Agentes terapêuticos potencialmente nefrotóxicos (adaptado de Polzin, 2010)	104
Tabela 31: Fatores de risco para o desenvolvimento de nefrotoxicidade associados à quimioterapia (Adaptado de Perazella & Moeckel, 2010).....	105
Tabela 32: Classes e subclasses dos fármacos antineoplásicos	106
Tabela 33: Valores da TFG e do T1/2Cr das diferentes colheitas e as semanas em que estas foram feitas, de todos os animais incluindo a média e DP global das três variáveis	109

Índice de Anexos

Anexo 1: Apresentações científicas	85
Anexo 2: Estatística descritiva da casuística acompanhada durante o estágio curricular realizado no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária, no período de 1 de Março até 31 de Agosto de 2012	86
Anexo 3: Doença renal crónica	100
Anexo 4: Nefrotoxicidade associados à quimioterapia	105
Anexo 5: Parâmetros da avaliação da função renal da amostra de cães estudada.....	109

Índice de Cronogramas

Cronograma 1: Semanas em que foram realizadas as colheitas sanguíneas a) referente ao cão com linfoma; b) referente aos cães com mastocitoma e c) referentes aos cães com melanoma maligno e carcinoma mamário.....	53
Cronograma 2: Ensaio experimental T0.....	55
Cronograma 3: Ensaio experimental durante a administração do fármaco antineoplásico ...	55

Índice de Siglas e Abreviaturas

ADH	Hormona antidiurética
AJG	Aparelho justaglomerular
ANP	Peptídeo natriurético atrial
AQP2	Transportadores de água
ASC	Área sob a curva
ASupC	Área de superfície corporal
BP	Borderline-proteinúrico
CB	Cápsula de Bowman
CHOP	Ciclofosfamida + doxorrubicina + vincristina + prednisolona
CMIII	Carcinoma mamário de grau III
DMT	Dose máxima tolerada
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTPA	Ácido ^{99m} Tc-dietilenediaminatetracético
DC	Doxorrubicina + carboplatina
DU	Depuração urinária
DC	Ducto colector
DCEx	Depuração de creatinina exógena
DCMI	Ducto coletor da medula interna
DP ^{99m} Tc-DTPA	Depuração plasmática de ^{99m} Tc-DTPA
DPCEx	Depuração plasmática de creatinina exógena
DPi	Depuração plasmática de iohexol
DUCEd	Depuração urinária de creatinina endógena
DUCEx	Depuração urinária de creatinina exógena
DUI	Depuração urinária inulina
EDTA	⁵¹ Cr-etilenodiaminatetracético
EPO	Hormona eritropoietina

FCEV	Fator de crescimento endotelial vascular
FSC	Fluxo sanguíneo cortical
FSM	Fluxo sanguíneo medular
FSR	Fluxo sanguíneo renal
GI	Gastrointestinal
H	Risco elevado
H ₂ O	Água
IV	Via endovenosa
L	Risco baixo
LM	Linfoma multicêntrico
M	Risco médio
MI	Mastocitoma de grau I
MII	Mastocitoma de grau I
Mi	Mitoxantrona
MM	Melanoma maligno
N	Risco mínimo
NaCl	Cloreto de sódio
Na ⁺ /K ⁺ -ATPase	Bomba de sódio e potássio
Nc	Sem complicações
NKCC2	Cotransportador Na ⁺ , K ⁺ , 2Cl ⁻
NP	Não-proteinúrico
P	Proteinúrico
PC	Peso corporal
PTKI	Inibidores da tirosina quinase
PU/PD	Poliúria e Polidipsia
PV	Prednisolona + vimblastina
RAF	Ramo ascendente fino da ansa de Henle
RDH	Ramo descendente da ansa de Henle
RGH	Ramo grosso da ansa de Henle

RNA	Ácido ribonucleico
RND	Risco não determinado
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
SC	Via subcutânea
TCD	Túbulo contornado distal
TCP	Túbulo contornado proximal
TFG	Taxa de filtração glomerular
T $\frac{1}{2}$ Cr	Tempo de semi-vida de creatinina
UT-A1	Transportadores de ureia A1~
UT-A2	Transportadores de ureia A2
UT-A3	Transportadores de ureia A3
VR	Valor de referência
VRA	<i>Vasa recta</i> ascendente
VRD	<i>Vasa recta</i> descendente

Índice de Símbolos

Mmol	Micromole
π_{GC}	Pressão oncótica no capilar glomerular
π_{BS}	Pressão oncótica no espaço de Bowman
ASC	Área sob a curva
DI	Decilitro
Du	Depuração urinária
G	Gramma
kDa	Quilodalton
K_f	Coefficiente de filtração
Kg	Quilograma
L	Litro
mg	Miligramma
Mg	Miligramma
MI	Mililitro
Min	Minuto
mmHg	Milímetros de mercúrio
mOsm	Miliosmol
Nm	Nanómetros
%	Percentagem
P_{BS}	Pressão hidrostática no espaço de Bowman
P_{GC}	Pressão hidrostática no capilar glomerular
P_f	Pressão efetiva de filtração
U	Fluxo de urina em ml/min
C_u	Concentração do marcador na urina expresso em mg/ml
C_p	Concentração plasmática do marcador expressa em mg/ml
D_{plasma}	Depuração plasmática de um marcador

ASC	Área sob a curva
D	Dose de marcador administrada
$T_{1/2}$	Tempo de semi-vida
Vss	Volume de distribuição

I. Breve Descrição das atividades desenvolvidas durante o Estágio

A aluna realizou um estágio extracurricular no Centro Veterinário Beira-Alta e Centro Veterinário Castro-Daire, com a duração de 3 meses. Durante este período a aluna passou pelos serviços de medicina interna, imagiologia, cirurgia, emergências e cuidados intensivos, auxiliando na realização de todos os procedimentos e participando na discussão de casos.

Posteriormente foi realizado, um segundo estágio extracurricular, no centro de referência Ars Veterinaria, em Barcelona com a duração de 3 meses. Este estágio foi constituído por rotações semanais pelos serviços de Medicina Interna, Dermatologia, Oftalmologia, Traumatologia, Cirurgia e Anestesiologia, Imagiologia, Neurologia e Unidade de Cuidados Intensivos. Como complemento, a aluna participou na discussão diária de casos clínicos, no serviço de Medicina Interna. Foram despendidas cerca de 50 horas semanais, num total de 600 horas, sob a coordenação do Dr. Artur Fonte.

Por último, o estágio curricular foi realizado no Hospital Escolar da FMV-UTL, sob a orientação da Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix Lourenço e coorientação do Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente. O estágio teve início em 1 de Março de 2012, tendo terminado em 31 de Agosto de 2012, com a duração média de 60 horas semanais, num horário rotativo semanal, representando uma carga horária total de, aproximadamente, 1200 horas. Neste realizou-se a rotação pelos serviços de Medicina Interna, Imagiologia, Cirurgia e Internamento, complementado pela participação nas consultas de especialidade nas áreas de Oftalmologia, Dermatologia, Animais Exóticos, Endocrinologia, Reprodução e Neurologia (Anexo 2).

Paralelamente ao horário cumprido no regime de rotações, fazendo-se seguir por um acompanhamento, extra estágio, desenvolvido de 31 de Agosto de 2012 a 21 de Março de 2013, o estágio englobou uma componente de investigação com duas abordagens:

- i. Área de experimentação – na qual se desenhou um protocolo experimental, na área de investigação clínica, realizado em canídeos. A fase de seleção dos indivíduos, com base na anamnese, exame físico e exames complementares, assim como a monitorização dos indivíduos seleccionados durante o estudo (estimativa da duração dos ensaios: 192 horas).
- ii. Área laboratorial – incluiu a preparação de soluções em câmara de fluxo laminar, para administração endovenosa, determinação de retas padrão com base em soluções, assim como o processamento de amostras sanguíneas recolhidas durante o ensaio, para obtenção de resultados ao longo do tempo (estimativa da duração do protocolo laboratorial: 120 horas).

O Estágio permitiu alcançar os objetivos, inicialmente propostos, nomeadamente ao proporcionar a aprendizagem, o treino e o aprofundamento dos conhecimentos na área de Clínica e Cirurgia de Animais de Companhia.

II. Revisão teórica

1. Anatomia do rim

O rim é um órgão em forma de feijão, constituído por um bordo convexo e um bordo côncavo. É no bordo côncavo que se encontra o hilo, por onde entram os nervos e a artéria renal, e saem a veia renal e os ureteres, sendo constituído por dois ou três cálices que se unem para formar o bacinete, que vai dar início ao ureter (Carneiro e Junqueira, 2008).

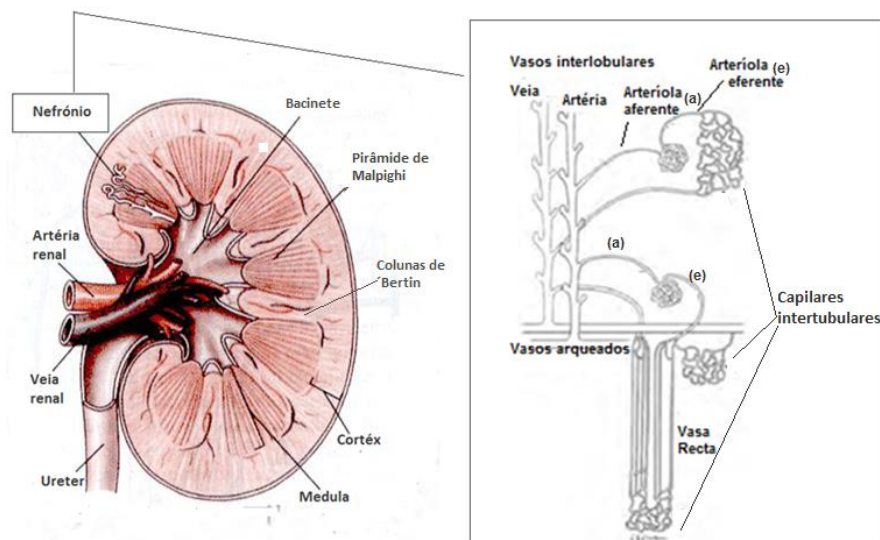
O parênquima renal pode ser dividido em duas zonas estruturais e funcionalmente distintas: o córtex, que é a zona mais periférica, e a zona subjacente designada por medula. Ambos são formados por um conjunto complexo de túbulos e vasos com rearranjos distintos. O interstício renal, que constitui cerca de 10% do volume renal total, constitui matriz extracelular de colagénio, rica em proteoglicanos e glicoproteínas. O córtex apresenta uma série de prolongamentos, denominados por colunas de Bertin, que se inserem na medula e a dividem em vários setores. A medula é constituída por estruturas em forma de cone, chamadas pirâmides renais ou de Malpighi. Têm uma aparência estriada devido à presença de túbulos e vasos sanguíneos alinhados e retos. As bases das pirâmides assentam no córtex e os seus vértices, designados por papilas renais, projetam-se para o bacinete ou pelve renal, que constitui a porção mais dilatada do ureter. As pirâmides desaguam as suas secreções nos cálices renais, que, por sua vez, se unem formando o bacinete, que recolhe a urina do tecido renal (Kleinstreuer, 2009) (Figura 1).

O suprimento sanguíneo dos rins é feito através da artéria renal, que se origina do quinto ramo da aorta caudal. Esta subdivide-se em diversos ramos que formam uma rede vascular responsável por garantir as necessidades de perfusão do órgão (Kleinstreuer, 2009). Antes de alcançar o hilo renal, ramifica-se em ramo dorsal e ramo ventral (Marques-Sampaio et al. 2007) que, posteriormente, se vão ramificando dando origem, por ordem decrescente, à artéria segmental, à artéria lobar, às artérias interlobares, às artérias arciformes, às artérias interlobulares e às arteríolas aferentes. Estas últimas ramificam-se em capilares que constituem o glomérulo, formando o início da rede tubular do nefrónio. No rim, contrariamente ao que se passa nos outros órgãos, uma arteríola conecta duas redes capilares. Assim, os capilares glomerulares dão origem à arteríola eferente, que dá origem a uma nova rede capilar, constituída por capilares peritubulares, que irão suprir as necessidades de oxigenação e nutrição do córtex e a *vasa recta*. Esta última, é um conjunto de feixes de vasos paralelos, que se estende profundamente na medula (Kleinstreuer, 2009). A *vasa recta*, devido à sua estrutura de feixes vasculares descendentes e ascendentes, próximos e junto do sistema tubular do nefrónio, desempenha um papel fundamental na reabsorção de constituintes plasmáticos, essenciais para a regulação do estado hídrico e eletrolítico do organismo. Estes feixes vasculares, em forma de ansa,

iniciam-se na *vasa recta* descendente (VRD), cuja estrutura inicial é similar a arteríolas, sendo constituídas por músculo liso que se vai alterando à medida que penetra na medula interna, começando a assemelhar-se a capilares. A *vasa recta* ascendente (VRA), que transporta o sangue de volta para o sistema venoso, é formada por endotélio fenestrado semelhante aos capilares glomerulares, que permite a passagem de água e solutos entre o plasma e o espaço intersticial (Kleinstreuer, 2009). Deste modo, os vasos participam numa importante troca contracorrente entre os túbulos, permitindo à medula manter um ambiente hipertónico, indispensável para a formação de uma urina concentrada (Carneiro & Junqueira 2008).

A drenagem venosa percorre o caminho inverso, iniciando-se nas veias interlobulares, seguindo para as veias arciformes e veias interlobares, as quais terminam na veia renal que se une à veia cava inferior (Kleinstreuer, 2009) (Figura 1).

Figura 1: Anatomia do rim canino (Adaptado de Randall, Burggren & French, 2011) e vascularização do nefrónio renal (Adaptado de Clarckson & Flecher, 2011)



2. Fisiologia do rim

O funcionamento adequado do rim, na manutenção da homeostasia e excreção dos resíduos metabólicos, está dependente de um adequado fluxo sanguíneo, da produção de um filtrado glomerular (ultrafiltrado) a partir do plasma, e da capacidade dos túbulos renais alterarem a composição do filtrado através dos mecanismos reabsorção e secreção tubular (Atherton 2012).

2.1- Funções do rim

O rim é um órgão fundamental para a conservação do volume sanguíneo e volume de fluido extracelular, para a manutenção da pressão arterial sistêmica, do hematócrito, do equilíbrio ácido-base e da concentração plasmática de eletrólitos e minerais e excreção de resíduos metabólicos, químicos e hormonais (Brown, 2011).

A regulação do balanço hídrico e eletrolítico resulta do filtrado glomerular, designado por ultrafiltrado. Ao passar por um conjunto de túbulos renais, parte dos constituintes do ultrafiltrado, como as proteínas de baixo peso molecular, água e eletrólitos são reabsorvidos, e metabolitos dispensáveis ao organismo são secretados (Cunningham, 2004)

Fatores humorais, como o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), a hormona antidiurética (ADH) e o peptídeo natriurético atrial (ANP) atuam a nível renal de forma a regular a pressão arterial. Assim, em situações de hipotensão sistêmica, o SRAA é ativado e a ADH é libertada de forma a aumentar a reabsorção de água e solutos pelo rim, e consequentemente aumentar o volume intravascular. Por outro lado, a nível atrial quando há excesso de volume sanguíneo, ocorre a libertação ANP, que ao atuar a nível renal, leva à perda de sódio e água (Verlander, 2009).

O rim é ainda responsável, através dos fibroblastos intersticiais peritubulares renais tipo 1, pela produção da hormona eritropoietina (EPO) (Weidemann and Johnson 2009). Esta induz a produção de eritrócitos pela medula óssea, aumentando o tempo de sobrevivência de células progenitoras hematopoiéticas (Polzin 2009).

O rim é, também, responsável pela produção da forma ativa da vitamina D, a 1,25-dihidroxitamina D3 (calcitriol), possibilitando a esta hormona hipercalcémica a regulação do metabolismo do cálcio, a nível renal e intestinal (Verlander, 2009)

2.2- Fluxo sanguíneo renal

Para que o rim desempenhe as suas funções homeostáticas e mantenha a sua capacidade de excreção, é necessário um fluxo sanguíneo renal (FSR) adequado, assim como a formação de um filtrado glomerular (ultrafiltrado) (Atherton 2012).

Apesar do pequeno tamanho dos rins (cerca de 0,5% do peso vivo), o volume sanguíneo que lhes chega é extremamente elevado. Estes recebem cerca de 25% do débito cardíaco, permitindo assim um fluxo de 4 ml/min/g de parênquima renal (Brown et al. 1990; Brown 2011). Este volume sanguíneo adicional, para além de fornecer ao rim, nutrientes e oxigénio e remover produtos residuais do seu metabolismo, disponibiliza uma quantidade suficiente de plasma para as elevadas taxas de filtração glomerular (20% do FSR, segundo Atherton 2012), essenciais para a manutenção do balanço hídrico-eletrolítico (Brown 2012).

Por outro lado, a distribuição do FSR não é uniforme, sendo o fluxo sanguíneo na cortical é elevado do que na medular (Carneiro e Junqueira 2008). No cão, mais de 90% do FSR

atinge o córtex, 10% atinge a medula externa e apenas 2% a 3% atinge a medula interna. Assim, o enorme fluxo sanguíneo cortical (FSC) irá permitir ao córtex desempenhar as suas funções de filtração glomerular e o baixo fluxo sanguíneo medular (FSM) permitem a manutenção da hipertonicidade medular, importante para o mecanismo de concentração de urina (DiBartola, 2012a).

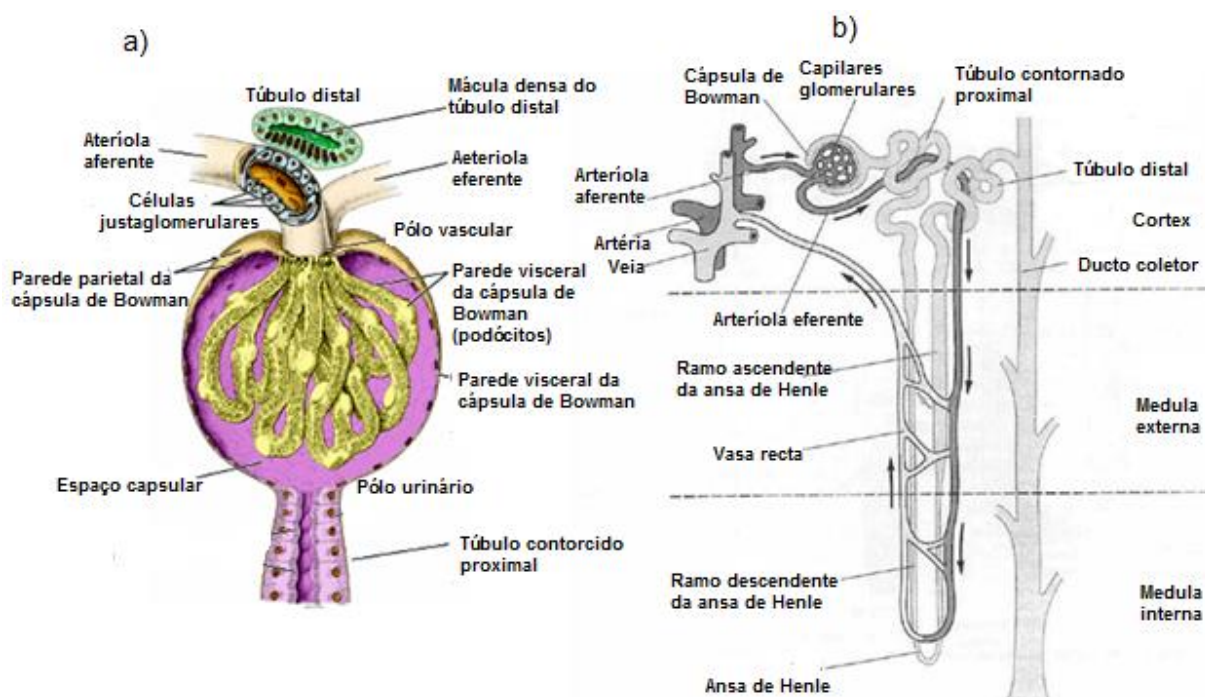
2.3- Nefrónio: Unidade Funcional do Rim

O nefrónio é considerado a unidade funcional dos rins (Cochran, 2011). O conjunto de aproximadamente 400,000 nefrónios funcionais no cão (DiBartola, 2012) permite a filtração do plasma através dos capilares glomerulares, à qual se segue a secreção e reabsorção tubular de eletrólitos, bicarbonato, macromoléculas e água (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

2.3.1- Componentes do nefrónio

O nefrónio é constituído pelo corpúsculo renal (Figura 2a), formado pelo glomérulo envolvido pela sua cápsula protetora (cápsula de Bowman), e por um complexo sistema tubular (Kleinstreuer, 2009). A cápsula de Bowman (CB) faz o contacto com os capilares do glomérulo sendo constituído por duas lâminas de células epiteliais: lâmina visceral (podócitos) e a lâmina parietal (entre as duas fica o espaço urinário ou de Bowman que se continua com o lúmen do túbulo proximal). É no espaço de Bowman que se acumula o filtrado glomerular, também designado por ultrafiltrado, que prossegue para o túbulo contornado proximal (TCP), ramo descendente da ansa de Henle (RDH) e ramo ascendente da ansa de Henle (RAH) (Cochran 2011). As paredes do RDH e da primeira parte do RAH são muito finas, designando-se por ramos finos da ansa de Henle; a segunda parte do ramo ascendente, que entra no córtex, tem uma parede mais espessa, constituindo o ramo grosso da ansa de Henle (RGH) (Verlander 2009). Após este percurso, o filtrado passa para o túbulo contornado distal (TCD) que, ao unir-se aos TCD de outros nefrónios, dão origem ao ducto coletor (DC), o qual converge com os restantes ductos - nos ductos papilares - que terminam na papila renal (Cochran 2011). Todos estes segmentos tubulares têm propriedades transportadoras distintas e uma heterogeneidade celular, tanto a nível estrutural como a nível funcional (Kleinstreuer, 2009) (Figura 2b).

Figura 2: a) Diagrama de um corpúsculo renal (Adaptado de Carneiro & Junqueira, 2008);
 b) Diagrama de um nefrônio justaglomerular (Adaptado de Tartaglia & Waugh 2002)



2.3.2- Tipos de nefrônios

Os nefrônios são classificados, quanto à sua localização corpuscular e profundidade de penetração da ansa de Henle a nível medular, em dois tipos: corticais e justaglomerulares (Reece, 2005). Os nefrônios, com o glomérulo na zona externa ou média do córtex, são designados de nefrônios corticais e estão associados a uma ansa de Henle curta que se estende até à junção cortico-medular ou medula externa, enquanto os nefrônios com o glomérulo na zona de transição entre o córtex e a medula são designados por justaglomerulares e as suas ansas de Henle longas permitem que se estendam mais profundamente na medula renal (Figura 2b) (Reece, 2005). As funções destes dois tipos de nefrônios são distintas, uma vez que, os nefrônios corticais excretam mais solutos e água e os nefrônios justaglomerulares tendem a conservá-los, permitindo aos rins manter a capacidade de concentrar ou diluir a urina, de acordo com as necessidades (Kleinstreuer, 2009; DiBartola, 2012). Pensa-se que os cães apresentam apenas nefrônios com ansas de Henle longas (DiBartola, 2012).

2.3.3- Aparelho justaglomerular

A junção do túbulo distal e do glomérulo é conhecida por aparelho justaglomerular (AJG). Existem vários tipos de células características desta localização. As células epiteliais da zona lateral do túbulo são coletivamente conhecidas como mácula densa e as células da

arteríola aferente são chamadas de células justaglomerulares. O AJG está associado à regulação da quantidade de sangue que flui para o rim e é filtrado, e à secreção de renina, uma enzima envolvida na formação da hormona angiotensina II (vasoconstritor) (Reece, 2005).

O espaço entre a mácula densa e as arteríolas e entre os capilares glomerulares é conhecido como região mesangial, formada pelas células e matriz mesangiais. As células mesangiais são responsáveis pela secreção da matriz e, em conjunto com a membrana basal glomerular, fornecem suporte estrutural. Apresentam também atividade contráctil que irá influenciar o fluxo sanguíneo nos capilares glomerulares e, conseqüentemente, a filtração glomerular. O aparelho justaglomerular está envolvido em mecanismos de *feedback* que participam na regulação do FSR e na TFG (Verlander, 2009; Clarkson; Fletcher, 2011 & DiBartola, 2012a) (Figura 2a).

2.3.4- Inervação glomerular

A inervação do rim consiste quase exclusivamente de fibras simpáticas eferentes que se encontram nos túbulos, vasos sanguíneos e nas células granulares justaglomerulares, produtoras de renina. Estas participam na regulação do FSR, da TFG e da reabsorção de água e sódio pelo nefrónio (DiBona, 2000).

Um aumento da atividade simpática leva à diminuição do FSR e TFG através da vasoconstrição das arteríolas aferente, e maioritariamente de arteríola eferente (DiBartola, 2012). Inicia, também, a secreção de renina, pelas células granulares justaglomerulares que irá aumentar a reabsorção de sódio pelos segmentos do nefrónio (DiBona, 2000).

2.4- Formação da urina

Os três processos envolvidos na formação da urina são: a filtração glomerular, a reabsorção tubular e a secreção tubular. A formação do ultrafiltrado do plasma é o resultado da filtração glomerular. Este, por sua vez, entra no túbulo proximal, e a sua composição vai-se alterando, por processos de reabsorção e secreção tubular, passando a ser denominado de fluido tubular. Estes processos continuam ao longo do nefrónio, de tal forma que o fluido tubular só se torna urina ao entrar no bacinete (Verlander, 2009; Brown, 2011).

2.4.1- Filtração Glomerular

O rim exerce uma série de complexos processos, que lhe permite desempenhar a filtração glomerular, segundo as forças de Starling. A TFG, muitas vezes avaliada na prática clínica, constitui o exame complementar que melhor avalia a função renal (Verlander 2009). Para

compreender este parâmetro é necessário estar-se familiarizado com as estruturas que constituem o glomérulo, e as forças que influenciam a filtração glomerular.

2.4.1.1- Permeabilidade seletiva da barreira de filtração glomerular

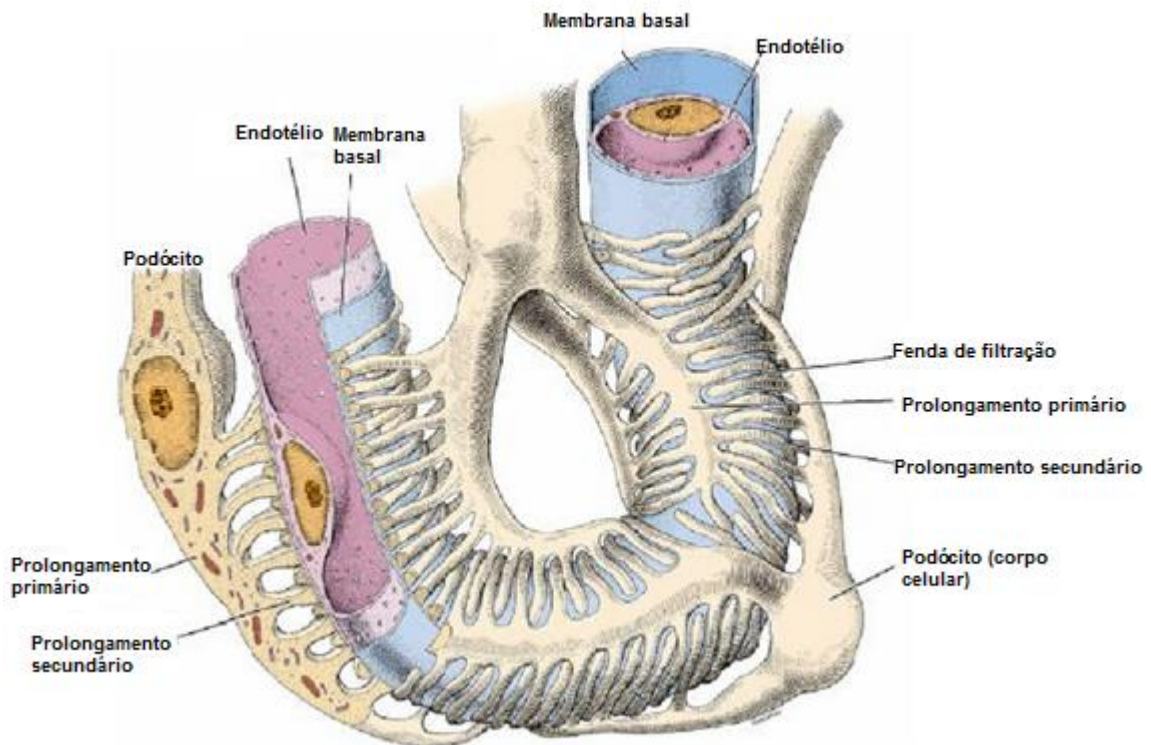
O fluxo sanguíneo, ao entrar nos capilares glomerulares, percorre a barreira de filtração onde a água, electrólitos e outras substâncias atravessam a barreira de filtração, formando o ultrafiltrado, o primeiro fluido que irá dar origem à urina. No entanto, apenas certos constituintes sanguíneos são capazes de atravessar esta barreira. Esta barreira é constituída por células endoteliais dos capilares, pela membrana basal glomerular, e por podócitos da parede visceral da cápsula de Bowman (Figura 3) (Clarkson & Fletcher 2011).

O endotélio dos capilares glomerulares é fenestrado (fenestras com cerca de 50-100 nm de diâmetro) permitindo a passagem de componentes não-celulares do sangue, para a segunda camada da parede capilar, a membrana basal glomerular (DiBartola, 2012). Para além disso, a superfície luminal do endotélio é revestida por sialoglicoproteínas, carregadas negativamente, que contribuem para a permeabilidade seletiva da barreira de filtração (DiBartola, 2012). A forma das moléculas, também influencia a sua passagem pela barreira de filtração, sendo que, moléculas longas têm tendência a passar mais facilmente do que moléculas mais globosas (Verlander 2009).

A membrana basal, que envolve o endotélio, é constituída pela lâmina rara interna (junto ao endotélio), pela lâmina densa e pela lâmina rara externa, que origina o epitélio visceral próximo dos podócitos. As lâminas, a rara interna e a externa, são formadas por proteínas colagénias carregadas negativamente e a lâmina densa é constituída por proteínas colagénias não polares (DiBartola, 2012). Por último, os podócitos apresentam um corpo celular, de onde partem diversos prolongamentos primários que dão origem a prolongamentos secundários. Estes últimos, interdigitalizam-se em redor da membrana basal glomerular e capilares glomerulares, formando as fendas ou diafragmas de filtração (Carneiro e Junqueira 2008). O diâmetro destas fendas encontra-se entre os 10-30 nm (DiBartola, 2012) e são revestidas parcialmente por uma fina membrana com 6 nm de espessura (Carneiro e Junqueira, 2008).

Em suma, a capacidade de os constituintes sanguíneos passarem através da barreira de filtração está dependente do seu tamanho, da sua forma e da sua carga. A barreira de filtração é impermeável a moléculas com raio maior que 4 nm, e permite a passagem de partículas que apresentem um raio inferior a 2 nm (DiBartola, 2012). Como as células sanguíneas e a maioria das proteínas são demasiado grandes, e as formas aniónicas das mesmas são repelidas pelos componentes aniónicos da barreira de filtração, estas não irão fazer parte constituinte do ultrafiltrado (Brown 2011).

Figura 3: Diagrama da barreira de filtração (Adaptado de Carneiro & Junqueira, 2008)



2.4.1.2- Determinantes da Taxa de Filtração Glomerular

A formação do ultrafiltrado resulta das forças de Starling nos capilares glomerulares. Desta forma, a filtração glomerular é conduzida, por um lado, pela pressão hidrostática dos capilares glomerulares e, por outro lado, e em sentido oposto, pelas pressões oncótica plasmática e hidrostática da CB. Estas forças são representadas pela pressão efetiva de filtração (P_f), que é a soma das pressões hidrostática e oncótica que se opõem ou favorecem a filtração através dos capilares glomerulares.

A pressão hidrostática dentro dos capilares glomerulares (P_{GC}) favorece a filtração e atinge cerca de 55 mmHg, enquanto a pressão hidrostática no espaço de Bowman (P_{BS}) é maior do que a pressão intersticial sistêmica (cerca de 20 mmHg) e opõe-se à filtração; a pressão oncótica nos capilares glomerulares (π_{GC}) também se opõe à filtração, no entanto, vai aumentando ao longo do leito capilar, devido à perda de proteína pela barreira de filtração, atingindo cerca de 20 mmHg. Por outro lado, a pressão oncótica no espaço de Bowman (π_{BS}) promove a filtração, no entanto, é desprezível, uma vez que o ultrafiltrado raramente ultrapassa os 10mg/100mL de proteínas (Verlander, 2009; Brown, 2011; Atherton, 2012; DiBartola, 2012). Assim, a P_f pode ser representada pela seguinte equação:

Equação 1: Cálculo da pressão efetiva de filtração

$$P_f = P_{GC} - (\Pi_{BS} + \Pi_{GC})$$

Considerando isto, a pressão de filtração no glomérulo é aproximadamente de 15 mmHg, sendo similar á pressão dos restantes capilares do organismo. Porém, a TFG, nos capilares glomerulares, é muito mais elevada do que nos capilares sistémicos. Isto deve-se à morfologia glomerular e ao facto de, a área de superfície disponível para a filtração e a permeabilidade do endotélio glomerular, ser muito maior do que a encontrada nos restantes capilares sistémicos do organismo. Assim, a área de superfície disponível para a filtração e a permeabilidade inerente do leito capilar influenciam o ritmo da filtração e podem ser representados pela constante de ultrafiltração (K_f). Desta forma, a TFG pode ser calculada pela seguinte equação de Starling modificada (Verlander, 2009; Von Hendy-Willson & Pressler, 2011):

Equação 2: Cálculo da TFG

$$TFG = K_f[(P_{GC} - P_{BS}) - (\Pi_{GC} - \Pi_{BS})] \text{ ou } TFG = K_f \cdot P_f$$

O coeficiente de ultrafiltração dos capilares glomerulares é muito mais elevado do que os restantes capilares do organismo e, conseqüentemente, a sua taxa de filtração irá ser igualmente maior. No entanto, esta relação não é constante nem linear, podendo ser alterada como resposta a hormonas (angiotensina II) ou em caso de doença (DiBartola, 2012).

2.4.1.3- Regulação da filtração glomerular e fluxo sanguíneo renal

As arteríolas que compõem a vasculatura renal são de extrema importância na regulação do FSR e da TFG. À medida que a pressão sistémica varia, a resistência dos vasos renais distais (artérias interlobulares e arteríolas aferentes e eferentes) irá adaptar-se, contraindo ou dilatando de forma a manter o FSR e a TFG inalterados (Kleinstreuer, 2009) (Figura 4). Desta forma, a pressão hidrostática glomerular e a pressão oncótica glomerular são os determinantes da TFG mais susceptíveis de controlo fisiológico, nomeadamente por intermédio do sistema nervoso simpático (SNS), hormonas e autacóides (substâncias vasoactivas libertadas pelo rim) e outros mecanismos de *feedback* intarrenal ou autorregulação renal (Hendy-Willson & Pressler, 2011).

A autorregulação refere-se à capacidade que o rim tem de manter o fluxo sanguíneo mais ou menos constante (variação <10%) apesar de grandes alterações da pressão arterial (80mmHg-180mmHg) (DiBartola, 2012a; Kleinstreuer, 2009). Os dois mecanismos

fisiológicos que contribuem para a autorregulação do rim são: o mecanismo miogénico e o *feedback* tubuloglomerular (Hendy-Willson & Pressler, 2011 & DiBartola, 2012a).

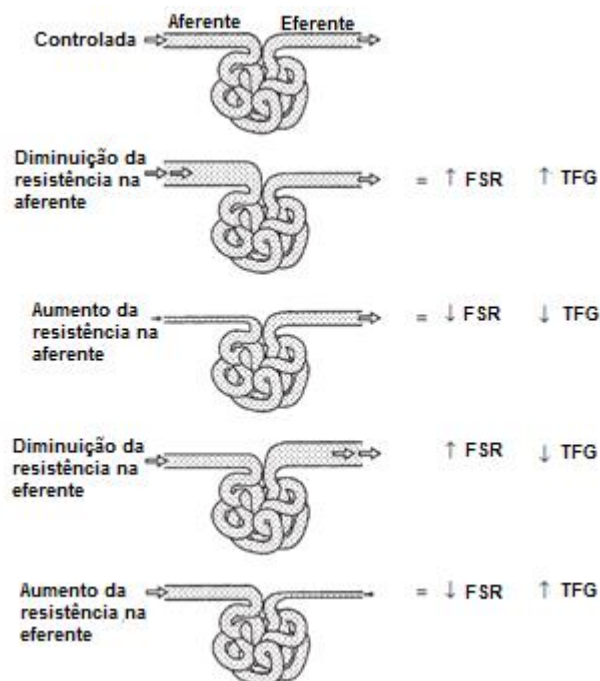
O mecanismo micogénico refere-se à capacidade intrínseca dos vasos sanguíneos se contraírem quando a pressão sanguínea aumenta, pelo que previne o estiramento excessivo dos vasos e o aumento excessivo da GFR e do RBF. Este mecanismo, que não é exclusivo do rim, é indispensável para manter um tónus vascular basal de forma a assegurar a perfusão sanguínea nos órgãos principais (Kleinstreuer, 2009). Existe um *feedback* negativo extremamente rápido (1-2 segundos), em que o músculo liso da vasculatura, quando tensionado, tende a contrair e, quando folgado, tende a relaxar, minimizando as alterações da pressão hidrostática glomerular e da TFG (DiBartola, 2012).

O *feedback* tubuloglomerular é um componente fundamental da autorregulação renal e depende do complexo justaglomerular que, como dito anteriormente, é formado por células da mácula densa (na porção inicial do túbulo distal) e células justaglomerulares (localizadas na parede das arteríolas aferente e eferente). Quando a pressão sanguínea diminui, a concentração de cloreto de sódio (NaCl) ao nível da mácula densa diminui, o que conduz a dois efeitos: 1) diminuição da resistência das arteríolas aferentes e conseqüente aumento da PGC e da GFR em direção a valores normais; 2) aumento da libertação de renina pelas células justaglomerulares, o que irá promover a formação de angiotensina II. Esta por sua vez irá promover a constrição da arteríola eferente elevando a PGC e a TFG em direção a valores normais (Kleinstreuer, 2009).

Uma das causas mais comuns de diminuição da TFG é a diminuição da pressão na artéria renal, secundária à hipotensão ou depleção de volume. Isto irá levar a ativação de mecanismos neurohumorais, entre os quais o sistema nervoso simpático. A inervação simpática renal entra na regulação das funções do rim, influenciando a hemodinâmica renal através da vasoconstrição das arteríolas renais e, conseqüente, diminuição do fluxo sanguíneo renal (DiBartola, 2012a). Atua, também, nos túbulos renais, aumentando a sua reabsorção de sódio e o ritmo de secreção de renina por parte das células granulares justaglomerulares (DiBartola, 2012b). A secreção de renina por sua vez vai ativar o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). A Angiotensina II, para além de, também favorecer a reabsorção de sódio nos túbulos proximais, promove a secreção da hormona antidiurética ou vasopressina (ADH) aumentando a reabsorção de ureia e água. Promove, ainda, o aumento indireto do volume intravascular, ao induzir a secreção de aldosterona por parte do córtex adrenal. Esta última aumenta a reabsorção de água e sódio nos DC corticais. Para além disso, a angiotensina II é um vasoconstritor sistémico e leva ao aumento da libertação de adrenalina que, por sua vez, aumenta ainda mais a pressão arterial sistémica. O endotélio, por outro lado, é estimulado tanto pela angiotensina II como pela ADH e adrenalina, a produzir e libertar as prostaglandinas vasodilatadoras I₂ e E₂. Estas últimas são de extrema importância como modeladoras do SRAA, mantendo a FSR em estados

hipovolémicos. A interligação destes mecanismos irá aumentar a expansão de volume sistêmico e conseqüentemente aumentar a perfusão renal e a TFG, levando a uma diminuição da libertação de adrenalina e angiotensina II e aumento da secreção de dopamina e peptídeo natriurético atrial (ANP). A dopamina promove a dilatação das arteríolas aferente e eferente, diminuindo a vasoconstrição renal induzida pela angiotensina II, melhorando a perfusão renal. Por sua vez, o ANP induz dilatação da arteríola aferente e constrição da arteríola eferente aumentando a P_{CG} e a TFG sem alterar a FSR uma vez que a resistência vascular se mantém constante (Hendy-Willson & Pressler, 2011).

Figura 4: Efeitos da alteração do tónus das arteríolas eferente e aferente na TFG (GFR) e FRS (RBF) (Adaptado de DiBartola, 2012)



2.4.2- Função tubular renal

Grande parte dos solutos de baixo peso molecular essenciais para a função fisiológica normal do organismo como a glucose, os aminoácidos, e o bicarbonato, são livremente filtrados no glomérulo, no entanto, não aparecem na urina. A reabsorção tubular é a responsável por este acontecimento, sendo que é um processo essencial para a manutenção da homeostasia. Mais de 99% da água do plasma é filtrada pelos glomérulos e é reabsorvida pelos túbulos. Os túbulos proximais e alças de Henle reabsorvem cerca de 85% da água e solutos filtrados, ao passo que os DC ajustam a composição final da urina de forma a compensar flutuações que possam surgir e impedir variações de volume e da

composição de fluidos corporais. Se assim não fosse, haveria a constante necessidade de repor as perdas em água e solutos. O processo de reabsorção é disposto de forma a que, proximamente, a reabsorção ocorra sem ter em conta as necessidades do organismo, utilizando sistemas de transporte de alta capacidade e baixa afinidade. Ao longo do percurso tubular estes sistemas de transporte vão sendo substituídos por outros com baixa capacidade e alta afinidade, processando a reabsorção de acordo com as necessidades do organismo (Verlander, 2009; DiBartola, 2012a). Assim, a taxa de reabsorção e excreção dos componentes do ultrafiltrado não é semelhante nos diferentes segmentos dos túbulos renais. A principal função dos túbulos proximais é a reabsorção, sendo responsáveis por cerca de dois terços de solutos e água reabsorvidos. Aproximadamente 99% da glucose e aminoácidos e mais de 90% do bicarbonato são reabsorvidos no segmento inicial dos túbulos proximais. (DiBartola 2012a).

2.4.3- Mecanismo de concentração urinária

O mecanismo de concentração urinário tem como base o princípio físico de multiplicação em contracorrente cuja base anatómica é a disposição em contracorrente dos ramos ascendente e descendente da ansa e a sua associação com os DC (DiBartola, 2012).

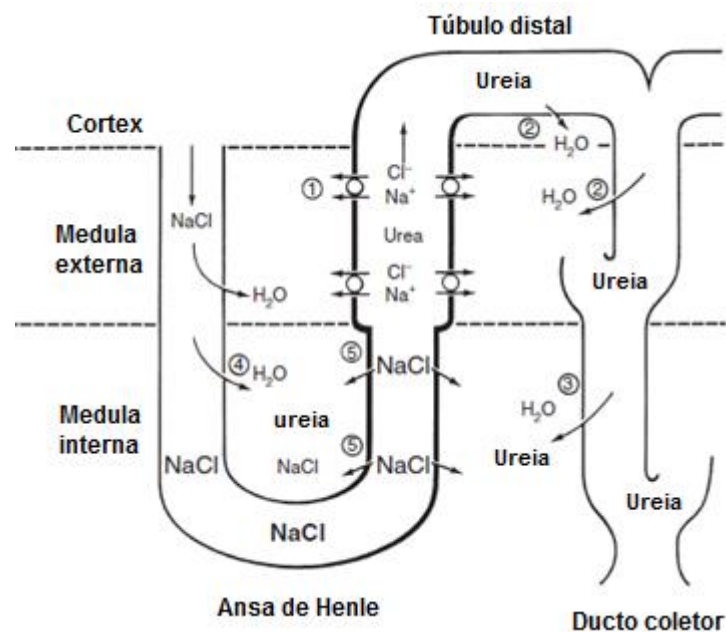
A multiplicação em contracorrente é o processo pelo qual o conteúdo de dois tubos adjacentes se desloca em direções opostas originando uma concentração de solutos progressivamente maior. O gradiente de concentração entre os dois ramos da ansa Henle é estabelecido com gasto de energia através de três mecanismos: 1) transporte ativo de sódio e co-transporte de potássio, cloreto e outros iões ao longo dos ramos ascendentes (porção grossa); 2) baixa permeabilidade à água dos ramos ascendentes; 3) alta permeabilidade à água dos ramos descendentes (DiBartola, 2012).

Ao sair do túbulo proximal, o fluido tubular passa, então, para a ansa de Henle, onde a osmolaridade da medula renal irá ter um papel decisivo na sua conservação ou eliminação de água. A concentração intersticial da NaCl e conseqüentemente o gradiente osmótico corticomedular que permite a reabsorção de água no rim aumenta progressivamente da cortical para a medular, atingindo o seu máximo na medula interna (1.200 mOsm/Kg). Tal acontece, como resultado do transporte de NaCl e da reduzida permeabilidade à água na porção grossa do ramo ascendente. O aumento de pressão osmótica intersticial leva ao aumento da concentração do fluido tubular do ramo descendente pela saída de água para o interstício (Reece, 2005; Verlander, 2009).

O fluido tubular, após percorrer os ramos finos da ansa de Henle, passa para o RGH. Neste, o aumento do gradiente osmótico continua através da reabsorção ativa de NaCl, por meio do cotransportador dos iões sódio, potássio e cloro (NKCC2), e da sua impermeabilidade à água (Hasler, 2009). Este processo continua no TCD, de tal forma que a osmolaridade do

fluido tubular que entra nos ductos coletores é aproximadamente 100 mOsm/Kg de H₂O, muito abaixo da osmolaridade do plasma (296 a 300 mOsm/Kg de H₂O) (Verlander, 2009). Os ductos coletores medulares internos (DCMI), também contribuem para a hipertonicidade medular através da reabsorção de ureia. Uma vez que, as porções cortical e medular externa dos DC são impermeáveis à ureia, a sua concentração aumenta proporcionalmente à reabsorção de água. Assim, é criado um gradiente de reabsorção de ureia na porção medular interna dos DC, altamente permeável à mesma. Para além disso, a ADH aumenta também a permeabilidade à ureia nesta região do DC. No entanto, a ureia para além de se acumular na medula interna, conduzindo à saída de água dos RDH e, conseqüentemente, à concentração de fluido tubular, volta a entrar no sistema tubular, através de um sistema de recirculação de ureia. Ademais, o NaCl pode difundir-se pelo interstício na porção medular interna dos ramos ascendentes, contribuindo também para a reabsorção de água nos ductos coletores (Figura 5) (Yang & Bankir, 2005; Verlander, 2009).

Figura 5: Permeabilidades diferenciais do sistema tubular e mecanismo de concentração de urina (Adaptado de Jamison & Maffly, 1979)



2.4.3.2- Papel da hormona antidiurética no mecanismo de concentração urinário

A ADH desempenha um papel de extrema importância na manutenção do ambiente hiperosmótico na medula interna uma vez que controla a expressão de um conjunto diversificado de proteínas chave, localizadas em lugares específicos do nefrónio, que modelam o mecanismo de concentração contracorrente.

A ADH regula a quantidade e expressão dos cotransportadores NKCC2 na superfície das células do RGA, que irá determinar a concentração de NaCl intersticial; coordena a

expressão dos canais de sódio epiteliais juntamente com a bomba de sódio e potássio (Na⁺/K⁺ATPase) no DC; aumenta a permeabilidade da ureia através do aumento da expressão de transportadores de ureia UT-A₁ e na membrana apical e UT-A₃ na membrana basolateral do DCMI; aumenta, também a expressão dos transportadores de ureia UT-A₂ no RDH e aumenta a reabsorção de água através do aumento da expressão dos transportadores de água AQP2 na superfície das células do DC (Hasler, 2009). Desta forma, a ADH aumenta a reabsorção de solutos e intensifica o gradiente osmótico para a reabsorção de água.

3 - Função glomerular

A determinação da TFG é o melhor indicador da função renal global, uma vez que está diretamente relacionado com a massa renal funcional. Esta pode ser determinada por diversos métodos com sensibilidades, especificidades e disponibilidades muito diferentes como a determinação de ureia e creatinina séricas, a depuração de creatinina endógena e exógena, a depuração plasmática de radioisótopos e a cintigrafia renal, entre outros (Heiene & Lefebvre, 2007).

3.1- Ureia sérica

A ureia é sintetizada no fígado através da amónia originada do catabolismo de proteínas tanto exógenas (dieta) como endógenas. Esta é excretada pelo rim através da filtração glomerular, estando a sua concentração sérica inversamente relacionada com a TFG. O limite máximo da ureia plasmática é aproximadamente 8-25 mg/dl (DiBartola, 2010).

A determinação da concentração plasmática de ureia não é um método de diagnóstico fiável na medição da TFG, uma vez que a concentração sérica de amónia é muito variável e, portanto, a produção e excreção de ureia não é feita a um ritmo constante. Esta pode estar aumentada quando são ingeridas dietas com alto teor proteico e, por esta razão, a sua medição só deve ser realizada com um jejum prévio de 8 a 12 horas. Estados catabólicos (jejum prolongado, infeção, febre), hemorragia gastrointestinal e a administração de alguns fármacos (tetraciclina, glucocorticóides e agentes antineoplásicos) também podem aumentar a ureia plasmática (Heiene & Lefebvre, 2007). Por outro lado, a concentração plasmática de ureia pode estar diminuída, quando são ingeridas dietas pobres em proteína, quando são administrados esteroides anabólicos e, também, em caso de insuficiência hepática grave ou em shunts portossistémicos.

Para além disso, a ureia, pode ser reabsorvida passivamente nos túbulos renais, principalmente quando o ritmo de fluxo tubular é lento, como acontece em caso de desidratação ou depleção de volume. Assim, nestas situações, há diminuição da depuração

de ureia sem que haja diminuição da TFG, sobrestimando a lesão renal (DiBartola, 2010). Ademais, como já foi dito anteriormente, a permeabilidade dos ductos coletores à ureia é influenciada pela presença de ADH (Heiene & Lefebvre, 2007).

Devido ao facto de a concentração plasmática de ureia ser influenciada por um conjunto de variáveis não renais, esta não é considerada um bom indicador da TFG (DiBartola 2011). A avaliação da função renal, usando apenas a concentração de ureia plasmática pode, no entanto, ser um indicador indireto útil e dar alguma informação quando determinado juntamente com a creatinina sérica (Heiene & Lefebvre, 2007).

3.2- Creatinina sérica

A creatinina é produzida através da degradação da creatina e creatina fosfato presente tanto no músculo-esquelético como nos alimentos, estando a sua produção diária dependente, principalmente da massa muscular do animal. O sistema músculo-esquelético contém cerca de 95% da creatina corporal total. Animais jovens têm menos creatinina sérica do que adultos, principalmente machos, uma vez que estes últimos têm maior massa muscular (Braun, Lefebvre, & Watson, 2003; DiBartola, 2010). Esta conversão de creatina em creatinina ocorre a um ritmo quase constante, sendo minimamente afetada pelo consumo de proteína, pelo metabolismo e pela atividade física. Ao contrário da ureia, a creatinina apenas é afetada por graus elevados de desidratação (> 5%) que sejam capazes de alterar a TFG (Braun et al., 2003; Heiene & Lefebvre, 2007; Hendy-Willson & Pressler, 2011). Esta é excretada quase exclusivamente por filtração glomerular e a sua concentração sérica varia inversamente com a taxa de filtração glomerular. Por conseguinte, a determinação da depuração da creatinina é um bom indicador da TFG (DiBartola, 2010).

Em humanos com insuficiência renal crónica, pode ocorrer difusão de creatinina para o intestino, onde esta é posteriormente hidrolisada em creatina, e uma parte é reabsorvida e outra parte é degradada pela flora intestinal e excretada pelas fezes. Todavia, este processo em cães não é significativo, visto que mais de 95% da creatinina administrada é recuperada pela urina em 24 horas (Braun et al., 2003).

A creatinina pode ser fracamente secretada nos túbulos renais proximais em cães, particularmente em machos, o que pode levar a sobrestimação da TFG. No entanto, segundo Finco e seus colaboradores (1991), este processo tem pouca relevância, mesmo em machos com insuficiência renal crónica. A raça também pode ter impacto na concentração de creatinina sérica. Variações intra-individuais e o sexo têm pouca influência. Certos fármacos podem afetar a creatinina plasmática, ao diminuir a TFG (gentamicina, anfotericina B, morfina, furosemida entre outras) (Braun et al., 2003).

A medição de creatinina é feita através da reação com ácido pícrico, conhecida por reação de *Jaffe* (Watson et al. 2002). Porém, esta reação não é específica para a creatinina,

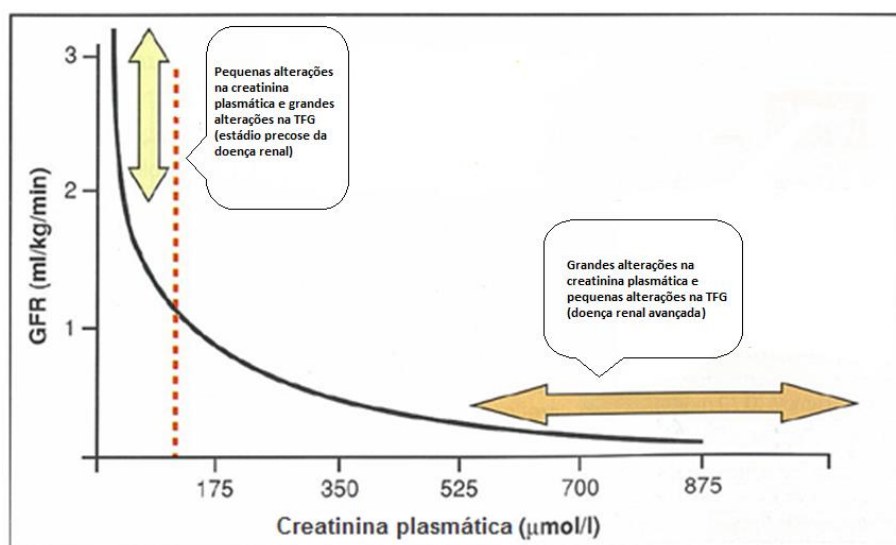
medindo um conjunto de outras substâncias cromogêneas sanguíneas. Apesar de não estarem presentes na urina, estas substâncias representam aproximadamente 50% da concentração de creatinina sérica normal. Contudo, quando surge perda de função renal e diminuição da TFG, a creatinina vai aumentando e os cromogêneos mantêm-se constantes. Uma das formas de ultrapassar esta não-especificidade da reação de *Jaffe* é através da medição da creatinina pelo método enzimático (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

Os valores de concentração de creatinina sérica em cães saudáveis encontram-se entre 0.3 a 1.3 mg/dl. O aumento de creatinina e ureia séricas, acima dos valores normais, quando causas extrarenais forem descartadas, significa que houve uma redução de cerca de 75% do parênquima renal funcional. Posto isto, a determinação da concentração de creatinina e ureia plasmática são pouco sensíveis na determinação de estadios precoces de disfunção renal. Ademais, nestes estadios existem grandes alterações na TFG, no entanto, apenas pequenas alterações de creatinina sérica. Por outro lado, na doença renal avançada, existem grandes alterações na creatinina sérica mas pequenas alterações da TFG. Assim sendo, a creatinina torna-se um marcador pouco sensível na determinação da diminuição da TFG ou a sua progressão em doentes com diminuição grave da função renal (Figura 6) (Heiene & Lefebvre, 2007; DiBartola, 2010).

A sensibilidade da determinação da creatinina sérica pode ser aumentada, através de medições consecutivas no mesmo paciente, ao longo do tempo. Um aumento maior que 35µmol/l (0,40 mg/dl) de creatinina plasmática, entre duas medições consecutivas, em cães adultos saudáveis pode ser indicativo de diminuição da TFG (Heiene & Lefebvre, 2007). Esta diminuição de sensibilidade da medição sérica de creatinina, também pode ser ultrapassada, através da determinação da depuração de creatinina endógena ou exógena (Braun et al., 2003).

Apesar disto, a determinação da concentração de creatinina plasmática, juntamente com a determinação da concentração de ureia plasmática, são atualmente, os parâmetros mais utilizados na clínica de rotina, para avaliar a função renal. Para além disso, a concentração de creatinina plasmática é usada no estadiamento da doença renal crónica em canídeos e felídeos pela International Renal Interest Society (IRIS) (Lefebvre, 2011).

Figura 6: Relação entre a TFG e a concentração de creatinina plasmática



3.3- Cistatina C

A cistatina C é uma molécula de baixo peso molecular (13 kDa) pertencente à superfamília de proteinases inibidoras de cisteína. É sintetizada em todas as células nucleadas a um ritmo constante e libertada durante processos inflamatórios, quando se processa a fagocitose. As suas principais funções são: controlar a inflamação, regular o catabolismo proteico intra e extracelular e a penetração de células tumorais. Pode ainda ter alguma função antiviral e antibacteriana (Wehner, Hartmann & Hirshberger, 2008; Miyagawa, Takemura & Hirose, 2009a; Salgado et al., 2010). Em humanos, a cistatina C é considerada melhor marcador indireto da TFG do que a creatinina sérica, principalmente quando estes apresentam diminuições ligeiras a moderadas da TFG. Em Medicina Veterinária, pelo contrário, ambos se relacionam bem com a TFG e ambos têm sensibilidades e especificidades muito semelhantes (0.78 e 0.98 para a cistatina C, e 0.66 e 0.94 para a creatinina) (Heiene & Lefebvre, 2007). A cistatina C não é grandemente influenciada pela dieta, idade e sexo. No entanto, estudos recentes em humanos mostraram que esta está aumentada, em homens de maior estatura e peso, com maior proporção de massa corporal magra e idade mais avançada (Hawkins, 2011).

A concentração sérica de cistatina C, em cães saudáveis, é cerca de 1 mg/dl (DiBartola, 2010). Esta é filtrada livremente nos glomérulos renais, não sendo secretada pelos túbulos renais, no entanto é quase totalmente reabsorvida e catabolizada por estes. Assim sendo, a determinação da sua depuração urinária não pode ser medida uma vez que a cistatina C praticamente não é excretada na urina (Salgado et al., 2010). Esta característica pode ser usada no diagnóstico de lesões tubulares, em que a sua concentração urinária poderá estar aumentada (Monti, Benchekroun, Berlato & Archer, 2012). A sua concentração pode,

também, ser afetada pela presença de inflamação ou neoplasia (DiBartola, 2010), ao contrário do que outros estudos indicam (Wehner et al., 2008). Em humanos, existem evidências de que altas doses de glucocorticóides (500mg de metilprednisolona) podem levar ao seu aumento. Também a função da tiróide parece influenciar a sua concentração sérica. Doentes com hipertiroidismo têm concentrações de cistatina C sérica aumentadas e doentes com hipotiroidismo têm concentrações de cistatina C sérica diminuídas (Salgado et al., 2010).

Um estudo feito por Wehner e seus colaboradores (2008) em cães, sugeriu que a cistatina C é um teste mais sensível (76% cistatina C sérica e 65% creatinina sérica) na determinação da diminuição da TFG. No entanto, o facto de a creatinina sérica ter uma maior especificidade (91%) do que a cistatina C (87%) não torna a medição da concentração de cistatina C um parâmetro superior à medição da concentração de creatinina plasmática. Porém, o uso de ambos poderá ser uma mais-valia no diagnóstico precoce de doença renal. Em suma, as vantagens da avaliação de cistatina C, como exame de diagnóstico, ainda são um pouco controversas em Medicina Veterinária, necessitando de mais investigação. Assim sendo, para uma avaliação mais precisa da TFG, é preferível usar a depuração de um marcador de filtração como a depuração de creatinina, em vez de adicionar à lista de exames complementares a determinação de cistatina C (DiBartola, 2010).

3.4- Determinação da taxa de filtração glomerular

Apesar da determinação da TFG ser o parâmetro que melhor avalia a função renal, a sua determinação é ainda uma ferramenta de diagnóstico e manejo da doença renal pouco usada em Medicina Veterinária (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011). Considerações práticas e de financiamento têm limitado o uso destas técnicas a centros de investigação, a alguns hospitais escolares a grandes hospitais privados (Heiene & Moe, 1998; Watson et al., 2002; Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

3.4.1- Definição dos conceitos de depuração e marcadores de filtração glomerular

A função excretória renal é feita pelo conjunto de processos que constituem a função glomerular (filtração) e a função tubular (secreção e absorção). Apesar de a função glomerular e tubular não poderem ser determinados diretamente podem, no entanto, ser estimados através da depuração de uma substância. A depuração de uma substância é o volume de plasma que é limpo dessa substância por unidade de tempo. Por exemplo, se a depuração é 10 ml/Kg, a quantidade de substância removida por quilograma será igual ao montante presente em 10ml de plasma. A substância depurada é designada por marcador de filtração (Heiene & Moe, 1998; Linnetz & Graves, 2010). Para ser considerado um

marcador de filtração ideal, este não pode ligar-se a proteínas, não pode entrar nos eritrócitos e, é apenas excretado pelos rins através da filtração glomerular, sem secreção ou reabsorção tubular. Para além disso, não pode ser tóxico para o organismo nem alterar a TFG (Heiene & Moe, 1998).

A inulina é considerada o marcador de filtração ideal, e a sua depuração é a técnica *gold standard* para a medição da TFG. No entanto, existem várias outras técnicas, tanto em Medicina Humana como em Medicina Veterinária, capazes de estimar a TFG. Estas técnicas diferem no marcador de filtração usado, na técnica de amostragem, na rapidez, nos custos, no modelo farmacocinético e na necessidade de licenças e instalações especializadas (Linnetz & Graves, 2010).

Os marcadores de filtração são classificados em radionuclídeos e não-radionuclídeos. Como os marcadores radionuclídeos requerem instalações especializadas, licenças, e pessoal treinado, o seu uso é limitado. Os marcadores não-radionuclídeos são subdivididos em agentes iodados e não-iodados. Estes, ao contrário dos anteriores, não requerem instalações especiais, licenças ou pessoal treinado. Os agentes iodados são classificados ainda em iónicos ou não-iónicos (Tabela 1) (Linnetz & Graves, 2010).

Tabela 1: Marcadores de filtração mais comumente usados (Adaptado de Linnetz & Graves, 2010)

Marcadores radioativos

- Inulina marcada com carbono 14 (^{14}C -Inulina)
- Ácido Tc 99m dietilenotriaminapentacético ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA)
- Ácido Cr 51 etilenediaminotetraacético (^{51}Cr -EDTA)

Marcadores não radioativos

- Iodados
 - Iónicos: Iotalamato
 - Não iónico: Iohexol, iopamidol
- Não iodados
 - Inulina
 - Creatinina (endógena ou exógena)

3.4.2- Indicação para a determinação da TFG

A determinação da TFG é já muito usada no ramo da investigação e também o poderá vir a ser na área de clínica. Esta está indicada em pacientes com sintomas clínicos vagos e com aumentos ligeiros da creatinina sérica. Auxilia na distinção de doença renal intrínseca de

outras causas de poliúria/polidipsia (PU/PD), proteinúria ou hematória em pacientes não azotémicos. Pode ajudar na determinação de prognóstico em pacientes com doença renal, diagnosticada previamente. Pode ser útil na monitorização e avaliação do ajuste de doses de fármacos com baixo índice terapêutico e que são eliminadas pelo rim, ou fármacos potencialmente nefrotóxicos. O seu uso pode, também, ser uma mais-valia na confirmação de lesões renais após um evento específico, como choque ou cirurgia extensa. Para além disso, é um exame vantajoso para a avaliação da função renal previamente a uma nefrectomia ou transplante renal (Heiene & Moe, 1998; Heiene & Lefebvre, 2007).

3.4.3- Depuração urinária e depuração plasmática

A depuração urinária de uma substância refere-se ao volume de plasma depurado, dessa mesma substância, que irá aparecer na urina. A depuração urinária de inulina é o método clássico de referência. A inulina é um polímero de frutose, que é eliminado do plasma exclusivamente através da filtração glomerular e cumpre os critérios de um marcador de filtração ideal. É administrada através de infusão contínua, de forma a que a sua concentração plasmática atinja um nível estacionário e valores constantes. A bexiga é esvaziada através de algaliação, e este procedimento é repetido após um determinado período de tempo, sendo colhida a urina formada nesse intervalo de tempo. O fluxo de urina (volume de urina produzida por unidade de tempo), a concentração plasmática e urinária de inulina são necessárias para calcular a depuração urinária de inulina, através da seguinte equação:

Equação 3: Cálculo da depuração urinária de uma substância

$$D_U = \frac{(U \times C_u)}{C_p}$$

Em que D_U se refere à depuração urinária, U é o fluxo de urina em ml/min, C_u é a concentração do marcador na urina expresso em mg/ml, e C_p é a concentração plasmática do marcador expressa em mg/ml (Heiene & Moe, 1998; Linnetz & Graves, 2010, Lefebvre, 2011).

Porém, para que a TFG não seja subestimada pela realização da depuração urinária de uma substância, é necessário fazer-se a colheita completa de urina. Desta forma, é imperativo o uso de algália ou de jaula metabólica, para a sua colheita periódica. Tal facto torna esta técnica pouco prática e, no caso de se optar por algaliar os animais, envolve riscos de infeção urinária (Heiene & Moe, 1998; Heiene, Lefebvre, 2007; Linnetz & Graves, 2010).

A determinação de depuração plasmática de um marcador de filtração surge assim, como alternativa à depuração urinária, para a determinação TFG. Se o marcador de filtração é

unicamente eliminado por via renal, através da filtração glomerular, não sendo excretado ou reabsorvido pelos túbulos renais, então a depuração renal é igual à depuração plasmática (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011). A depuração plasmática é determinada através da medição do ritmo de desaparecimento de um marcador após a sua administração por bolus intravenoso. Com esta técnica, apenas são necessárias colheitas periódicas de sangue, sem necessidade de colheitas de urina e algaliação. No entanto, o cálculo da depuração plasmática é mais complicado do que o cálculo da depuração urinária. Uma curva de desaparecimento do marcador é gerada através do logaritmo da concentração plasmática do marcador versus o tempo. Usando modelos farmacocinéticos é determinada a área sob a curva (ASC). A depuração plasmática é calculada dividindo a dose de marcador administrada (D) pela ASC.

Equação 4: Depuração plasmática de uma substância

$$D_{\text{plasma}} = \frac{D}{\text{ASC}}$$

Esta curva é determinada através de múltiplas colheitas de sangue em diversos intervalos de tempo durante um período de tempo previamente definido. O número de colheitas de sangue e os tempos em que estas são feitas, após a administração do marcador de filtração, estão dependentes do modelo farmacocinético escolhido (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011; Linnetz & Graves, 2010).

3.4.4- Modelos farmacocinéticos para o cálculo da TFG

Matematicamente para o cálculo da TFG, o organismo pode ser dividido em diversos compartimentos, dependendo do modelo farmacocinético aplicado. Assim, após a administração do marcador de filtração este distribui-se pelos vários compartimentos fisiológicos como o fígado, tecido adiposo e matriz extracelular (Heiene & Moe, 1998). A ASC da concentração plasmática do marcador *versus* o tempo é, então, definida de acordo com o número e o tipo de compartimentos usados na construção do modelo aplicado (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

No modelo farmacocinético mono-compartimental, assume-se que o organismo apenas tem um compartimento e que o marcador após administrado é imediatamente distribuído pelo corpo. Este modelo produz assim, uma curva de concentração de marcador, *versus* tempo mono-exponencial. Esta é representada por uma linha reta, em que a linha de declive entre quaisquer dois pontos de tempo é assumida como constante, durante a eliminação do composto. Por este motivo, este modelo torna-se aliciante uma vez que, não são necessárias muitas colheitas sanguíneas para produzir a curva. No entanto, a distribuição

imediate do marcador de filtração, na realidade, não ocorre, o que pode conduzir a um erro clinicamente relevante, no cálculo da TFG (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

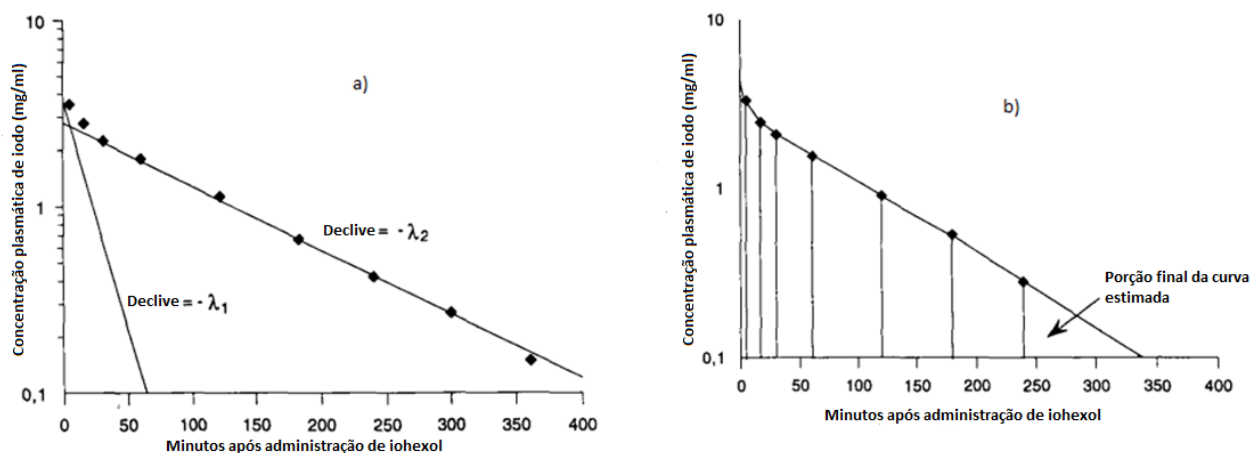
O modelo farmacocinético bi-compartimental tem em conta a distribuição do marcador de filtração pelos tecidos. O decréscimo plasmático do marcador, inicialmente, é devido ao seu transporte do sistema vascular para os tecidos corporais, seguido pela sua posterior eliminação do organismo. Este sistema é, então, representado por duas linhas retas e é considerado mais preciso do que o mono-compartimental (Figura 7a). No entanto, alterações no volume do fluido extracelular podem impedir a sua resolução, devido a uma redistribuição mais lenta, tornando este modelo inadequado (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

O modelo farmacocinético multi-compartimental considera mais do que dois compartimentos e cada um destes, é representado por uma linha reta de forma semelhante ao que acontece no modelo bi-compartimental (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011). No entanto, modelos com mais de três compartimentos raramente são usados uma vez que o aumento de precisão no uso de modelos mais complicados é considerado desnecessário (Heiene & Moe, 1998).

O modelo farmacocinético não-compartimental calcula a ASC, usando o método trapezoidal, somando a área de cada trapézio definido pela curva (Figura 7b). Este modelo tem a vantagem de não ser necessário definir-se qualquer compartimento, para além de ser mais preciso quando a depuração de um marcador ocorre de forma exponencial. No entanto, tem a desvantagem de necessitar de colheitas sanguíneas frequentes, até a maior parte do marcador ser eliminado. Isto deve-se ao facto de a porção final da curva ser estimada através da última colheita, em que supostamente a concentração plasmática do marcador é igual a zero. Assim, o término precoce de colheitas sanguíneas obrigam a que uma maior porção da curva tenha que ser estimada e conseqüentemente aumenta o erro no cálculo da TFG (Heiene & Moe, 1998; Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

Em suma, o uso de modelos farmacocinéticos veio permitir a determinação da TFG através de métodos mais práticos, simples e rápidos. Através da depuração plasmática evita-se a algaliação ou o uso de jaulas metabólicas para colheita completa de urina (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

Figura 7: Concentração plasmática de iohexol versus tempo num modelo di-compartimental;
 b) Concentração plasmática de iohexol versus tempo num modelo não comportamental da
 concentração versus tempo (Adaptado de Heiene & Moe, 1988)



3.4.5- Variabilidade da TFG e sua padronização

Existe, ainda hoje, uma grande variabilidade nos valores de referência da TFG. Num estudo realizado por Miyagawa, Takemura e Hirose (2009b), a média da depuração plasmática de iohexol (DPI) utilizando três amostras sanguíneas no grupo controlo, mostraram resultados significativamente diferentes. Isto vai de encontro a muitos estudos que comprovam que os valores de referência para a TFG são bastante variáveis em cães saudáveis. Isto poderá acontecer, uma vez que os rins destes cães apresentam uma ampla reserva funcional. Para além disso, a TFG pode ser afetada por diversos fatores não renais como a dieta, o ambiente, o estado de hidratação, o método de medição da TFG e o modelo farmacocinético usado para o cálculo a ASC. Por conseguinte, deve-se usar cada cão como o seu próprio controlo e os valores de referência para a TFG deverão ser estabelecidos por cada laboratório (Goy-Thollot et al., 2006a; Miyagawa et al., 2009b).

A unidade padrão para a depuração e TFG é representada por mililitros por minuto (ml/min). Porém, a sua utilidade é questionável uma vez que não tem em conta o tamanho corporal, ou seja, valores de TFG normais num gato podem ser muito diferentes dos valores normais para um cão. Até dentro da mesma espécie os valores podem diferir muito devido à diversidade de tamanhos e pesos nas diferentes raças de cães. Assim, para ultrapassar este facto, tanto em Medicina Humana como em Medicina Veterinária a TFG é sempre padronizada a alguma medida de tamanho corporal. Em Medicina Humana utiliza-se a área de superfície corporal (ASupC) e em Medicina Veterinária utiliza-se a peso corporal (PC). Desta forma, a TFG em Medicina Veterinária é usualmente expressa em ml/min/Kg, permitindo a comparação de indivíduos com diferentes portes. Assume-se, assim, que a captação ou depuração renal é diretamente proporcional ao peso corporal. No entanto,

expressar a TFG em termos de PC pode não ser a relação fisiológica mais correta, principalmente em cães de porte pequeno (<10Kg) ou grande (>50Kg). Para além disso, a gordura tem um baixo ritmo metabólico contribuindo pouco para a TFG. Em humanos, os valores padrão da depuração são representados através da ASupC (ml/min/m² ou ml/min/1.73m².) uma vez que esta se encontra bem relacionada com o ritmo metabólico basal. No entanto, uma estimacão correta da ASupC em cães é difícil devido à diversidade de formas e tamanhos encontrados nas diferentes raças. O volume de fluido extracelular, também tem sido utilizado como método de padronizacão, uma vez que a sua regulacão está intimamente ligada à TFG. Todavia, os resultados, utilizando este método, têm sido controversos e mais estudos são necessários para a sua utilizacão como método padrão. Por conseguinte, é necessária mais investigacão nesta área de forma a encontrar o método ideal de padronizacão para a determinacão da TFG em veterinária (Heiene & Moe, 1998; Goy-Thollot, Chafotte, Besse, Garnier & Barthez, 2006a; Linnetz & Graves, 2010; Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

3.4.6- Técnicas e marcadores utilizados

3.4.6.1- Inulina

A inulina é um polímero da frutose que preenche grande parte dos critérios necessários para um marcador de filtração. No entanto, os problemas práticos da inulina e a sua análise laboratorial limitam o seu uso. Muitas vezes é necessário usar sedacão para algaliar os animais e a algaliacão envolve alguns riscos, como já foi referido anteriormente. A necessidade de uma colheita completa e precisa de urina, durante 24 horas através, de algaliacão ou utilizacão de uma jaula metabólica, torna a depuracão urinária de inulina um exame complementar pouco prático. Para além disso, a determinacão precisa da depuracão urinária de inulina (DUI) está dependente do conhecimento da concentracão plasmática de inulina em cada instante em que a urina está a ser colhida. Este pré-requisito seria facilmente atingido se a concentracão de inulina se mantivesse constante durante todo o procedimento de colheita de urina onde, neste caso, apenas uma colheita de sangue seria necessária. Na prática, a inulina não se mantém constante no plasma e para se conseguir determinar corretamente a TFG, são necessárias mais do que uma colheita sanguínea. Alteracões repentinas, tanto na concentracão plasmática de inulina como no ritmo de fluxo de urina podem afetar a precisão da mediçao da depuracão urinária (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

Um estudo reportado em 2003 (Buranakarl, Kijawornrat, Nampimoon, Chaiyabutr, Bovee, 2003) avaliou a validade do uso da depuracão plasmática de inulina (DPI) administrada numa injeçao única comparando com a depuracão urinária de creatinina exógena (PUCEx)

em cães com fluxo renal reduzido. Este estudo concluiu que, a determinação da TFG através da DPI se encontra estreitamente relacionada com a depuração urinária de creatinina exógena.

O desenvolvimento de um ensaio enzimático da inulina veio permitir o seu uso em procedimentos de rotina. Este utiliza o polifrutosan-S (Sinistrina) que é um polifrutosan similar à inulina. Um estudo (Haller, Muller, Binder, Estelberger, & Arnold, 1998) refere que a sua depuração, usando o método de injeção única, é um exame complementar útil no diagnóstico de doença renal em estadio precoce. Para além disso, elimina a necessidade de colheita de urina, que, por sua vez, pode ser uma fonte de erro. Apenas é necessário administrar pequenos volumes e o equipamento necessário é pouco dispendioso. Nesse estudo, a depuração plasmática da Sinistrina, foi considerado um método pouco dispendioso, simples e preciso.

Recentemente, a inulina tornou-se comercialmente disponível através de um método enzimático automatizado (Kimata, Mizuguchi, Hattori, Teshima, & Orita, 2009) e novos estudos têm sido feitos de forma a determinar a TFG pela depuração plasmática de inulina sem necessidade de colheita de urina (Nishida, Uechi, Kono, Harada, & Fujiwara, 2012). Segundo Nishida e seus colaboradores (2012), a TFG pode ser estimada pela infusão ou depuração plasmática de inulina em cães saudáveis, no entanto, mais estudos são necessários em animais com doença renal. Valores reportados para a DUI encontram-se entre 3.39 ± 0.73 e 4.60 ± 0.15 mL/min/Kg em cães saudáveis (Linnetz, Graves, 2010).

Nos últimos anos, diferentes marcadores têm sido também validados como alternativa à depuração de inulina, incluindo a creatinina, marcadores radioativos como o ^{99m}Tc -pentetate e o ^{51}Cr -EDTA e marcadores iodados de meio de contraste radiográficos (Goy-Thollot, Chafotte, Besse, Garnier, Barthez, 2006a)

3.4.6.2- Creatinina

A depuração tanto urinária como plasmática de creatinina endógena e/ou exógena tem sido muito estudada nos últimos anos, uma vez que é uma substância acessível e a sua determinação é simples e pouco dispendiosa. Para além disso, cumpre a maioria dos pré-requisitos para ser considerada um bom marcador de filtração. A potencial desvantagem da creatinina, como referido anteriormente, prende-se com o facto de esta poder ser secretada nos túbulos renais, principalmente em machos (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

A depuração urinária de inulina e creatinina são considerados os métodos de referência na medição da TFG em humanos e animais. No entanto, a depuração urinária de creatinina endógena (DUCEd) apresenta as mesmas desvantagens da DUI, sendo estes métodos muito pouco práticos em cenários clínicos (Miyagawa, Takemura & Hirose, 2009b). Para além disso, a indicação para este teste surge em pacientes não azotémicos com suspeita de

doença renal em e que a persistência sérica de cromogéneos sanguíneos podem influenciar os resultados da TFG, contribuindo para valores falsamente menores da TFG. Este facto, como dito anteriormente, pode ser evitado pela determinação de creatinina pelo método enzimático, apesar de a medição de creatinina endógena por este método também ter tido resultados bastante controversos quando comparados com a DUI. Apesar de a precisão da DUCEd ainda não ter sido completamente estabelecida esta é cada vez menos utilizada, uma vez que novos métodos têm surgido com resultados mais fiáveis e fáceis de executar (DiBartola, 2010; Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

Para ultrapassar os problemas inerentes à DUCEd, desenvolveu-se o método de depuração de creatinina exógena (DCE). Para a sua realização, é necessário a administração de creatinina exógena por via subcutânea (SC), via endovenosa (IV), por *bolus*, ou infusão contínua, de forma a aumentar a creatinina plasmática ao ponto de os cromogéneos sanguíneos poderem ser considerados insignificantes. A sua depuração pode, posteriormente, ser avaliada pelo método plasmático ou urinário uma vez que ambas as técnicas apresentam boa correlação com a DUI (Finco, Coulter, Barsanti, 1981; Finco et. al., 1991; Watson, Lefebvre, Concordet, Laroute, Ferré, Braun, Conchou, & Toutain, 2002; Von Hendy-Wilson & Pressler, 2011).

A depuração plasmática de creatinina exógena (DPCEx) tem sido alvo de muitos estudos uma vez que é um método de determinação da TFG simples, facilmente acessível e sem grandes custos. Esta pode ser medida através da análise farmacocinética da curva representada pela concentração plasmática de creatinina exógena-tempo. A caracterização desta curva é conseguida, determinando a concentração de creatinina exógena plasmática, ao longo do tempo, através de colheitas múltiplas e seriadas de sangue (Finco, 2005). A DPCEx ou sobrestima a TFG ou leva a resultados muito similares quando comparado com a DUI e portanto foi considerado um bom indicador da TFG em cães (Watson et al., 2002; Finco, 2005). Tem a vantagem de não necessitar de colheitas de urina, sendo uma técnica mais simples e prática de executar num cenário clínico. Contudo, a sua precisão está dependente do modelo farmacocinético utilizado para o cálculo da ASC de concentração de creatinina plasmática-tempo, do número e do arbítrio das colheitas sanguíneas feitas para o seu cálculo. As colheitas sanguíneas devem prolongar-se por um período superior a 10 horas em animais com disfunção renal (diminuição da TFG em 60-70%). No entanto, em cães não azotémicos poderá ser adequado prolongar as colheitas sanguíneas por um período inferior a 10 horas, porém, esta hipótese requer validação (Watson et al., 2002; DiBartola, 2010 Von Hendy-Wilson & Pressler, 2011).

Segundo Lefebvre e seus colaboradores (2004), a média de valores TFG determinada pela DPCEx em cães saudáveis é de $3,0 \pm 0,68$ mL/kg/min

Neste trabalho, escolheu-se a DPCEx para avaliar a função renal, uma vez que é um dos métodos considerados de referência na medição da TFG. Para além disso, a sua

determinação é fácil e pouco dispendiosa e principalmente, por os equipamentos necessários para a sua medição, se encontrarem disponíveis no laboratório de farmacologia e toxicologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

3.4.6.3- Marcadores radioativos

Os radioisótopos podem ser usados para estimar a TFG em cães, através da depuração plasmática dos mesmos ou através da cintigrafia renal. Esta última baseia-se na captação do marcador radioativo pelo rim (Daniel, Mitchell, Mawby, Sackman, Schmidt, 1999). Os marcadores radioativos têm ganho popularidade ao longo dos anos, uma vez que a sua concentração plasmática é fácil de aceder (Barthez, Chew, & DiBartola, 2001). A depuração plasmática destes agentes têm as mesmas vantagens e limitações, como descrito anteriormente, no entanto os procedimentos que utilizam radioisótopos, exigem conhecimentos técnicos e equipamentos especializados, geralmente disponíveis em institutos de referência, que trabalhem com medicina nuclear.

O ^{125}I ou ^{131}I -iotalamato, ácido ^{51}Cr -etilenodiaminatetracético (EDTA) e o ácido $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -dietilenediaminatetracético (DTPA) são exemplos de marcadores de filtração aceites para a determinação da TFG em cães.

O ^{125}I ou ^{131}I -iotalamato foram os primeiros marcadores radioativos a serem investigados para a determinação da TFG, no entanto, estes foram substituídos por agentes mais recentes como o EDTA e o DTPA. O iotalamato é um agente radioativo de contraste com um elevado potencial de toxicidade quando comparado com os novos agentes de contraste. Os nuclídeos iodados têm tempos de semivida longos (60 dias para o [^{125}I] e 8 dias para o [^{131}I]), tornando-os indesejados por razões de segurança (Heiene, Moe, 1998; Daniel et al., 1999; Von Hendy-Willson, Pressler, 2011).

O $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA (também conhecido como $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pentetato) é largamente utilizado como marcador de filtração para a medição da TFG e é excretado exclusivamente por filtração glomerular, sem sofrer absorção ou excreção tubular, estando a sua depuração diretamente relacionada com a TFG (McAfee, Grossman, Gagne, Zens, Subramanian, Thomas, Fernandez, & Roskopf, 1981; Daniel et al., 1999; Kampa, Bostrom, Lord, Wennstrom, Ohagen, Maripuu, 2003). Para além disso, apesar de os marcadores radioativos serem muito estáveis no sangue e, como tal, facilmente armazenados e/ou enviados para laboratórios especializados em medicina nuclear, o tempo de semivida do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA é apenas de cerca de 6 horas (Von Hendy-Willson, Pressler, 2011). A porção de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA ligada a proteínas é importante, uma vez que esta fica indisponível para a filtração glomerular, subestimando a TFG. Em cães, apenas uma quantidade mínima (<10%) de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA liga-se a proteínas, não sendo significativa para influenciar a TFG (Daniel et al., 1999; Kampa et al., 2003).

A determinação da TFG pela depuração plasmática de $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ ($\text{DP}^{99m}\text{Tc-DTPA}$) após a sua administração IV foi validada tanto em humanos como em cavalos, cães e gatos, posteriormente a ter sido comparada com a DUI (Barthez et al., 1998; Kampa et al., 2003; Barthez, Chew, & DiBartola, 2001). Os valores da $\text{DP}^{99m}\text{Tc-DTPA}$ são altamente variáveis em cães. Diferenças na técnica usada para a determinação da TFG, podem constituir uma explicação plausível para as variações destes valores. Para além disso, TFG pode variar de cão para cão e no mesmo animal em alturas diferentes (Kampa, Bostrom, Lord, Wennstrom, Ohagen, Maripuu, 2003; Finco 2005).

Um benefício adicional do uso de marcadores radioativos é a possibilidade de se realizar uma cintigrafia renal com o uso de uma câmara gama, para estimar tanto a TFG individual de cada rim como a TFG global, através da percentagem de absorção da dose de marcador por cada rim. Para além da determinação da TFG, esta também oferece informações sobre fluxo sanguíneo renal, anatomia e integridade da função do sistema coletor (Daniel et al., 1999; Daniel et al., 1999). A determinação da TFG por cintigrafia tem a vantagem clínica, de ser um método rápido e não invasivo, sem necessidade de colheitas sangue ou de urina. No entanto, a sua realização pode apresentar maior margem de erro devido à inexperiência do operador e problemas relacionados com a própria técnica. Ademais, ao contrário do que acontece com a depuração plasmática dos mesmos marcadores, as medições na câmara gama requerem aquisição de imagem quase imediatamente após a administração do marcador (1-3 minutos após administração IV). Este facto é considerado por alguns investigadores um problema, visto que há possibilidade de secreção de $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ para a bexiga dentro desse tempo, o que pode contribuir para a uma maior variabilidade da TFG entre cães. Por outro lado, em caso de obstrução renal a porção de $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ captada pelo rim não conseguirá sair deste e assim, pode sobrestimar a TFG (Barthez, Hornof, Cowgill, Neal, Mickel, 1998; Von Hendy-Willson, Pressler, 2011). Para além disso, os valores da TFG podem variar consideravelmente no mesmo animal com função renal normal ou perto do normal, devido aos mecanismos de autorregulação, que alteram a TFG para acomodar as alterações no fluxo e pressão sanguínea renal. Desta forma, em scans repetidos, os valores deverão variar. Estas pequenas variações irão causar variabilidade fisiológica dentro de um certo intervalo de valores para o mesmo cão. A perda desta variabilidade seria evidência de insuficiência renal iminente (Barthez et al., 1998). Como tal, a cintigrafia renal é um método menos preciso quando comparado com o método de depuração plasmática de um marcador de filtração (Barthez, et al., 1998; Von Hendy-Willson, Pressler, 2011).

3.4.6.4-Iohexol

O iohexol é um agente de meio de contraste, iodado, não iônico e de baixa osmolaridade, que pode ser usado como marcador de filtração para a determinação da TFG. O sucesso na obtenção de estimativas precisas e reproduzíveis da TFG em seres humanos, usando iohexol, tem estimulado a realização de estudos semelhantes em animais (Von Hendy-Willson, Pressler, 2011). O iohexol tem sido o meio de contraste radiográfico não radioativo mais comumente usado. Este é particularmente, adequado para usar em cenários clínicos uma vez que se encontra comercialmente disponível e acessível, para além de permitir a análise de amostras de pequeno volume. Estes compostos iodados, como o iohexol, são muito estáveis em amostras plasmáticas, podendo ser refrigerados durante 2 semanas (Heiene & Moe, 1998) ou congelados indefinidamente sem afetar a análise (Braselton, Stuart & Kruger, 1997; Linnetz & Graves, 2010; Von Hendy-Willson, Pressler, 2011). A porção de iohexol, que se liga a proteínas é inferior a 1% e é excretada inalterada na urina possuindo um tempo de semi-vida em média de 74 minutos (Rocco, Buckalew, Moore, & Shihabi, 1996a; Von Hendy-Willson, Pressler, 2011). Uma vez que o iohexol é um marcador não iônico e apresenta baixa osmolaridade, é bastante seguro e é raro surgirem efeitos adversos com a sua administração, mesmo em pacientes com função renal comprometida (Linnetz & Graves, 2010; Von Hendy-Willson, Pressler, 2011).

Vários métodos têm sido desenvolvidos para determinar a concentração de iohexol em amostras de urina, soro e plasma. Estes incluem a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Shihabi, Thompson & Constantinescu, 1993; Gaspari et al., 1995; Annesley & Clayton, 2009), a espectroscopia de emissão atômica (inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy – ICP-AES) (Braselton et al., 1997), a electroforese capilar (EC) (Shihabi & Constantinescu, 1992; Rocco, Buckalew, Vardaman, Moore & Shihabi, 1996b), o método de cérico-arsenito (Back, Masson, & Nilsson-Ehle, 1988; Brown, Haberman & Finco, 2001), a fluorescência de raio-X (Brown et al., 1996; Frennby, 1997; Miyagawa, Takemura, Hirose, 2009b) e a cintilação de contadores gama.

Os valores normais para a DPI em cães são 1,7-4,1 ml/min/kg (Goy-Thollot 2006a). Não foi observada qualquer diminuição da DPI com a idade, em cães, no entanto evidências sugerem que cães de porte muito pequeno podem ter DPI mais altas do que cães de grande porte (Bexfield et al., 2008).

Finalmente, o gadolínio, um agente de contraste usado em estudos de imagem de contraste de ressonância magnética, pode ser útil como alternativa ao marcador iohexol, tanto por via direta, através da medição da sua depuração plasmática ou através da sua ligação a um radionuclídeo. Os estudos sobre este marcador são no entanto ainda limitados (Nolan, Ross, Vaccaro, Groman & Reinhardt, 2009; Magnotti, Connell, & Marietta, 2009).

4 - Doença renal crônica

A doença renal crônica (DRC), caracterizada por uma deterioração progressiva e irreversível da TFG, é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em cães. Independentemente da causa ou causas que possam levar à DRC, esta é caracterizada por lesões funcionais e/ou estruturais irreversíveis em um ou ambos os rins (Nelson & Couto, 2006a; Cortadellas, Fernández del Palacio, Talavera & Bayón, 2008; Cortadellas, 2009; Polzin, 2010).

A prevalência da DRC em cães atinge cerca de 0,5-1,5% e aumenta com a idade. Em instituições de referência, a DRC afeta cerca de 10% dos cães geriátricos (Brown, 2007b).

Tanto em Medicina Veterinária como em Medicina Humana, a insuficiência renal crônica é definida como: 1) lesões renais que se estendem por um período de pelo menos 3 meses, com ou sem diminuição da TFG ou 2) diminuição da TFG superior a 50% e em humanos uma TFG igual ou inferior a 60 mL/min/1,73m², persistindo durante pelo menos 3 meses (Polzin, 2010; KDIGO, 2013). Por sua vez, lesões renais são definidos como: 1) alterações microscópicas ou macroscópicas detetadas por biópsia renal ou visualização direta dos rins ou 2) existência de marcadores de lesão renal detetados no sangue, na urina ou em estudos de imagem (Anexo 3 – Tabela 28) (Polzin, 2009).

Apesar de a DRC ser conhecida pela sua irreversibilidade o seu curso é lento. Posto isto, é de extrema importância, um diagnóstico precoce de forma a aplicarem-se medidas terapêuticas de suporte, de forma a retardar e estabilizar a sua progressão, permitindo ao animal viver com qualidade de vida o máximo de tempo possível (Nelson, & Couto, 2009; Polzin, 2010).

4.1- Etiologia

A deteção precoce da DRC e sua etiologia primária juntamente com realização de uma terapêutica dirigida à causa primária, responsável pela perda de função renal, seria o cenário clínico mais desejado (Polzin, 2011). No entanto, na grande maioria dos casos, a causa da DRC é difícil de determinar, uma vez que a maioria dos pacientes com DRC são diagnosticados relativamente tarde no curso da doença e a causa primária, que levou à lesão renal inicial, já não é possível de identificar. Isto deve-se essencialmente a três particularidades do rim. A primeira é devido à interdependência existente entre as várias estruturas dos nefrónios (glomérulos, capilares peritubulares, túbulos e tecido intersticial), o que faz com que qualquer lesão naquele nível afete inevitavelmente as restantes, resultando num exame histopatológico inconclusivo. A segunda prende-se com o facto de, independentemente dos agentes etiológicos, as respostas funcionais e morfológicas do parênquima renal serem em número limitado. A terceira particularidade do rim deve-se ao

facto de, após a maturação dos nefrónios, a qual ocorre aproximadamente ao mês de idade, não poderem ser formados novos nefrónios, para substituir outros que foram irreversivelmente afetados pela doença (Polzin, 2010; Polzin 2011).

Apesar da irreversibilidade das lesões renais associadas à DRC, é de extrema importância ter-se conhecimento das diversas causas que podem levar ao seu desenvolvimento, e determinar se a etiologia ainda está ativa. De acordo com alguns autores, as principais causas de IRC (Anexo 2 – Tabela 28) em cães, podem ser divididas em dois grandes grupos: Doenças renais congénitas ou familiares e causas adquiridas. Destes grandes grupos, encontramos as doenças imunológicas, neoplasias, quer primárias quer secundárias, substâncias nefrotóxicas, causas inflamatórias ou infecciosas, isquémia renal, obstrução ao fluxo urinário, entre outras (Nelson & Couto, 2009; Polzin, 2010).

4.2- Fisiopatologia

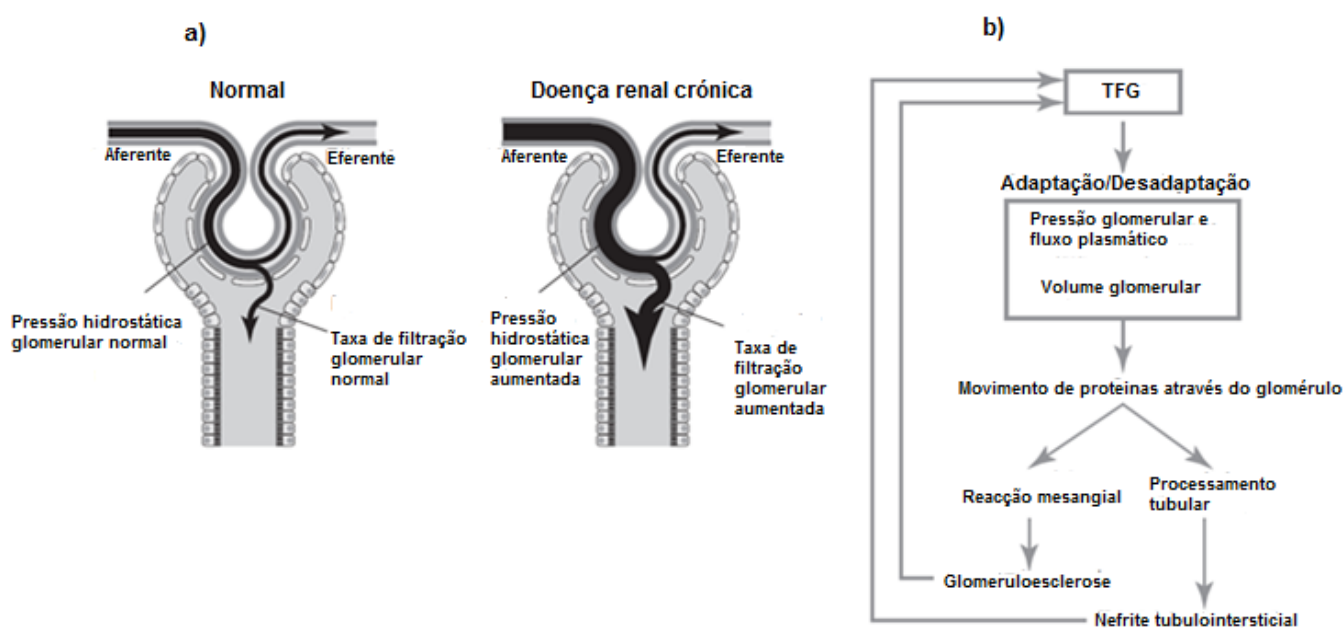
A perda da função renal, que ocorre na DRC, é caracterizada por um declínio progressivo na quantidade de nefrónios funcionais. A redução no número de nefrónios funcionais deve-se, inicialmente, ao resultado de uma doença primária que afeta o rim ou rins do paciente. A perda contínua de nefrónios, que ocorre subsequentemente ao decréscimo do número de nefrónios remanescentes, é designada de "progressão espontânea" da DRC. Esta ocorre em parte como consequência de adaptações estruturais, funcionais e metabólicas que atenuam, inicialmente, o declínio da função renal que acompanha a perda de nefrónios. As respostas renais adaptativas são vantajosas a curto prazo, uma vez que ajudam a manter a função renal global. Os rins adaptam-se à perda de nefrónios, através do recrutamento dos nefrónios remanescentes, para tentar recuperar a maior parte da função perdida (Polzin, 2010; Polzin 2011).

Porém, a longo prazo, estas adaptações tornam-se deletérias, visto que os nefrónios funcionais sobreviventes irão aumentar a sua TFG individual (hiperfiltração) de forma a manter a TFG global (Figura 8a). A hiperfiltração dos nefrónios remanescentes irá levar ao aumento de perda de proteína por cada nefrónio funcional. A filtração aumentada de proteínas através dos glomérulos é tóxica para o rim e pode contribuir, ainda mais, para a progressão da doença renal. O aumento da carga filtrada de proteína sobrecarrega as células tubulares proximais, conduzindo à rutura de lisossomas e exposição das células tubulares e interstício renal a enzimas prejudiciais, que, consequentemente, levam a hialinização e esclerose glomerular e à progressão espontânea da DRC (Figura 8b) (Nelson & Couto, 2009; Chew, DiBartola, & Schenck, 2011; Polzin, 2011). O rim torna-se insuficiente quando a diminuição do número de nefrónios e consequente diminuição da TFG, resulta num aumento das concentrações de substâncias, que normalmente são eliminadas do

organismo por excreção renal, ou seja, quando cerca de 75% dos nefrônios funcionais foram irreversivelmente lesados (Nelson & Couto, 2009; Polzin, 2010).

A TFG em humanos, com estágios iniciais da doença glomerular secundária a lúpus eritematoso ou diabetes *mellitus*, tal como acontece nos animais, é altamente variável, podendo observar-se pacientes com hiperfiltração glomerular compensatória, pacientes com TFG normal ou outros com TFG diminuída (Cottiero, Madaio, Levey, 1995; Taniwaki et al., 2000). Um estudo, levado a cabo por Cortadellas e seus colaboradores (2008), que avaliaram a TFG em cães com leishmaniose, através da DCE alcançam conclusões similares. Nestes animais, tal como nos homólogos humanos, observou-se diminuições da TFG, mas também hiperfiltração glomerular. Assim, casos de hiperfiltração glomerular podem não refletir uma normalização da TFG mas implicar uma perda clinicamente importante da capacidade de filtração dos pacientes.

Figura 8: a) Alterações adaptativas dos nefrônios associadas a perdas estruturais (Adaptado de Chew, DiBartola, & Schenck, 2011); b) hipótese para a perda progressiva da TFG e aumento das lesões renais na DRC (Adaptado de Chew, DiBartola, & Schenck, 2011)



4.3 – Consequências clínicas e métodos de diagnóstico

Qualquer agente etiológico que afete o rim, é suscetível de alterar tanto a sua estrutura como a sua função. É, no entanto, a manutenção ou não da função renal que dita o impacto desta doença no paciente, podendo apresentar inúmeras consequências clínicas (Tabela 2). A deteção e confirmação precoce de DRC, requer uma triagem elaborada com aplicação criteriosa de exames complementares, incluindo testes de função renal, urianálise,

imagiologia do sistema urinário e biópsia renal (Tabela 3). Embora a terapia específica, dirigida à eliminação ou controle da causa primária, não altere substancialmente as lesões renais existentes, é importante, no contexto, minimizar os danos nos nefrônios (Polzin, 2011).

Tabela 2: Consequências clínicas da DRC (Polzin, 2010)

Afeções do trato gastrointestinal	Anorexia, náusea, vômito (e consequentemente perda de peso), diarreia, melena, hematoquézia, ulceração da mucosa oral, estomatite e halitose.
Alterações na concentração e produção urinária	Poliúria-polidipsia, noctúria, incontinência urinária, diminuição da densidade urinária (normalmente para valores inferiores a 1.035).
Consequências cardiovasculares e hipertensão arterial	Os valores não devem exceder 160-170 mmHg de pressão sistólica. A partir deste valor o risco de lesão de órgãos aumenta. A pressão arterial é classificada por categorias de risco no sistema de estadiamento IRIS em 4 etapas, cada uma refletindo sucessivamente de 0-3, risco mínimo, baixo, moderado ou elevado de hipertensão associada à lesão de órgão.
Alterações neuromusculares	Encefalopatias, neuropatias, miopatias
Alterações hematológicas	Anemia (não regenerativa, normocrômica e normocítica) e hemorragias secundárias à urémia (diáteses hemorrágicas, hematémese, melena, hematoquézia)
Hiperparatiroidismo secundário	Osteodistrofia renal, fraqueza e letargia. É consequência de uma retenção de fósforo e de uma diminuição na produção de calcitriol.

Tabela 3: Métodos de diagnóstico da DRC

Apresentação laboratorial	
Acidose metabólica, azotémia, hiperfosfatémia, normocalémia ou hipocalémia, hipermagnesiémia, hipercalcémia ou hipocalcémia	
Testes de função renal	
Medição da TGF pela depuração de um marcador de filtração (inulina, creatinina, etc.), principalmente se houver suspeita de DRC, sem alterações nos parâmetros bioquímicos (estadio 1 e início do estadio 2 da classificação da IRC pela IRIS). Os valores de referência da TFG, através da DPCEX, encontram-se entre 2,32 – 3,68 ml/min/Kg (Lefebvre et al., 2004).	
Métodos magiológicos	
Radiologia e Ecografia	Radiologia: Rins de tamanho diminuído; Ecografia: Aumento da ecogenecidade, corticais difusamente hiperecogénicas com perda do limite cortico-medular.
Biópsia renal	
Só se justifica quando o resultado do exame influencia o tratamento ou prognóstico da doença.	

4.4 - Estadiamento da doença renal crónica

O estadiamento da DRC deve ser realizado após o diagnóstico, no sentido de facilitar a escolha de um tratamento apropriado para cada paciente, bem como uma monitorização adequada (International Renal Interest Society (IRIS) (2007)).

Numa primeira fase, o estadiamento baseia-se na medição, em jejum, de creatinina plasmática, pelo menos, duas vezes no paciente estável e hidratado. Depois, é feito outro estadiamento de IRC, desta vez com base na proteinúria e pressão sanguínea.

As tabelas seguintes, representam a classificação/estadiamento da IRC (Tabelas 4, 5 e 6). Encontram-se em anexo, ilustrações representativas da mesma (Anexo 3 - Figuras 12 e 13).

Tabela 4: Estadiamento com base na concentração de creatinina plasmática (IRIS, 2007)

Estadiamento	Creatina plasmática µmol/l mg/dl	Descrição
1	<125 <1.4	Ausência de azotémia. Presença de uma outra anomalia renal. Exemplo: incapacidade de concentração sem causa não renal identificável; palpação renal anormal, ou achados imagiológicos renais anormais; proteinúria de origem renal; achados de biopsia renal anormais.
2	125 - 179 1.4 - 2.0	Azotémia renal ligeira. Sinais clínicos normalmente ligeiros ou ausentes.
3	180 - 439 2.1 - 5.0	Azotémia renal moderada. Vários sinais clínicos sistémicos podem estar presentes.
4	> 440 > 5.0	Azotémia renal grave. Muitos sinais clínicos extra-renais estão presentes

Tabela 5: Substadiamento com base nos valores de proteinúria (IRIS, 2007)

Valores de UPC	Estadiamento
<0.2	Não-proteinúrico (NP)
0.2 – 0.5	<i>Borderline</i> -proteinúrico (BP)
>0.5	Proteinúrico (P)

Tabela 6: Substadiamento com base nos valores de pressão sanguínea (PS) (IRIS, 2007)

PS sistólica	PS diastólica		Substadiamento
<150	<95	<10 mm Hg acima do VR	Risco mínimo (N)
150 – 159	95 – 99	10 - 20 mm Hg acima do VR	Risco baixo (L)
160 – 179	100 – 119	20 - 40 mm Hg acima do VR	Risco médio (M)
180	120	40 mm Hg acima do VR	Risco elevado (H)
Sem evidência de complicações ou lesões orgânicas			Sem complicações (nc)
Evidência de complicações ou lesões orgânicas			Complicações (c)
Pressão sanguínea não medida			Risco não determinado (RND)

Apesar de ainda ser muito pouco usada como teste de diagnóstico precoce de DRC, a TFG pode ser medida com maior precisão usando a depuração plasmática de creatinina, iohexol, inulina, ou de outras substâncias excretadas exclusivamente por filtração glomerular, como referido anteriormente. A medição da TFG, através da depuração plasmática de um marcador de filtração fornece uma medida precisa de disfunção renal em pacientes com DRC estadio 1, onde as determinações de creatinina sérica são notoriamente insensíveis. Proporciona também, uma base para o ajuste das doses de medicamentos potencialmente nefrotóxicos e são excretados principalmente pelos rins (Anexo 3 – Tabela 30). Adicionalmente, são um excelente meio de avaliar a progressão da DRC (Polzin, 2010).

Em humanos, o estadiamento é feito com base na presença ou ausência de marcadores de doença renal e nos níveis da TFG. Assim, todos os indivíduos com TFG <60 mL/min/ 1,73m² há pelo menos 3 meses, são classificados como tendo doença renal crônica, independentemente da presença ou ausência de lesão renal (KDIGO, 2013).

Em Medicina Veterinária, o sistema de estadiamento poderá ser melhorado, se for concebido um método prático de forma a ajustar as concentrações plasmáticas de creatinina

tendo em conta a condição corporal e a massa muscular, uma vez que estes influenciam a taxa de produção de creatinina. Estes fatores de correção estão disponíveis em Medicina Humana, em equações capazes de calcular com precisão a TFG. No entanto, devido à diversidade de espécies, raças e tamanhos existentes em veterinária, torna a elaboração destas equações demasiado complexa. O grupo IRIS espera que a medição da TFG através da depuração plasmática de um marcador de filtração possa vir a substituir a concentração plasmática de creatinina como critério principal para o estadiamento. A validação de métodos práticos de medição da TFG, que possam ser aplicados em cenários clínicos, está em curso e representará um avanço significativo em nefrologia veterinária (Elliot, 2007).

5- Quimioterapia e seus principios gerais

A quimioterapia antineoplásica tornou-se, nas últimas décadas, um método eficaz e cada vez mais utilizado no tratamento de tumores, permitindo um prolongamento da esperança média de vida e uma melhoria da qualidade de vida de animais afetados por neoplasias malignas.

Antes da instituição de qualquer tipo de tratamento, o clinico tem de ter em conta o tipo histológico do tumor, o seu comportamento biológico, o estadio clínico, o grau de malignidade e a localização. Além dos fatores relacionados com o tumor, muitos outros fatores podem influenciar a terapêutica a seguir. Neles são incluídos os fatores relacionados com o paciente, com o proprietário, instalações e tratamentos disponíveis (tabela 7) (Coppoc, 2009; Nelson & Couto, 2009).

Para além disso, como dito na introdução, a quimioterapia pode ter diferentes objetivos terapêuticos (terapia de indução, adjuvante, primária, manutenção, consolidação ou de resgate), consoante a sensibilidade da neoplasia à quimioterapia (Tabela 8), se há possibilidade ou não de excisão cirúrgica e se existe ou não presença de metastases (North & Banks, 2009; Gustafson & Rodney, 2012).

Tabela 7: Fatores que afetam a estratégia terapêutica (adaptado de Coppoc, 2009)

Paciente	Espécie, raça, idade, sexo, estado de saúde, função
Instalações/ Tratamentos Disponíveis	Hipóteses de tratamento (cirurgia, radioterapia, quimioterapia), acompanhamento médico, proximidade
Proprietário	Capacidade de cuidar do animal, relação com o animal, condições de vida, compromisso, estatuto financeiro

Tabela 8: Sensibilidade à quimioterapia dos diferentes tipos de tumores (adaptado de Morris & Dobson, 2001)

Quimiossensibilidade	Tipo de tumor
Alta	Linfoma Mieloma Formas de leucemia (Tumor venéreo transmissível)
Moderada	Sarcomas de elevado grau (por ex. osteossarcoma, hemangiossarcoma) Mastocitoma
Baixa	Sarcomas de crescimento lento Carcinomas Melanomas

5.1- Mecanismo de ação

A maioria dos medicamentos citotóxicos atua sobre as fases de crescimento e divisão celular. Tanto tecidos normais como tecidos neoplásicos contêm células que estão em proliferação ativa e células que estão em repouso, encontrando-se assim em ciclos celulares diferentes. Um ciclo celular é constituído por 5 fases designadas por fase M, fase G₀, fase G₁, fase S e fase G₂. A fase M é a fase em que ocorre a mitose. A fase G₀ é quando a célula se encontra em descanso. Na fase G₁ é a fase inter-mitótica, onde ocorre a síntese do ácido ribonucleico (RNA) e proteínas. A fase S é o período no qual ocorre a síntese do ácido desoxirribonucleico (DNA). Finalmente, na fase G₂ surge um segundo período de

síntese de RNA e proteínas (Chun, Garrett, & Vail, 2007; Dobson, Hohenhaus, & Peaston, 2008).

O mecanismo de ação dos fármacos antineoplásicos é direcionado a células em divisão, através da interferência com processos envolvidos na progressão do ciclo celular. Os mecanismos de ação podem, assim, ser divididos em três categorias: fármacos independentes do ciclo celular, apesar de tóxicos para todo o tipo de células são especialmente tóxicos para células em divisão através da lesão do DNA, impedindo a replicação celular ou induzindo apoptose (ou ambos); fármacos dependentes do ciclo celular, em que as células têm de se encontrar em divisão para que estes fármacos sejam eficazes, e fármacos dependentes da fase do ciclo celular, que apenas atuam numa das fases do ciclo celular (Gaffney, 2004; Chu et al., 2007; Dobson et al., 2008).

Células que se encontram na fase G0 e células que já não são capazes de se dividir mas que, no entanto, contribuem para o volume do tumor, são consideradas resistentes à quimioterapia. Assim, tumores com elevado índice mitótico são mais sensíveis à quimioterapia do que tumores com baixo índice mitótico. Desta forma, é de extrema importância perceber como atuam os fármacos antineoplásicos e estar-se familiarizado com as diferentes fases do ciclo celular, de forma a selecionar o melhor tratamento para cada caso (Chun et al., 2007).

Em geral, as combinações de agentes citotóxicos têm demonstrado ser mais eficazes na terapia do cancro do que o uso de um agente único. A combinação de fármacos é escolhida com base nos seguintes princípios: o fármaco deve ser efetivo para o tumor em questão; deve ter mecanismos de ação distintos de forma a maximizar o número de células eliminadas; a sua combinação não deve provocar sobreposição de toxicidade, ou a administração dos fármacos deve ser programada de modo a compensá-la; a dose máxima deve ser usada, sempre que possível. A resposta global pode ser aumentada com maior duração da remissão e da sobrevida, sem um aumento na toxicidade (Morris & Dobson, 2001; Nelson & Couto, 2006b; Lana & Dobson, 2011).

5.2 - Nefrotoxicidade associada a fármacos antineoplásicos

Em Medicina Humana a função renal de pacientes oncológicos com neoplasias malignas e submetidos a tratamentos antineoplásicos tem sido muito estudada, evidenciando-se uma elevada incidência de doença renal nestes pacientes (Launay-Vacher et al., 2004; Launay-Vacher et al., 2007). Contudo, poucos têm sido os estudos realizados sobre a função renal em animais na mesma situação.

Se por um lado, em humanos há evidências de um aumento da prevalência de insuficiência renal em pacientes com neoplasias, por outro, os fármacos citotóxicos utilizados no seu

tratamento, são muitas vezes nefrotóxicos (Launay-Vacher et al., 2004; Launay-Vacher et al., 2007).

5.2.1 - Fatores de risco que potenciam a nefrotoxicidade

A nefrotoxicidade dos agentes quimioterapêuticos na maioria dos casos, está associada a lesões renais que se desenvolvem a partir de toxicidade inata destes medicamentos. Porém, fatores de risco inerentes ao paciente e metabolismo renal destes fármacos podem também contribuir para o aumento da nefrotoxicidade (Anexo 4 – Tabela 31), estando normalmente presentes mais do que um destes fatores (Perazella, & Moeckel, 2010).

5.2.1.1 - Fatores do Paciente

Com o avanço da idade, ocorrem alterações no organismo, responsáveis por uma menor capacidade de concentrar urina, tais como a redução da quantidade água corporal total e diminuição da massa tubular, atrofia glomerular, aumento da espessura das paredes capilares do glomérulo, hipertensão e aumento da resistência vascular, diminuição da resposta à ADH, diminuição do diâmetro tubular (Almeida, 2001; Balducci, 2007; Perazella, & Moeckel, 2010).

Por outro lado, situações que levam à depleção de volume circulante real ou efetivo (vômito, diarreia, uso de diuréticos, insuficiência hepática etc.) aumentam o risco de nefrotoxicidade, uma vez que para além de levarem a alterações da perfusão renal, tornando o rim mais susceptível e vulnerável, aumentam a quantidade de fármaco livre em circulação, o que pode conduzir à sua sobredosagem e conseqüentemente potenciar danos que este possa ter a nível renal (Polzin, 2010; Perazella, & Moeckel, 2010).

A hipoperfusão renal e a azotemia pré-renal aumentam o risco de nefrotoxicidade de fármacos excretadas maioritariamente pelo rim. Os distúrbios metabólicos, resultantes de certos tumores, também aumentam a vulnerabilidade renal para certos medicamentos e potenciais toxinas. A hipercalcemia grave, um síndrome paraneoplásico frequentemente associado ao linfoma, ao adenocarcinoma dos sacos anais, ao mieloma múltiplo e ao timoma, provoca vasoconstrição arteriolar aferente e perda renal de sódio/água, levando a doença pré-renal, que poderá ser potenciada pelo uso de fármacos nefrotóxicos. A acidose metabólica sistêmica pode diminuir o pH da urina e aumentar a deposição intratubular de cristais devido a fármacos, tal como o metotrexato e seus metabolitos, os quais são insolúveis em pH baixo (Feldman, & Nelson, 2004; Chun, 2010; Perazella, & Moeckel, 2010). A lesão renal aguda subjacente e a DRC são fatores de risco importantes para o aumento da vulnerabilidade à dosagem de fármacos nefrotóxicos, uma vez que há uma

exposição excessiva de fármacos a um número limitado de nefrônios (Polzin, 2011; Perazella, & Moeckel, 2010).

A composição genética do paciente também pode aumentar a vulnerabilidade renal a toxinas potencialmente nefrotóxicas. Existem indivíduos com diferentes sensibilidades a fármacos, que podem afectar a sua metabolização e eliminação e promover a nefrotoxicidade (Perazella, & Moeckel, 2010).

5.2.1.2- Fatores ligados ao metabolismo renal dos fármacos

O mecanismo pelo qual o rim metaboliza e excreta vários fármacos também pode aumentar a nefrotoxicidade. A exposição renal ocorre devido à elevada taxa de libertação de fármaco, em resultado do fluxo de sangue renal elevado, que se aproxima de 25% do débito cardíaco. Por outro lado, o córtex recebe cerca de 90% do fluxo sanguíneo renal. Muitas células renais, em particular as dos túbulos proximais, da ansa de Henle ascendente e do DCM, partilham um ambiente relativamente hipóxico, devido às altas necessidades metabólicas requeridas por processos de transporte ativos e diminuição do fluxo sanguíneo nas regiões da medula interna. Essa carga de trabalho celular excessiva e o ambiente hipóxico, torna o rim mais suscetível à exposição de substâncias potencialmente nefrotóxicas. Para além disso, os processos de secreção e absorção tubular podem aumentar a concentração dos compostos parenterais e seus metabolitos dentro das células, contribuindo, ainda mais, para a sua toxicidade renal. O sistema contracorrente pode, também, concentrar toxinas na medula renal que por si só já é uma zona do parênquima renal mais sensível, devido ao seu ambiente hipotóxico, comparativamente com a zona cortical. Desta forma, o aumento da concentração destas toxinas no parênquima renal promove a lesão tanto por toxicidade direta como por lesões isquémicas (Nelson & Couto, 2009; Perazella, & Moeckel, 2010; Brown, 2011).

5.3.1.3 - Fatores associados à toxicidade inata dos fármacos anti-neoplásicos

As características subjacentes dos fármacos antineoplásicos, desempenham igualmente um papel importante no desenvolvimento de nefrotoxicidade. A quimioterapia convencional implica o uso prolongado de fármacos em doses elevadas, o que predispõe o rim a lesões por exposição em excesso, mesmo na ausência de outros riscos (Perazella & Moeckel, 2010).

Como dito anteriormente, a quimioterapia apresenta melhores resultados quando são usados protocolos de associações de fármacos, no entanto estas associações, também contribuem para o aumento nefrotoxicidade (Perazella & Moeckel, 2010; Polzin, 2010).

Em humanos, o fator de crescimento endotelial vascular (FCEV) produzido pelos podócitos, é necessário para manter a função das células endoteliais fenestradas normais e é particularmente importante para o funcionamento normal da membrana basal glomerular. A redução do FCEV, ou dos seus efeitos através dos vários fármacos anti-angiogénicas, leva à perda do fenótipo fenestrado endotelial saudável e promove lesão microvascular, causando proteinúria e doença renal (Sugimoto et al., 2003). A expressão reduzida de nefrina nas fendas diafragmáticas, devido a estes fármacos, também pode contribuir ainda mais para a proteinúria e lesão renal (Huber et al., 2003; Hussain et al., 2009).

5.2- Grupos de fármacos antineoplásicos

Os fármacos antineoplásicos são divididos em diferentes grupos consoante o seu mecanismo de ação (Anexo 4 - Tabela 32). De seguida, são referidos com mais detalhe, os fármacos que foram usados no tratamento quimioterápico dos animais deste estudo.

5.2.1- Antibióticos antineoplásicos

Os antibióticos antineoplásicos são compostos de produtos naturais a partir de fermentação microbiana. Neste incluem-se as antraciclinas, mitomicinas, actinomicinas que geraram compostos clinicamente úteis com diversos mecanismos de ação. Incluídos nesta revisão estão a antraciclina doxorrubicina e um análogo sintético da antracenodionas (mitoxantrona), actinomicina D e epirrubicina (Gustafson & Page, 2012).

5.2.1.1- Antraciclinas

As antraciclinas são agentes antineoplásicos com um largo espectro de atividade. A doxorrubicina e a actinomicina D são derivadas de *Streptomyces* spp. e a mitoxantrona, idarrubicina e epirrubicina são análogos sintéticos das antraciclinas. A idarrubicina e epirrubicina apresentam um mecanismo de ação semelhante e não são usadas na prática diária oncológica. As duas antraciclinas mais comumente usadas em oncologia veterinária são a doxorrubicina e a mitoxantrona (Dobson et al., 2008).

A doxorrubicina é um antibiótico com vários mecanismos de ação e independente do ciclo celular. Atua intercalando-se nas cadeias de DNA, inibindo as RNA e DNA polimerases e topoisomerase II, promovendo a alquilação de ADN e geração de formação de radicais livres, perturbando a homeostase do cálcio celular, inibindo a tioredoxina redutase através da interação com os componentes da membrana plasmática (Dobson et al., 2008; Gustafson & Page, 2012). A taxa de administração de doxorrubicina é importante uma vez que os efeitos tóxicos do fármaco estão relacionados com o seu pico de concentração. Assim, é

recomendado diluir o medicamento em cloreto de sódio a 0,9% e infundir durante 30-60 min de forma a minimizar os efeitos secundários tóxicos. A doxorubicina é metabolizada no fígado e excretada na biliar. No cão, apenas 3% do fármaco é excretado na urina (Dobson et al, 2008). O medicamento pode ser utilizado sozinho ou em protocolos de combinação para o linfoma, linfossarcoma, carcinoma da tireóide, hemangiossarcoma, osteossarcoma, carcinoma mamário, carcinoma espinocelular e carcinoma das células de transição (Klein, 2003; Henry, 2003; Sorenmo, 2003; Kent, Strom, London & Seguin, 2004; Gustafson & Page, 2012). A administração de doxorubicina pode estar associada à presença de hipersensibilidade, mielossupressão (neutropenia com nadir de 7 a 10 dias após administração), toxicidade gastrointestinal (GI). Para além disso, pode surgir cardiotoxicidade relacionada com a dose cumulativa (< 240 mg/m²). Esta última ocorre em cerca de 3 a 18% dos cães, frequentemente sob a forma de arritmias após 6 a 9 meses da sua administração. Estas arritmias são mais frequentes se já existirem problemas cardíacos, se se realizar em simultâneo tratamento com radiação na região torácica, ou se for administrada em simultâneo a ciclofosfamida. A cardiotoxicidade pode manifestar-se também como insuficiência cardíaca congestiva, degeneração do miocárdio ou fibrose. A administração perivascular de doxorubicina é um problema grave. O extravasamento provoca necrose extensa dos tecidos perivasculares, que pode levar à amputação do membro afetado.

A mitoxantrona é um análogo sintético da doxorubicina, produzida com o objetivo de encontrar uma alternativa menos tóxica. Ao contrário da doxorubicina a formação de radicais livres não está envolvida na citotoxicidade da mitoxantrona, apresentando um espectro de ação antineoplásico mais reduzido (Coppoc, 2009). Este fármaco é metabolizado pelo fígado e eliminado pelas fezes e urina. Apresenta toxicidade GI dose-dependente, mielossupressão e a cardiotoxicidade não se manifesta em cães. Tem sido usada no tratamento de linfoma (como auxiliar do tratamento ou como substituta da doxorubicina), carcinoma das células escamosas e carcinoma das células de transição (Chun et al., 2007; Gustafson & Page, 2012).

5.2.2 – Agentes anti-microtúbulos

5.2.2.1- Alcaloides da vinca

Os alcaloides de vica são derivados da planta *Vinca Rósea*. Nesta classe encontramos a vimblastina, vincristina e vinorelbina que, apesar de semelhantes estruturalmente, apresentam eficácias antineoplásicas e toxicidades muito distintas. Estes fármacos atuam ao ligar-se aos microtúbulos impedindo a formação do fuso acromático, e conseqüente inibição da divisão celular, sendo dependentes do ciclo celular. Apesar de específicas da

fase M, os efeitos citolíticos são também exercidos nas outras fases do ciclo celular como resultado da destruição da função de microtúbulos (Dobson et al., 2008; Coppoc, 2009).

A vincristina é um dos fármacos antineoplásicos mais utilizados em Medicina Veterinária. É excretada do fígado para as fezes na forma inativa, devendo-se ter cautela ao usar este fármaco quando existe disfunção hepática (Lana & Dobson, 2011). É o fármaco de eleição no tratamento do tumor venéreo transmissível (Coppoc, 2009) e faz parte de protocolos de associação de fármacos para o tratamento de linfoma, leucemia, sarcomas e mastocitomas. Também é usado no tratamento de trombocitopenia, uma vez que provoca a libertação prematura de plaquetas a partir dos megacariócitos. A vincristina é uma substância vesicante e deve ser tomado cuidado na sua administração para evitar extravasão do fármaco. Outros efeitos secundários incluem alopecia, toxicidade GI e neuropatia periférica (Lana & Dobson, 2011).

A vimblastina é excretada na biliar e metabolizada no trato intestinal. Uma pequena parte da vimblastina não metabolizada é excretada na urina (Lana & Dobson, 2011). É utilizada, em combinação com a prednisolona, no tratamento de mastocitoma canino, e pode ser usada nos protocolos do tratamento de linfoma como alternativa à vincristina quando há suspeita de neuropatia. Também foi descrita a sua utilização em carcinomas de células escamosas tonsilares. É um fármaco bem tolerado, com raros efeitos GI. Pode surgir mielossupressão ligeira com neutropenia e trombocitopenia com um nadir de 4 a 7 dias após a sua administração. É igualmente um fármaco vesicante provocando necrose local dos tecidos se ocorrer extravasamento (Chun et al., 2007; Dobson et al., 2008).

5.2.3- Corticoesteróides

5.2.3.1- Prednisona

A prednisona ou prednisolona é um corticosteroide que presumivelmente induz morte de células cancerosas hematopoiéticas através da interação com o recetor citoplasmático inibindo a síntese de DNA e a indução de apoptose. Mecanismos de indução de apoptose por corticosteroides em neoplasias hematológicas ainda não são totalmente compreendidos, e múltiplos mecanismos existem pelos quais as células tumorais de origem hematopoiética podem resistir à morte induzida por esteroides. A prednisona é convertida na sua forma ativa, prednisolona, no fígado (Gustafson & Page, 2012). Os corticosteroides, na maioria das vezes a prednisolona, têm sido utilizados com duas finalidades terapêuticas: tratamento paliativo de tumores não linfóides (como tumores cerebrais), na diminuição da inflamação e do edema e ainda no tratamento, usando os seus efeitos citotóxicos, de tumores linforreticulares e mastocitomas. Outras indicações da sua utilização, em oncologia veterinária, aplicam-se à manutenção da euglicémia em isulinomas e também na diminuição

da tumefação e dor quando surge osteopatia hipertrófica como síndrome paraneoplásico. O seu uso, a longo prazo, com doses elevadas, pode conduzir ao aparecimento de hiperadrenocorticismos iatrogénicos e a toxicidade. Esta última inclui úlceras GI, osteoporose, aumento da suscetibilidade a infeções, polidipsia, poliúria, polifagia e taquipneia. (Chun et al., 2007; Coppoc, 2009).

5.2.4- Outros

5.2.4.1- Compostos platinados

Os compostos platinados têm um mecanismo de ação semelhante aos agentes alquilantes. São eficazes contra células em divisão e em repouso, atuando independentemente do ciclo celular. A cisplatina foi o primeiro composto inorgânico usado como um agente antineoplásico, em Medicina Veterinária, mas um outro análogo de platina, a carboplatina, foi rapidamente substituindo a sua utilização clínica (Dobson et al., 2008).

A carboplatina atua ao gerar ligações cruzadas dentro e entre as cadeias de DNA e, conseqüentemente, inibindo a síntese proteica, sendo um fármaco independente do ciclo celular. A sua principal via de excreção é através da filtração glomerular e aproximadamente 70% da dose administrada é excretada na urina em 4 dias. A carboplatina é um análogo mais potente menos emetizante e muito menos nefrotóxica do que a cisplatina (Dobson et al., 2008; Lana & Dobson, 2011). A eficácia da carboplatina no tratamento do osteossarcoma canino é próximo à da cisplatina. Contudo, deve ser utilizada com precaução em cães com doença renal, uma vez que pode exacerbar a nefropatia preexistente. A carboplatina também demonstrou ser eficaz contra melanomas caninos e alguns carcinomas. No entanto, o carcinoma de células transição da bexiga não responde à carboplatina (Chun et al., 2007; Dobson et al., 2008). O principal efeito adverso da carboplatina é a mielossupressão dose-limitante. Afeta os neutrófilos e plaquetas, com um nadir entre os 11 e os 14 dias após a administração (Page et al., 1993; Chun et al., 2007; Lana & Dobson, 2011). Em Medicina Veterinária a sua nefrotoxicidade não tem sido relatada. No entanto, deve ser usada com cautela em doentes renais, uma vez que é excretada pelo rim. Em Medicina Humana a nefrotoxicidade é um dos possíveis efeitos secundários associado à carboplatina e a sua dose é corrigida de acordo com a depuração de creatinina (Dobson et al., 2008).

5.2.4.2- L-asparaginase

A L-asparaginase tem como função a hidrólise da L-asparagina em ácido aspártico e amoníaco, esgotando os níveis de asparagina circulante. Esta é um aminoácido essencial

ao crescimento de células tumorais que não possuem a enzima L-asparagina sintetase (Coppoc, 2009). É eliminada pela urina e fezes. A toxicidade associada ao tratamento com L-asparaginase é devida a reações de hipersensibilidade que se manifestam por vômito, diarreia, urticária, edema, prurido, dispneia, hipotensão e raramente colapso (Chun et al., 2007). A hipersensibilidade pode ser gerida através de pré-tratamento com anti-histamínicos e dexametasona, embora os proprietários devam ser alertados para monitorizar o cão durante 1 a 4 horas após o tratamento. Outros sinais de toxicidade mais raros são pancreatite e mielossupressão (principalmente se combinada com a vincristina) e alterações de coagulação (Duval et al., 2002; Chun et al., 2007). A L-asparaginase é usada exclusivamente em doenças linfoproliferativas. A fim de evitar o desenvolvimento de resistência à L-asparaginase é muitas vezes utilizada apenas em doentes com recidiva de linfoma (Gustafson & Page, 2012).

5.2.5. Novas abordagens e fármacos em estudo

5.2.5.1. Quimioterapia metronómica

Os fármacos citotóxicos usados na quimioterapia convencional são concebidos, para serem utilizados na dose máxima tolerada (DMT), de forma a inibir ou matar células que se dividem rapidamente, sendo administrados em intervalos definidos, de acordo com a recuperação de tecidos normais, dos seus efeitos citotóxicos (Shimizu & Oku, 2004).

A palavra metronómica é derivada da palavra "metrônomo", um relógio que mede o tempo musical, produzindo pulsos de duração regular, ajustáveis em batimentos por minuto. Estes pulsos representam um pulso sonoro fixo e regular. A quimioterapia metronómica baseia-se na administração frequente de fármacos citostáticos em doses abaixo do DMT e sem pausas prolongadas entre administrações. Assim, alcança-se um baixo nível de concentração sanguínea do fármaco sem efeitos colaterais tóxicos significativos. A administração do quimioterápico metronomicamente permite a eliminação de períodos longos entre doses, períodos durante os quais podem surgir alterações oportunistas nas células tumorais (Mutsaers, 2007). Desta forma, a quimioterapia metronómica difere da quimioterapia citotóxica convencional na frequência da dose, farmacocinética, células-alvo, intenção de tratamento e toxicidade para o paciente (Tabela 9) (Bahl & Bakhshi, 2012).

Tabela 9: Sumário das diferenças entre a quimioterapia metronômica e quimioterapia citotóxica convencional (Adaptado de Bahl & Bakhshi, 2012)

	Quimioterapia metronômica	Quimioterapia convencional
Frequência de administração	Dose contínua (diariamente)	Intervalada (de 2 em 2 ou de 3 em 3 semanas)
Dose	Mais baixa do que em regimes convencionais de DMT	Dose alta em regime de DMT
Farmacocinética	Concentração plasmática do fármaco mantida no organismo ao longo do tempo	Aumento e diminuição da concentração plasmática do fármaco
Células alvo	Células endoteliais da vasculatura do tumor em crescimento	Células tumorais em proliferação
Toxicidade para o paciente	Significativamente menos tóxicos e diminuição da necessidade de terapia de suporte	A toxicidade é um problema uma vez que as doses são usadas em MTD
Intenção do tratamento	Controlo do tumor	Erradicação do tumor

5.2.5.2 Inibidores da tirosina quinase (PTKI)

Um progresso substancial no campo da biologia molecular permitiu a identificação de alterações importantes em células neoplásicas, que envolvem proteínas celulares reguladoras da transdução de sinal, da sobrevivência celular e da proliferação de células. Tais anomalias envolvem, frequentemente, uma classe de proteínas conhecidas por tirosina quinases, que fazem a fosforilação de outras proteínas na célula, bem como a regulação de uma variedade de processos celulares. Embora os PTKI tenham sido extensivamente utilizados em seres humanos, a sua aplicação em veterinária é relativamente recente. O toceranib, masitinib, e imatinib, têm sido utilizados com sucesso em cães (London, 2009). Dois dos PTKI, o masitinib (Masivet) e o toceranib (Palladia), encontram-se licenciados para utilização veterinária no tratamento de mastocitomas caninos (Hahn et al., 2008; Hahn et al., 2010; EPAR, 2013).

Segundo um estudo feito por Hahn e seus colaboradores (2010), o masitinib é eficaz no tratamento de mastocitomas caninos não operáveis e mostrou evidências de melhorar a sobrevivência a longo prazo, independentemente do subtipo de mastocitoma.

A cirurgia continua a ser uma opção aconselhável, sempre que possível. No entanto, quando o tumor não é operável, o masitinib provou ser significativamente eficaz em retardar

a progressão do tumor (75 dias no grupo placebo e 118 dias no grupo tratado com o masitinib) (Hahn et al., 2008)

Os efeitos secundários mais frequentes, associados ao masitinib são reações gastrointestinais (vômitos e diarreia) e queda do pêlo. Durante a terapêutica com o masitinib, deverá haver uma monitorização dos efeitos secundários, por parte do médico veterinário nomeadamente síndrome de perda de proteína (duas vezes por semana, durante os primeiros 3 meses e posteriormente mensalmente). O masitinib está contra-indicado em caso de doença renal, doença hepática, animais anémicos ou com neutropenia (Ogilvie & Ahn, 2010).

O toceranib também é utilizado para tratar cães com mastocitoma. Está indicado para mastocitomas de elevado grau (2 ou 3), em recidivas, ou em mastocitomas inoperáveis. Cães tratados com o Palladia tiveram maiores taxas de resposta (37%) do que os cães tratados com placebo (8%) após seis semanas de tratamento. Uma resposta completa (desaparecimento do tumor) foi observada em cerca de 8% e uma resposta parcial (redução do tumor) foi observada em cerca de 29% dos cães tratados com o medicamento veterinário. O tempo de recidiva, também foi maior (nove a dez semanas, em média) do que aqueles que receberam placebo (três semanas em média) (London et al., 2009; EPAR, 2013).

Os efeitos colaterais mais comuns do toceranib são toxicidade GI (diarreia e vômito), imunossupressão e claudicação (EPAR, 2013).

III. Depuração Plasmática de Creatinina Exógena em Cães Submetidos a Protocolos Terapêuticos de Quimioterapia

1. Desenho experimental

O presente estudo foi realizado no Hospital Escolar e, simultaneamente, no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa durante o estágio curricular de 1 de Março a 31 de Agosto, fazendo-se seguir por um acompanhamento, extra estágio, desenvolvido de 31 de Agosto a 21 de Março. Foi realizado de acordo com os princípios da Comissão Ética e Bem-estar desta instituição, da qual teve autorização e tendo em consideração o disposto na Diretiva - 2010/63/EU do Parlamento Europeu e do Conselho.

Este estudo incide sobre animais submetidos a protocolos com fármacos antineoplásicos, nos quais se avaliou a DPCEx para a monitorização da função renal antes e durante a realização do mesmo. O estudo foi desenhado para ocorrer em duas fases, tendo-se avaliado os seguintes parâmetros:

- DPCEx previamente à realização de quimioterapia (T0). Antes de iniciar esta fase foi necessário avaliar o estado de hidratação do paciente, através de um bom exame físico, quantificação da ureia e creatinina séricas;
- DPCEx durante as sessões de quimioterapia com fármacos com ação potencialmente nefrotóxica.

1.1 Objetivo geral

Sendo a depuração de creatinina exógena um exame complementar de função renal ainda pouco usado em Medicina Veterinária, esta dissertação teve como principais objetivos a transmissão de informação acerca deste método, e a apresentação de 6 casos clínicos, com os quais se pretende compreender de que forma protocolos quimioterapia podem beneficiar de uma monitorização mais precisa e controlada da função renal.

1.2 Objetivos específicos

Como evidenciado na segunda parte deste trabalho, a nefrotoxicidade pode ocorrer por exposição a determinados agentes quimioterápicos. Infelizmente, a nefrotoxicidade destes agentes continua a ser um efeito adverso significativo, e às vezes limitante da eficácia da terapêutica.

Por esse motivo e pelo facto de ser escassa a bibliografia referente à avaliação da função renal em pacientes submetidos a protocolos antineoplásicos, neste trabalho pretendeu-se

avaliar a DPCEEx antes e durante as sessões de quimioterapia realizada em 6 cães, com os seguintes objetivos:

- Montar a técnica de DPCEEx
- Avaliar a função renal antes de os animais iniciarem os protocolos de quimioterapia;
- Avaliar se durante os protocolos de quimioterapia existe alteração da filtração renal;
- Introduzir esta nova abordagem de diagnóstico, como estudo preliminar, para futuros estudos mais detalhados.

2. Materiais e métodos

2.1 Montagem da técnica de DPCEEx

Para a montagem da técnica de DPCEEx foram usados 4 cães saudáveis do canil de farmacologia da FMV. Estes foram seleccionados através da anamnese e exame físico detalhado focado no estado de hidratação, assim como nos valores das bioquímicas de ureia e creatinina séricas. Nestes mesmos animais foram feitos diversos ensaios experimentais com recolha de amostras que se estenderam por 10 horas, 8 horas e 6 horas, feitos em semanas diferentes. As amostras sanguíneas, colhidas nestes animais, serviram para a determinação do comprimento de onda de leitura das amostras no espectrofotometro, como para o cálculo da reta de calibração necessária para o doseamento de creatinina exógena nas amostras de plasma.

2.2 Animais

O grupo de animais estudados foi constituído por 6 canídeos diagnosticados com 4 tipos diferentes de neoplasias no Hospital Escolar da FMV em 2012-2013. Três dos animais foram diagnosticados com mastocitoma, dos quais dois de grau II (MII) e um de grau II e grau I (MI), um com melanoma maligno (MM), um com linfoma multicêntrico (LM) e um com carcinoma mamário de grau III (CMIII) (Tabela 10).

Tabela 10: Neoplasia diagnosticada em cada individuo da amostra de cães

Cães	Tumor
1	MII
2	MII
3	MI + MII
4	LM
5	MM
6	CMIII

2.1.2 Critérios de inclusão

Neste estudo apenas foram incluídos cães, machos ou fêmeas, a iniciarem pela primeira vez o protocolo quimioterápico. Foram selecionados com base na anamnese, exame físico detalhado, especialmente focado no estado de hidratação do paciente, assim como nos valores de creatinina e ureia séricas. O estado de hidratação foi sempre avaliado no início do protocolo, mas também ao longo das várias sessões através de um bom exame físico. Se algum dos pacientes, ao longo destas, apresentasse uma desidratação superior a 5% esta seria imediatamente corrigida através de fluidoterapia adequada a cada caso. Os animais incluídos no estudo serviram como seu próprio controlo pela realização do ensaio experimental T0.

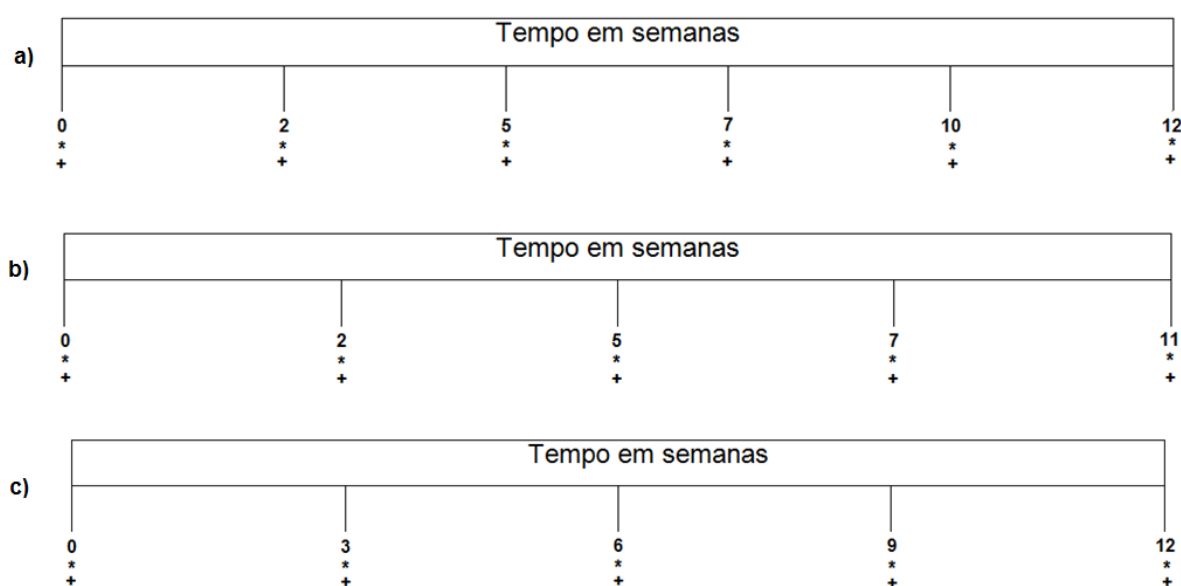
2.1.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos neste estudo cães, que já tinham iniciado o protocolo quimioterápico, que tenham realizado tratamentos potencialmente nefrotóxicos (p. ex. Aines) há mais de 4 semanas seguidas, ou que apresentassem diagnóstico de disfunção renal. Foram ainda excluídos animais com alterações pré-renais os quais foram prontamente corrigidos através de fluidoterapia.

2.2. Avaliação da depuração plasmática de creatinina

De acordo com o cronograma 1 foram colhidas amostras de sangue em vários momentos temporais. A avaliação de DPCEx foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Watson e seus colaboradores (2002) e Lefebvre e seus colaboradores (2004), e com o consentimento esclarecido dos proprietários dos animais e de acordo com o cronograma a seguir apresentado.

Cronograma 1: Semanas em que foram realizadas as colheitas sanguíneas a) referente ao cão com linfoma; b) referente aos cães com mastocitoma e c) referentes aos cães com melanoma maligno e carcinoma mamário



Legenda: * Avaliação da TFG; + Protocolo de quimioterapia

A avaliação da TFG foi realizada nos dias em que os animais eram submetidos à administração dos fármacos antineoplásicos de acordo com o protocolo respectivo, mas previamente à sua administração.

2.2.1 Material e equipamentos

Reagentes:

- Soro fisiológico NaCl a 0,9% BBraun®
- Creatinina exógena Sigma-Alorich®
- Ácido pícrico Alorich Chemistry®
- Hidróxido de sódio Merk®
-

Equipamentos:

- Câmara de fluxo laminar aura VF48 – Bioair®
- Espectrofotômetro UV-Vis Spectra Max 340 pc – Molecular Devices® com *software* SoftMax® para Windows98
- Balança de precisão Shimadzu Aux 220 - Unibloc®
- Centrífuga Hermile Z200 M/H – Q Labo®
- Pipeta de precisão Jcn cons 20-200 Seal pette®

Material diverso: seringas de 20 e 50 mL, frascos de vidro estéreis com tampa; tubos secos; barquinhas de pesagem; balões volumétricos de 50 ml; espátulas; e membrana esterilizante 0,22µm Millipore Express® PES Membrane MILLEX®GP; tubos colheita com heparina, tubos *Eppendorf*.

2.2.2 Solução de creatinina exógena

A solução de creatinina exógena foi preparada numa concentração de 80mg/mL. A solução foi esterilizada através de membrana esterilizante 0,22µm Millipore Express® PES Membrane MILLEX®GP para frasco de vidro esterilizado, em câmara de fluxo laminar. A solução final foi colocada numa seringa 20 mL Romed® Holland para posterior administração do volume correspondente à dose em função do peso do animal (80mg/Kg). Cada solução foi preparada imediatamente antes de cada ensaio.

2.2.3. Administração endovenosa da solução de creatinina exógena

A creatinina exógena (solução 80 mg/mL de soro fisiológico a 0,9%) foi administrada numa das veias cefálicas, em *bolus* endovenoso na dose 80 mg/Kg de peso vivo.

2.2.4 Colheita de amostra

As amostras de sangue foram colhidas, por meio de cateter posicionado em veia periférica contralateral à utilizada para administração da solução de creatinina exógena, e colocadas em tubos de recolha com heparina. Os tempos de colheita estão representados nos cronogramas que se seguem.

Cronograma 2: Ensaio experimental T0

Tempo (min.)	0	15	60	120	180	240	300	360
Administração	X							
Creatinina Exógena								
Colheitas Sanguíneas (1mL)	X	X	X	X	X	X	X	X

Cronograma 3: Ensaio experimental durante a administração do fármaco antineoplásico

Tempo (min.)	0	15	60	120	180	240	300	360
Administração	X							
Fármaco antineoplásico								
Administração Creatinina Exógena	X							
Colheitas sanguíneas (1mL)	X	X	X	X	X	X	X	X

As amostras foram posteriormente centrifugadas a 600 G durante 20 minutos. As amostras de plasma demasiado hemolizadas foram rejeitadas. Do plasma obtido foram colhidas pelo menos três alíquotas (50 µl cada) de cada amostra, colocadas em tubo de *Eppendorf* e congeladas a -20 °C (Figura 9).

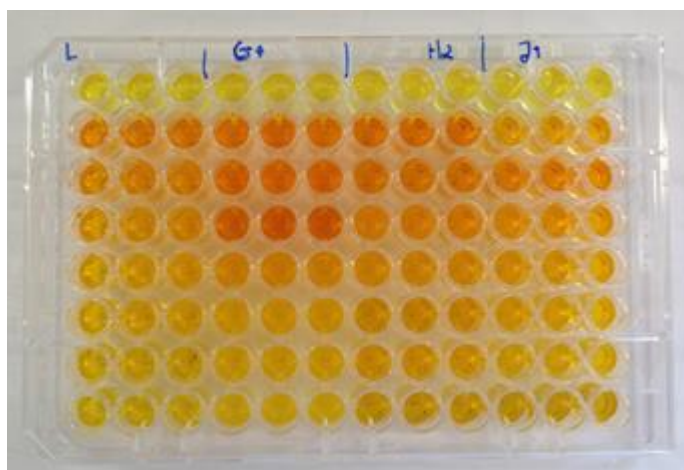
Figura 9: Tubos *Eppendorf* com amostras de plasma correspondentes a um animal, colhidos em tempos seriados, prontas a serem congeladas (original)



2.2.5. Doseamento de creatinina exógena nas amostras de plasma

As concentrações de creatinina plasmática foram doseadas pelo método *Jaffe*, também designado por método cinético de picrato alcalino, adaptado de Watson 2002. Numa placa de 96 pocilhos foram colocadas as amostras em estudo. De seguida adicionaram-se, em cada poço 50µl de solução 8,8 mM de ácido pícrico e 50 µl de solução foi colocada num pocilho de uma placa de 96 pocilhos (Microplate 96 well Greiner labortechnik®) juntamente com 50 µl de ácido pícrico e 50 µl de solução 0,4 M de hidróxido de sódio (Figura 10). Uma hora após o início da reação colorimétrica ter sido iniciada, fez-se a leitura da absorvência das amostras no comprimento de onda de 490 nm, no espectrofotómetro Spectra Max 340 PC.

Figura 10: Placa de 96 pocilhos com 96 amostras de plasma, correspondentes a 4 animais diferentes, após a reação de *Jaffe* (Original)



Este procedimento foi também realizado para soluções de creatinina exógena (0,2; 0,1; 0,05; 0,025; 0,0125 mg/mL e 6,25; 3,125 e 1,56 µg/ml) utilizadas para calcular a equação da reta de calibração do método. Para este cálculo foram utilizados os valores (logaritmizados) da absorvência no comprimento de onda 490 nm para cada concentração de creatinina exógena.

A partir dos resultados obtidos, calculou-se pelo método de mínimos quadrados a reta de calibração.

O método foi validado de acordo com o referido nas normas de orientação adequadas (VICH Topic GL2, 1998) (Tabela 11).

Tabela 11: Resultados da validação da equação da reta

Especificidade Avaliação Creatinina	490 nm
Limite de Detecção (ug/ml):	0.78
Limite de Quantificação (ug/ml):	1.56
Linearidade	Y=0,0112x+0,0048; R ₂ =0,9997
Gama de Trabalho:	1,56 -100 ug/ml
Exatidão – Recuperação	99.70%
Precisão – Repetibilidade	CV < = 8,4 %
Curvas de calibração entre retas	CV < = 11,6 %

2.2.6. Cálculo da TFG

Os valores de concentração plasmática da creatinina exógena foram calculados por interpolação, dos valores obtidos, na reta de calibração. Os valores obtidos foram depois utilizados para calcular o valor da ASC. Estes cálculos foram realizados utilizando *software* apropriado para análise não compartimental (Heinzel, Woloszczak & Thomann, 1993). A equação 5 representa o cálculo da TFG em que D é a dose de creatinina exógena administrada.

Equação 5: Cálculo da TFG

$$TFG = \frac{D}{ASC}$$

O valor da TFG assumiu-se como idêntico ao valor da depuração obtido de acordo com o referido por vários autores (Watson, 2002; Lefebvre et al., 2004; Heiene & Lefebvre, 2007).

3. Resultados

3.1 Caracterização da amostra

3.1.1 Peso e género

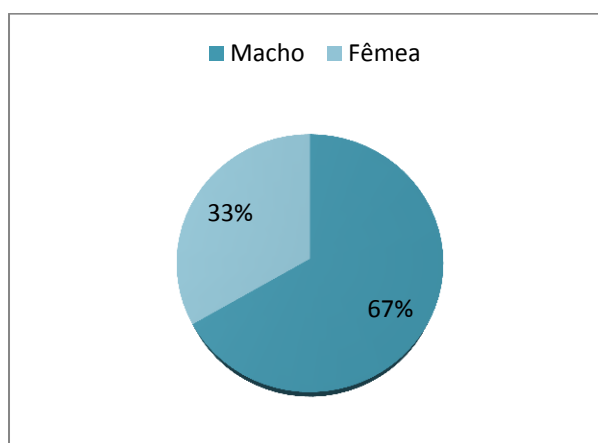
A mostra de seis cães no início do estudo apresentou um peso vivo médio 19,1 com um máximo de 44,8 Kg e um mínimo de 5,4 Kg. Em todas as sessões de quimioterapia os animais foram pesados, sendo que este parâmetro não foi constante em todas as colheitas (Tabela 12).

Tabela 12: Peso em Kg da amostra de cães ao longo das colheitas

Cães	Dia das colheitas					
	1º	2º	3º	4º	5º	6º
1		22,7	22,8	22,7	22,9	
2	25,2	25,4	25,2	24,9	25,4	
3	8,3	8,5	8,5	8,7	8,7	
4	8,5	8,3	7,9	7,7	7,8	7,8
5	5,4	4,9	4,3	4,4	4,5	
6	44,8	45,1				

Do total da amostra de cães duas (33%) eram fêmeas e quatro (67%) eram machos (Gráfico 1).

Gráfico 1: Género da amostra de cães



3.1.2. Idade e raça

A amostra de cães tinha uma idade média de 10,5 anos, com um máximo de 13 anos e um mínimo de 7 anos. Dois dos cães eram de raça indeterminada, um Husky siberiano, um Labrador retriever, um Carlino e um Pequínês (Tabela 13).

Tabela 13: Idade em anos e raça correspondente a cada indivíduo da amostra de cães

Cães	Idade (anos)	Raça
1	7	Indeterminada
2	12	Husky siberiano
3	10	Carlino
4	11	Indeterminada
5	13	Pequinês
6	10	Labrador retriever

3.1.3 Protocolo antineoplásico

Para os diferentes tipos de tumores foram utilizados diferentes protocolos com fármacos antineoplásicos. Para o mastocitoma usou-se a associação de prednisolona e vimblastina (PV), para o melanoma maligno a associação de doxorubicina e carboplatina (DC), para o linfoma multicêntrico a associação de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisolona (CHOP) e para o carcinoma mamário foi administrada mitroxantrona (Mi) como fármaco único (Tabela 14).

Tabela 14: Características da população estudo

Cães	Idade (anos)	Raça	Gênero	Tumor	Protocolo
1	7	Indeterminada	Macho	MII	PV
2	12	Husky siberiano	Macho	MII	PV
3	10	Carlino	Fêmea	MI e MII	PV
4	11	Indeterminada	Macho	LM	CHOP
5	13	Pequenês	Macho	MM	DC
6	10	Labrador retriever	Fêmea	CMIII	Mi

Na presença de sinais indicativos de toxicidade farmacológica, como anorexia, vômito, diarreia, prostração grave, anemia, neutropenia ou trombocitopenia, o tratamento foi interrompido por uma semana (até normalização do estado clínico), ou substituído por um fármaco menos tóxico pertencente ao protocolo utilizado. Nos animais que apresentaram sinais de resistência aos fármacos utilizados foi administrado um fármaco de resgate (L-asparaginase no caso do linfoma e masitinib no caso do mastocitoma). Durante o curso do estudo, nenhum animal atrasou a administração dos fármacos durante o protocolo quimioterápico em 2 animais (33,33%) (animais 3 e 4) associou-se a administração de masitinib e L-asparaginase respectivamente. Um animal estudado, o cão 6 (16,67%) faleceu durante o período de colheitas, entre a 2ª e a 3ª sessão de quimioterapia.

A avaliação da TFG foi realizada nos dias em que se realizaram as sessões de quimioterapia, tal como previsto. Nos cães com mastocitomas foi realizada nas semanas 0, 2, 5, 7 e 11, no cão com linfoma múltiplo nas semanas 0, 2, 5, 7, 10 e 12. Nos cães com melanoma maligno e com carcinoma mamário, uma vez que a administração dos fármacos antineoplásicos era realizada de três em três semanas, a TFG foi avaliada de três em três semanas. No entanto, o indivíduo com carcinoma mamário faleceu entre a 2ª e a 3ª sessão de quimioterapia só tendo sido realizadas dois dias de colheitas sanguíneas, uma à semana 0 e outra à semana 3 (semana 0, 3, 6, 9 e 12).

3.1.4 Ureia e Creatinina

Em todos os indivíduos da amostra de cães, os valores da concentração plasmática de creatinina e ureia, antes do início do protocolo quimioterápico, encontravam-se dentro do intervalo de referência (creatinina entre 0.5 e 1.4 mg/dl; ureia entre 0 a 54 mg/dl) (Tabela 15).

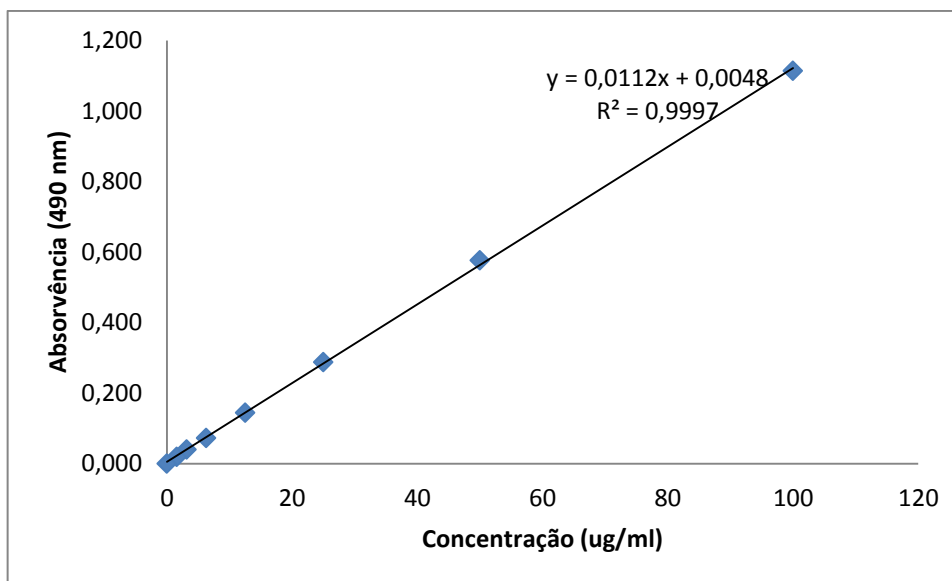
Tabela 15: Creatinina e ureia plasmática de cada animal antes de iniciar o protocolo quimioterápico

Animais	Creatinina (mg/dl)	Ureia (mg/dl)
1	1,12	48
2	0,8	45
3	0,7	17
4	1	67
5	0,6	19
6	0,77	48
Média	0,83166667	40,6666667
DV	0,19353725	19,2319179

3.2. Cálculo da concentração plasmática de creatinina exógena

Para o cálculo da concentração de creatinina exógena foi necessário, em primeiro lugar, calcular a reta de calibração com respetiva equação da reta e coeficiente de determinação cujo resultado se apresenta no gráfico 2 e os resultados da sua validação na Tabela 11 anteriormente apresentada.

Gráfico 2 - Representação gráfica da reta de calibração (em escala semi-logarítmica) da creatinina no plasma, respetiva equação e coeficiente de determinação

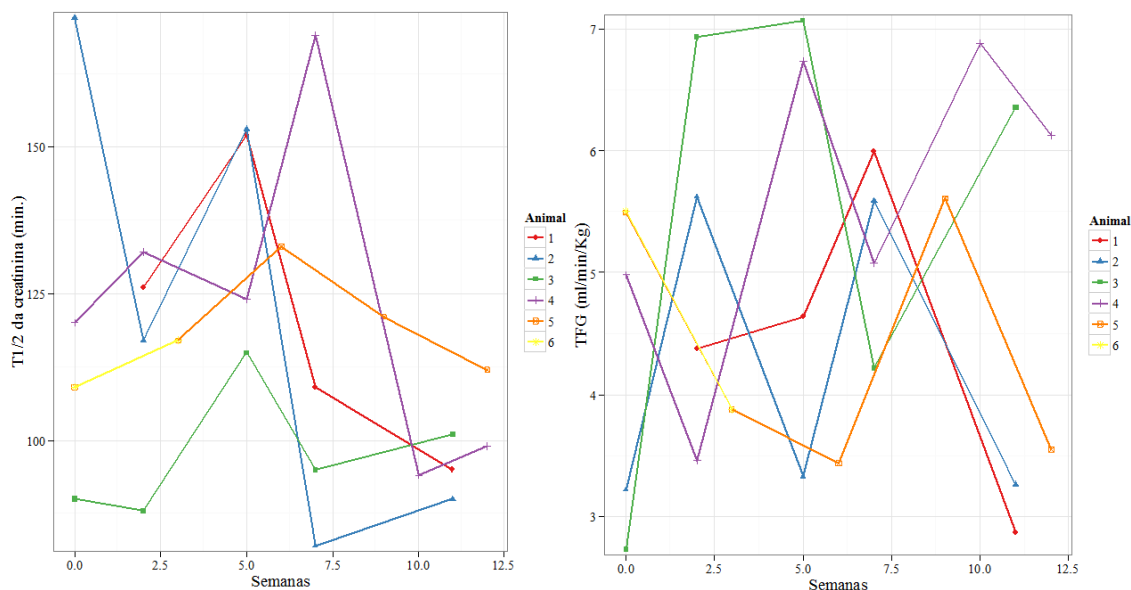


Para quantificação da creatinina nas amostras de plasma utilizou-se a equação $y=0,0112x+0,048$, em que y corresponde ao valor da absorvência lida aos 490 nm, e x o valor da concentração de creatinina correspondente.

3.3 Resultados dos parâmetros da avaliação da função renal

De um total de 27 experiências realizadas, avaliou-se a TFG e o tempo de semivida da creatinina ($T_{1/2Cr}$) (Gráfico 3; Anexo 5 - Tabela 33).

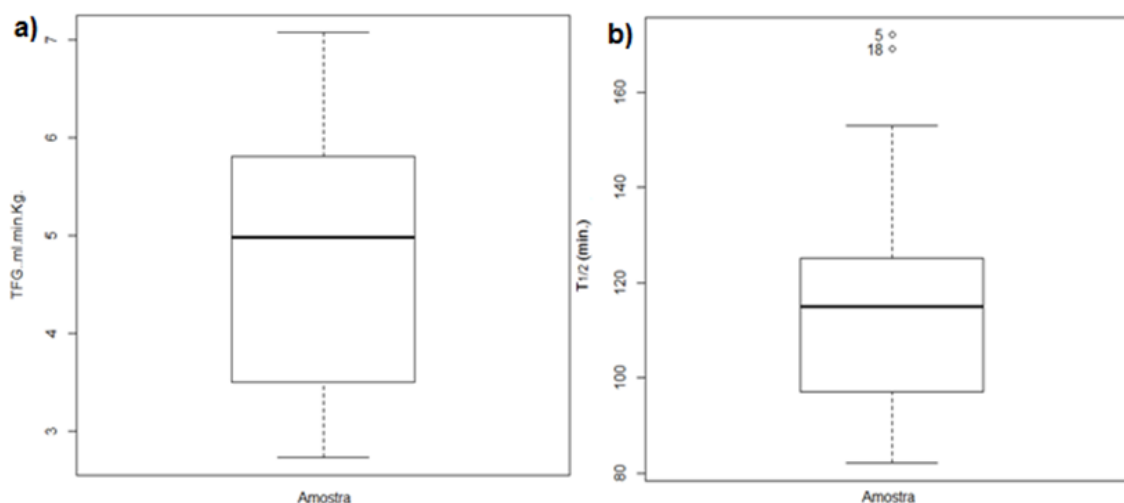
Gráfico 3: Variação do T_{1/2} da creatinina e da TFG da amostra de cães, ao longo do protocolo quimioterápico



3.3.1. TFG, Tempo de semivida da creatinina (T_{1/2}Cr)

A TFG média avaliada em todos os animais, nos diferentes dias foi $4,8 \pm 1,4$ ml/min/Kg com um máximo 2,73 ml/min/Kg e mínimo 0,94 ml/min/Kg, T_{1/2}Cr médio foi $116,3 \pm 23,8$ minutos com um máximo de 172 minutos e um mínimo de 82 minutos (Gráfico 4).

Gráfico 4: a) Distribuição da TFG em ml/min/Kg, do total da amostra de cães nos diversos dias das colheitas sanguíneas; b) Distribuição do T_{1/2}Cr em minutos (min.), do total da amostra de cães nos diversos dias das colheitas sanguíneas



4. Discussão dos resultados

Surpreendentemente, em todos os animais deste estudo houve, pelo menos, um momento durante o protocolo com fármacos antineoplásicos, em que a TFG esteve acima do limite superior normal. No entanto, em nenhuma ocasião houve valores da TFG abaixo do limite inferior normal. Estes resultados poderão indicar que houve uma deterioração precoce da função renal excretora, que levou o rim a compensar através da hiperfiltração. A posterior diminuição da TFG para valores de referência pode, como já foi dito, ter dois significados. O primeiro é que tenha havido normalização da TFG, uma vez que a lesão renal não foi suficientemente grave para afetar o órgão, ou nem sequer houve lesão do mesmo, e o segundo é que esta diminuição, para valores normais, poderá ser o reflexo de uma fase mais avançada de uma lesão glomerular preexistente, caracterizada anteriormente por hiperfiltração glomerular.

Por outro lado, e uma vez que a totalidade dos fármacos utilizados são de excreção renal, uma hiperfiltração glomerular poderá refletir uma excreção mais rápida do fármaco antineoplásico, e conseqüentemente uma subdosagem do mesmo. É lícito pensar que tal poderá resultar em falhas terapêuticas e mesmo ao indesejável desenvolvimento de resistências aos fármacos por parte das células neoplásicas.

As diferenças na TFG entre animais poderão ter sido influenciadas por diversos fatores não-renais como a ingestão de proteínas, estado de hidratação, o equilíbrio de sódio, bem como o género. Ademais, o tempo entre administrações também poderá ter alguma influência na TFG. A variabilidade de protocolos instituídos nos diferentes animais, também poderá ter sido um factor que contribuiu estes resultados.

Apesar de a produção de creatinina ocorrer a um ritmo quase constante, sendo apenas minimamente afetada pelo consumo de proteína (Hendy-Willson & Pressler, 2011), uma dieta rica em proteína leva a um aumento da TFG em cães (Brown et al., 1991).

Uma vez que este trabalho foi realizado em animais doentes do hospital escolar, e que vários fatores eram já requeridos para a realização do estudo (a quimioterapia em si, o número de horas necessárias para o estudo, a administração de creatinina exógena e a necessidade de colheita de amostras sanguíneas seriadas) coadjuvado com o estado emocional dos proprietários face à neoplasia diagnosticada no seu animal, não foi solicitado aos proprietários que mantivessem os seus animais em jejum de 12 horas, previamente à realização do estudo.

No presente estudo, a ingestão de água não foi controlada, mas esta estava disponível *ad libitum*. Uma vez que o estado de hidratação num cão não pode ser determinado com precisão por meio do exame físico, o efeito de hidratação deve ser minimizado pela administração de fluidos para corrigir potenciais défices. Neste estudo não houve nenhum animal com valores de TFG inferiores a 2,32 ml/min/ Kg, sugerindo que os cães mantiveram o seu estado de hidratação normal durante a realização do mesmo.

A ingestão de alimentos não foi controlada como era nosso desejo, no entanto, se a variação na TFG em dias diferentes foi provocada por diferenças na ingestão de proteínas, esta apenas poderá ser devida a uma diferença na quantidade de comida que cada cão consumiu nos diferentes dias do exame, uma vez que não houve mudança nem da ração nem dos horários de refeição ao longo do estudo.

No nosso estudo não foi possível avaliar o efeito da idade nos parâmetros em estudo, uma vez que a amostra é demasiado pequena e há pouca diferença de idades entre os animais. Sabemos no entanto que a idade também pode afetar a TFG uma vez que a capacidade de adaptação do rim aos fatores exógenos e endógenos vai diminuindo com a idade (Polzin & Osborne, 1995; Chew & DiBartola, 2009; Polzin, 2011). No entanto, esta não é necessariamente uma manifestação específica de doença, sendo um fenómeno biológico ligado à senescência celular e do órgão. A diminuição do tamanho e volume renal, com a idade, resulta numa diminuição na área de filtração da membrana basal glomerular, e diminuição da permeabilidade (Lubran, 1995). No entanto, doenças específicas podem ser sobrepostas no processo de envelhecimento normal e influenciar o declínio da TFG de cada indivíduo (Glassock & Winearls, 2009).

A composição corporal dos cães deste estudo foi bastante variável. Alguns animais eram obesos e outros bastante magros, com um intervalo de peso corporal de 5,4 a 44,8 kg. Mas mais uma vez a amostra é demasiado pequena para tirar conclusões acerca da relação entre a TFG e ao peso corporal. O peso corporal é um fator fisiológico relevante que afeta a função renal em cães. Tal deve-se a diversas questões como o facto de a gordura ter uma baixa taxa metabólica, o que contribui pouco para TFG. E, de facto, hoje em dia, verifica-se uma elevada taxa de obesidade em cães. Por outro lado, há também uma enorme diversidade de tamanhos e peso corporal em função das raças. No entanto o peso corporal é utilizado em Medicina Veterinária na padronização dos valores da TFG, contribuindo para a variabilidade da mesma, nestes animais (Lefebvre, 2010). A primeira evidência do efeito do peso corporal na TFG numa grande população de cães saudáveis foi relatada em 2004 (Lefebvre et al., 2004). A TFG foi estimada em 113 cães usando a depuração plasmática de creatinina exógena, tendo os animais sido divididos em quatro categorias de peso corporal: Mini, Medium, Maxi e Gigante. Os valores da TFG correspondentes (média \pm DP) foram $3,66 \pm 0,47$, $3,04 \pm 0,52$, $2,53 \pm 0,42$ e $2,35 \pm 0,56$ ml / min/kg, prospectivamente. Bexfield e colaboradores (2008) obtiveram resultados semelhantes em 118 cães adultos saudáveis utilizando a depuração plasmática do iohexol para estimar a TFG. Também foi detetada uma relação linear negativa significativa entre o peso corporal e TFG estimada. Assim, quanto maior for o peso corporal, menor será a TFG (expressos em ml/min/kg).

O impacto que os diferentes protocolos administrados poderão ter tido no organismo de cada animal também poderá ter sido um fator que contribuiu para grande variabilidade dos valores de TFG. No entanto, seria necessário uma amostra maior e mais homogénea, para

obter resultados estatisticamente significativos. Para além disso, seria necessário avaliar a função renal em todas as semanas em que se administrou um fármaco diferente para avaliar o impacto individual de cada fármaco na função renal.

Finalmente, verificou-se ainda uma grande variabilidade da TFG entre animais assim como no mesmo indivíduo ao longo do tempo. Desta forma, para além dos fatores que afetam os cães de forma diferente e que podem contribuir para a variabilidade entre eles, como a conformação corporal, a relação da TFG com o peso vivo e diferenças fisiológicas intrínsecas, parecem existir fatores que, ao longo do tempo, vão contribuir para uma grande variabilidade no próprio indivíduo. Esta variabilidade observada no mesmo indivíduo pode ser devida ao facto de todos os animais apresentarem doença neoplásica e serem submetidos a tratamento com fármacos antineoplásicos aos quais poderão ter respondido de forma diferente.

4.1. Análise individual da TFG

Devido ao pequeno tamanho da amostra não foi possível avaliar estatisticamente as diferenças observadas nos valores da TFG. Assim, optou-se por fazer uma avaliação individual da TFG em cada animal, ao longo do tempo em que foi decorrendo o protocolo quimioterápico.

No canídeo 1, verificou-se a ocorrência de hemólise nas amostras sanguíneas da primeira colheita, o que não permitiu quantificar corretamente as concentrações de creatinina nas mesmas, invalidado o cálculo do valor da TFG, nesse dia. Assim, o estudo da função renal do cão 1 iniciou-se na 2ª colheita, e portanto, na semana em que foi administrada, pela terceira vez a vimblastina (administrou-se na semana 0, na semana 1). A TFG correspondente a essa semana foi de 4,38 ml/min/Kg, valor superior ao valor do limite máximo considerado de referência (3,65 ml/min/Kg). Ao longo das semanas seguintes este valor foi aumentando até atingir os 5,99 ml/min/Kg na semana 7, após a qual desceu radicalmente para 2,87 ml/min/Kg. Assim, como descrito na bibliografia, parece ter havido uma hiperfiltração, de forma a compensar uma possível lesão renal. Como não se conseguiu calcular o valor da 1ª semana, na qual se avalia a função renal sem a influência da quimioterapia, não se sabe se esta lesão já existiria antes do início da administração de fármacos antineoplásicos ou se a hiperfiltração se iniciou após o seu início. Se for este último o caso, podemos supor que a administração de vimblastina e prednisolona neste animal poderá ter tido consequências nefastas no rim, que o levou a hiperfiltrar de forma a compensar a lesão. Da semana 7 para a semana 11, houve uma diminuição da TFG para valores normais. Neste caso, um acompanhamento mais prolongado deste animal teria sido vantajoso para perceber se a TFG diminuiu ainda mais ou se se manteve dentro dos valores de referência.

No canídeo 2, a função renal foi avaliada antes de se iniciar o protocolo quimioterápico e durante o mesmo. Desta forma, na semana 0, em que não houve influência de fármacos antineoplásicos, a TFG foi de 3,22 ml/min/Kg, encontrando-se dentro dos valores de referência. No entanto, na semana 2, correspondente à 3ª sessão de quimioterapia, a TFG subiu para valores acima dos valores de referência (5,62 ml/min/Kg). Na semana 5, desceu (3,33 ml/min/Kg) novamente para valores de referência, tendo voltado a subir na semana 7 (5,59 ml/min/Kg) e voltando novamente a descer (3,26 ml/min/Kg). Neste animal, observou-se apenas duas alturas, ao longo do período do protocolo quimioterápico, em que a TFG foi superior ao valor de referência. Assim, a quimioterapia neste animal parece ter afetado de forma ligeira o rim, uma vez que este foi conseguindo recuperar a sua função. No entanto, dever-se-ia ter estendido o período de avaliação da função renal, de forma a perceber se a TFG deste animal se manteve normal após o término da quimioterapia. O indivíduo 3, antes de iniciar o protocolo quimioterápico, apresentava uma TFG dentro dos valores de referência (2,73 ml/min/Kg), a qual aumentou significativamente na semana 2 (6,93 ml/min/Kg), não tendo sido muito diferente na semana 5 (7,07 ml/min/Kg). Na semana 7 a TFG desceu ligeiramente (4,22 ml/min/Kg) e voltou a subir substancialmente na semana 11 (6,36 ml/min/Kg). O padrão da TFG deste animal, ao longo da quimioterapia, foi bastante diferente dos anteriores; no entanto as circunstâncias foram, também, diferentes uma vez que este animal não respondeu bem à quimioterapia, tendo havido recidiva do mastocitoma e crescimento do mesmo ao longo das semanas. Como tal, foi adicionado atempadamente um fármaco de resgate (masitinib) na 4ª sessão de quimioterapia (semana 3). Assim, este indivíduo, apesar de ter uma TFG normal antes de iniciar a quimioterapia, manteve valores acima dos valores de referência durante todo o período do protocolo quimioterápico. Mais uma vez, teria sido vantajoso ter realizado um estudo prolongado para saber se houve ou não alteração permanente da TFG, ou se a hiperfiltração apresentada foi devida, a lesões que terão regredido após o término da quimioterapia, não apresentando assim consequências graves.

No animal 4 a TFG, antes do início da quimioterapia, já se apresentava bastante acima do limite máximo de referência (4,98 ml/min/Kg), tendo descido para valores normais (3,46 ml/min/Kg) na semana 2. Na semana 5, a TFG voltou a aumentar significativamente (6,73 ml/min/Kg) e manteve-se alta até à semana 12. A este animal, ao contrário dos últimos três que apresentavam mastocitoma, foi-lhe diagnosticado linfoma multicêntrico. Como referido anteriormente, não são apenas os fármacos antineoplásicos que podem estar associados à lesão renal, mas também a própria neoplasia em si, assim como fatores ligados ao paciente. Neste animal o valor aumentado da TFG antes do início do protocolo poderia corresponder a uma alteração da função excretora do rim, secundária a um outro, ou outros fatores que não a quimioterapia. O rim poderá ter conseguido normalizar na semana 2, no entanto, e até à semana 12 (semana na qual se terminaram as colheitas) a TFG manteve-se sempre

aumentada. Podemos supor que este animal inicialmente já apresentava alguma alteração da função renal que se poderá ter agravado ao longo das semanas, devido à administração semanal de fármacos antineoplásicos.

O animal 5 teve um percurso bastante diferente dos outros. À semelhança do cão 4 apresentou TFG elevadas antes do início da quimioterapia tendo baixado para valores normais até à semana 9, na qual voltou a aumentar (5,61 ml/min/Kg) e voltando novamente a descer na última semana de tratamento para valores normais (3,55 ml/min/Kg).

Por último, no animal 6 apenas foi possível realizar duas colheitas, uma vez que o seu estado piorou bastante após a 2ª sessão de quimioterapia tendo acabado por falecer. No entanto, teve um percurso inicial muito semelhante aos dois anteriores. Começou com valores de TFG acima do limite máximo de referência (5,5 ml/min/Kg), tendo normalizado a TFG na 2ª sessão de quimioterapia.

Curiosamente os dois animais com TFG mais elevadas foram o animal 3 e o animal 4, sendo os mesmos animais que não responderam à quimioterapia, e que tiveram que iniciar fármacos de resgate.

Como dito anteriormente, o tempo entre administrações também poderá ter alguma influência na TFG. Assim, podemos constatar que o animal 5, cujo intervalo entre administrações dos fármacos antineoplásicos foi de 3 semanas, e portanto um período mais alargado comparando com os outros indivíduos, foi o que apresentou TFG mais baixas, inclusive, em 3 das 5 semanas em que se avaliou a função renal, registaram-se valores de TFG dentro dos intervalos de referência. Por conseguinte, os animais 3 e 4, cujo intervalo entre as administrações foi semanal, foram os indivíduos que mantiveram TFG elevadas, praticamente ao longo de todo o protocolo quimioterápico.

Os indivíduos 1 e 2 tiveram um padrão de TFG muito semelhante, com semanas em que a TFG sobe acima de valores normais e outras em que parece haver uma normalização da função renal. Em ambos foi diagnosticado mastocitoma e foram submetidos ao mesmo protocolo e ambos tiveram boas respostas à quimioterapia.

5. Conclusões

A interação entre a função renal e a neoplasia é complexa. Para além do tratamento quimioterápico poder incluir fármacos potencialmente nefrotóxicos, tem sido demonstrado que a função renal é afetada também por fatores do metabolismo renal dos fármacos antineoplásicos, da presença da própria neoplasia ou fatores inerentes ao paciente, e mais do que um destes fatores pode contribuir para aumentar o risco de nefrotoxicidade (Henry, 2010; Perazella & Moeckel, 2010). Assim, a função renal pode encontrar-se alterada antes do início do protocolo quimioterápico, como aconteceu em três animais do nosso estudo,

passando despercebida na maioria das vezes devido à falta de sensibilidade dos exames complementares usados rotineiramente na avaliação desta.

A TFG sofreu alterações, em todos os animais do estudo, durante os protocolos com fármacos antineoplásicos. Valores de TFG acima do valor de referência sugerem que poderá ter havido uma hiperfiltração de origem compensatória.

Uma vez que os animais com menor intervalo entre administrações foram os que apresentaram os maiores valores de TFG e maior número de TFG com valores elevados, parece haver uma relação inversa entre a necessidade de hiperfiltração e o tempo decorrido administrações.

Finalmente, os animais com piores respostas ao tratamento foram os animais que, ao longo do protocolo, tiveram maior número e valores mais elevados da TFG. A existência do fenómeno de hiperfiltração, detetado pela existência de valores de TFG acima do limiar normal, poderá estar eventualmente relacionado com um pior prognóstico terapêutico e com a necessidade de recorrer a fármacos de resgate.

Este estudo pode ser considerado um estudo prévio que permitirá abrir caminho para a investigação nesta área que é de extrema importância. Para isso seria necessário desenhar um novo plano experimental, com uma amostra muito maior e homogénea e ter um grupo-controlo de animais saudáveis. Para além disso, teria sido interessante analisar a TFG juntamente com a creatinina sérica, para avaliar se há correlação entre estes dois parâmetros, e perceber se a creatinina sérica, efetivamente, não influencia de forma significativa os valores da TFG calculados através da DPCEX.

6. Considerações finais e perspetivas futuras

A informação retirada de Medicina Humana, associada a uma crescente utilização e desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas em pacientes oncológicos veterinários, torna imperativo um melhor conhecimento do impacto da quimioterapia na função renal. Assim, no futuro seria interessante avaliar a função renal da DPCEX numa amostra maior e mais homogénea de forma a tirar conclusões estatisticamente significativas e possíveis de extrapolar para a população canina. Apesar do grande número de doenças neoplásicas diagnosticadas em canídeos, a quimioterapia nem sempre está indicada ou é acessível aos proprietários. O ideal seria reduzir os tipos de neoplasias da amostra de canídeos para uma ou duas e associar a cada um dos tipos de neoplasias, no máximo dois tipos diferentes de protocolos quimioterápicos.

Como referido anteriormente, muitos são os fatores que podem contribuir para a doença renal. Assim, em estudos futuros deverá haver uma maior homogeneidade em relação ao tamanho e peso corporal dos animais, todos os animais deverão fazer jejum de 12 horas antes da realização do estudo, e deverá quantificar-se a concentração de creatinina

endógena, antes de todas as colheitas. Ademais para garantir que a desidratação não é um fator de variabilidade, durante a realização do estudo deverão ser administrados fluidos em todos os animais.

Segundo os resultados, o tratamento com fármacos antineoplásicos resulta frequentemente em hiperfiltração, embora não se saiba se esta alteração é suficiente para lesar permanentemente o rim, ou se é apenas uma alteração temporária que o rim é capaz de ultrapassar, após o término do tratamento quimioterápico. A avaliação da função renal após o término do protocolo quimioterápico, também seria um ponto interessante a estudar no futuro, de forma a perceber se a função renal é ou não irreversivelmente alterada pelo mesmo.

Será também importante, avaliar a função renal num grupo controlo para analisar a variabilidade dos valores da TFG, ao longo do tempo, em animais saudáveis.

Futuramente poderão também ser comparados diferentes marcadores de filtração de forma a perceber qual o mais adequado para a clínica de rotina.

Para além disso, sendo este exame complementar mais preciso na avaliação da função renal, a sua aplicação em outras áreas como por exemplo em pós-cirúrgicos, geriatria, cuidados intensivos, entre outras, seria uma mais-valia de forma a poder-se ajustar o tratamento de cada animal de acordo com a sua função renal.

Bibliografia

- Almeida, J.M.M.H. (2001). Desenvolvimento de Modelos de Insuficiência Renal Induzida para Estudos Farmacocinéticos. Tese de Doutorado. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- Annesley, T.M. & Clayton, L.T. (2009). Ultrapformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for iohexol in human serum. *Clinical Chemistry*, 55, 1196-1202.
- Atherton, J.C. (2012). Renal blood flow, glomerular filtration and plasma clearance. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 13, 315-319.
- Azam, F., Mehta, S. & Harris A.L. (2010). Mechanisms of resistance to antiangiogenesis therapy. *European Journal of Cancer*, 46, 1323-1332.
- Back, S.E., Masson, P. & Nilsson-Ehle, P. (1988). A simple chemical method for the quantification of the contrast agent iohexol, applicable to glomerular filtration rate measurements. *Scand J Clin Lab Invest*, 48, 825-829.
- Bahl, A. & Bakhshi, S. (2012). Metronomic chemotherapy in progressive pediatric malignancies: Old drugs in new package. *Indian Journal Pediatrics*, 79, 1617-1622.
- Balducci, L. (2007). Caring for geriatric cancer patients: What is needed aside from medical care. In A. Villalobos & L. Kaplan, *Canine and Feline Geriatric Oncology: Honoring the Human-Animal Bond*. (pp.23-43). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing
- Barthez, P.Y., Hornof, W.J., Cowgill, L.D., Neal, L.A., Mickel, P. (1998). Comparison between the scintigraphic uptake and plasma clearance of ^{99m}Tc-diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) for the evaluation of glomerular filtration rate in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 39(5), 470-474.
- Braselton, E.W., Stuart, K.J., Kruger, J.M. (1997). Measurement of serum iohexol by determination of iodine with inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy. *Clinical Chemistry*, 43, 1429-1435.
- Braun, J.P, Lefebvre, H.P. & Watson, A.D.J. (2003). Creatinine in the dog: a review. *Veterinary Clinical Pathology*, 32.(4), 162-179.

- Barthez, P.Y., Chew, D.J., DiBartola, S.P. (2001). Simplified methods for estimation of ^{99m}Tc-pentetate and ¹³¹I-orthoiodohippurate plasma clearance in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15, 200-208.
- Bexfield, N.H., Heiene, R., Gerritsen, R.J., Risoen, U., Eliassen, K.A., Herrtage, M.E. & Michell, A.R. (2008). Glomerular filtration rate estimated by 3-sample plasma clearance of iohexol in 118 healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 66-73.
- Brown, S., D. Finco, et al. (1990). Single nephron adaptations to partial renal ablation in dogs. *American Journal of Physiology*, 258, 495-503. Acedido a 17 de Novembro, disponível em, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2316661>
- Brown, S.A., D.R. Finco, et al. (1995). Impaired renal autoregulatory ability in dogs with reduced renal mass. *Journal of the American Society of Nephrology*, 5, 1768-1774.
- Brown, S.A., Finco, D.R., Boudinot, F.D., Wright, J., Taver, S.L. & Cooper, T. (1996). Evaluation of a single injection method, using iohexol, for estimating glomerular filtration rate in cats and dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 54, 970-975.
- Brown, S.A., Haberman, C. & Finco, D.R. (2001). Use of plasma clearance of iohexol for estimating glomerular filtration rate in cats. *American Journal Of Veterinary Research*, 57, 572-575.
- Brown, S.A. (2007). Management of chronic kidney disease. In J. Elliot & G.F. Grauer (Eds.), *BSAVA manual of canine and feline nephrology and urology*, (2nd ed.). (pp.223-230). Gloucester, England: British Small Animal Veterinary Association.
- Brown, S. (2011). Physiology of the Kidneys. In J. Bartges, D.J. Polizin, *Nephrology and Urology of Small Animals* (1st ed.). (pp. 10-17) Chichester, West Sussex, UK: Blackwell Publishing.

- Buranakarl, C., Kijawornrat, A., Nampimoon, P., Chaiyabutr, N., Bovee, K.C. (2003). Comparison of measurements of glomerular filtration rate using single-injection inulin methods and urinary creatinine clearance in dogs with reduced renal blood flow. *Thai Journal of Physiological Sciences*, 16, 9-16.
- Carneiro, J., Junqueira, L.C. (2004). Aparelho urinário. In J. Carneiro, L.C. Junqueira, *Histologia Básica* (10^a ed.). (pp. 371-389). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- Chew, D.J, DiBartola, S.P. & Schenck, P. (2011). Chronic renal failure. In D.J. Chew, S.P. DiBartola & P. Schenck (Eds), *Canine and Feline Nephrology and urology*. (2nd ed.). (pp. 145-196). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Chun, R. (2010). Paraneoplastic syndromes. In C.J. Henry & M.L. Higginbotham, *Cancer Management in Small Animal Practice*. (pp.94-100). Missouri, USA: Saunders Elsevier.
- Chun, R., Garrett, L.D., Vail, D.M. (2007). Cancer chemotherapy. In S.J. Withrow, D.M. Vail & R.L. Paige (Eds.), *Withrow and Macewen`s Small Animal Clinical Oncology*, (4th ed.). (pp.163-192). St. Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier.
- Clarkson, C.E., Fletcher, T.F. (2011). Anatomy of the kidney and proximal urethra. In J. Bartges & D.J. Polzin (Eds.), *Nephrology and Urology of small animals* (1st. ed.). (pp.3-9). Chichester, West Sussex, UK: Blackwell Publishing.
- Cochran, P. E. (2011). The urinary System. In P.E. Cochran, *Veterinary Anatomy and Physiology* (2nd ed.) (pp. 253-265). New York: Delmar, Cengage Learning.
- Coppoc, G.L. (2009). Chemotherapy of neoplastic diseases. In J.E. Riviere & M.G. Papich (Ed.), *Veterinary Pharmacology and therapeutics*. (9th ed.). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Cortadellas, O., Fernández del Palacio, M.J., Talavera, J., & Bayón, A. (2008). Glomerular filtration rate in dogs with leishmaniasis and chronic kidney disease. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 22, 293–300.
- Cottiero, R.A., Madaio, M.P., Levey, A.S. (1995). Glomerular filtration rate and urinary albumin excretion rate in systemic lupus erythematosus. *Nephron Journal*, 69, 140-146.

- Daniel, G.B., Mitchell, S.K., Mawby, D., Sackman, J.E., Schmidt, D. (1999). Renal nuclear medicine: a review. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 40, 572-587.
- DiBartola, S. (2010). Clinical approach and laboratory evaluation of renal diseases. In S. Ettinger, & E. Feldman, *Textbook of Veterinary internal Medicine: Diseases of the Dog and the Cat* (7th ed.). St. Louis: Saunders. Acedido em Nov. 13, 2012, em www.expertconsult.com
- DiBartola, S. P., (2012a). Applied renal physiology. In S. P. DiBartola (Ed.), *Fluid, Electrolyte, and Acid-base Disorders in Small Animal Practice*. (4th ed.). (pp 26-43). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- DiBona, G.F. (2000). Neural control of the kidney: functionally specific renal sympathetic nerve fibers. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 279, 1517-1524.
- Duval M, Suciu S, Ferster A, Rialland X, Nelken B, Lutz P, Benoit Y, Robert A, Manel AM, Vilmer E, Otten J, Philippe N. (2002). Comparison of Escherichia coli asparaginase with Erwinia-asparaginase in the treatment of childhood lymphoid malignancies: results of a randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer-Children's Leukemia Group phase 3 trial [abstract]. *Blood*, 99, 2734-2739. Acedido em Fev. 26, 2013 disponível em <http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/99/8/2734.full.pdf+html>
- Elliot, J. (2007). Staging chronic kidney disease. In J. Elliot & G.F. Grauer (Eds.), *BSAVA manual of canine and feline nephrology and urology*, (2nd ed.). (pp.159-166). Gloucester, England: British Small Animal Veterinary Association.
- EPAR (2013), Palladia: EPAR – Summary for the public. European Medicines Agency Science Medicines Health. Acedido em Maio 20, 2013, disponível em: www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/veterinary/medicines/000150/vet_med_000156.jsp&mid=WC0b01ac058008d7a8
- Feldman, E.C. & Nelson, R.W. (2004). Hypercalcemia and primary hyperparathyroidism. In E.C. Feldman & R.W. Nelson, *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. (3rd ed.). (pp. 660-715). Missouri, USA: Saunders Elsevier.

- Finco, D.R., Coulter, D.B., Barsanti, J.A. (1981). Simple accurate method for clinical estimation of glomerular filtration rate in the dog. *American Journal of Veterinary Research*, 42, 1874-1877.
- Finco, D.R., Brown, S.A., Crowell, W.A., Barsanti, J.A. (1991). Exogenous creatinine clearance as a measure of glomerular filtration rate in dogs with reduced renal mass. *American Journal of Veterinary Research*, 52, 1029-1032.
- Finco, D.R., Braselton, W.E. & Cooper, T.A. (2001). Relationship between plasma iothalamate clearance and urinary exogenous creatinine clearance in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15, 368-373.
- Finco, D.R. (2005) Measurement of glomerular filtration rate via urinary clearance of inulin and plasma clearance of technetium Tc 99m pentetate and exogenous creatinine in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 66, 1046-1055.
- Frennby, B. (1997). Use of iothalamate clearance to determine the glomerular filtration rate. A comparison between different clearance techniques in man and animal. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 182, 1-61.
- Gaffney, E.A. (2004). The application of mathematical modelling to aspects of adjuvant chemotherapy scheduling. *Journal Mathematical Biology*, 48, 375–422.
- Gamba, G., Friedman, P.A. (2009). Thick ascending limb: the Na⁺:K⁺:2Cl⁻ co-transport, NKCC2 and calcium-sensing receptor, CaSR. *Pflügers Archive: European Journal of Physiology*, 458, 61-76.
- Gaspari, F., Perico, N., Ruggenti, P., Mosconi, L., Amuchastegui, C.S., Guerini, E., Daina, E, Remuzzi, G. (1995). Plasma clearance of nonradioactive iothalamate as a measure of glomerular filtration rate. *Journal of the American Society of Nephrology*. 6, 257-263.
- Gleadhill, A. & Michell, A.R. (1996). Evaluation of iothalamate as a marker for the clinical measurement of glomerular filtration rate in dogs. *Research in Veterinary Science*, 60, 117-121.
- Goy-Thollot, I., Chafotte, C., Besse, S., Garnier, F., Barthez, P.Y., (2006a). Iothalamate plasma clearance in healthy dogs and cats. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 47(2), 168-173.

- Goy-Thollot, I., Besse, S., Garnier, F., Marignan, M., Barthez, P.Y., (2006b). Simplified methods for estimation of plasma clearance of iohexol in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20, 52-56.
- Gustafson, L.D. & Rodney, L.P. (2012). Cancer chemotherapy. In S.J. Withrow, D.M. Vail & R.L. Paige (Eds.), *Withrow and Macewen's Small Animal Clinical Oncology*, (5th ed.). (pp.157-179). St. Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier.
- Hahn, K., Legendre, A.M., Shaw, N.G., Phillips, B., Ogilvie, G.K., Prescott, D.M., Atwater, S.W., Carreras, J.K., Lana, A.E., Ladue, T., Rusk, A., Kinet, J.P., Dubreuil, P., Moussy, A. & Hermine, O. (2010). Evaluation of 12-and 24-month survival rates after treatment with masitinib in dogs with nonresectable mast cell tumors. *American Journal of Veterinary Research*, 71, 1354-1361.
- Hahn, K.A., Ogilvie, G., Rusk, T., Devauchelle, P., Leblanc, A., Powers, B., Leventhal, P.S., Kinet, J.P., Palmerini, F., Dubreuil, P., Moussy, A. & Hermine, O. (2008). Masitinib is safe and effective for the treatment of canine mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 1301-1309.
- Haller, M., Muller, W., Binder, H., Estelberger, W., Arnold, P. (1998). Single-injection inulin clearance – a simple method for measuring glomerular filtration rate in dogs. *Research in Veterinary Science*, 64, 151-156
- Hasler, U., (2009). Controlled aquaporin-2 expression in the hypertonic environment. *Cell Physiology: American Journal of Physiology*, 296, 641-653.
- Hawkins, R. (2011). New biomarkers of acute kidney injury and the cardio-renal syndrome. *Korean Journal of Laboratory Medicine*, 31, 72-80.
- Heiene, R. & Moe, L. (1998). Pharmacokinetic aspects of measurement of glomerular filtration rate in the dog: a review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12, 401-414.
- Heiene, R., Lefebvre, H.P. (2007). Assessment of renal function. In J. Elliot, & G.F. Grauer, *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*. (2nd ed.). Quedgeley, Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.

- Heinzel, G.; Woloszczak, R.; Thomann, P. (1993) *TOPFIT versão 2.0, Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis System*. New York: VCH Publishers
- Henry, C.J. (2003). Management of transitional cell carcinoma [abstract]. *The Veterinary clinics of North America: Small animal practice*, 33 (3), 597-613. Acedido em Março 2, 2012 disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12852238>.
- Huber, T.B., Hartleben, B., Kim, J., Schimdts, M., Schermer, B., Keil, A., Egger, L., Lecha, R.L., Borner, C. & Pavensta, H. (2003). Nephrin and CD2AP associate with phosphoinositide 3-OH Kinase and stimulate AKT-dependent signaling. *Molecular and cellular Biology*, 23, 4917-4928.
- Hussain, S., Romio, L., Saleem, M., Mathieson, P., Serrano, M., Moscat, J., Diaz-Meco, M., Scambler, P. & Koziell, A. (2009). Nephrin deficiency activates NF- κ B and promotes glomerular injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 20, 1733–1743.
- International Renal Interest Society (IRIS). (2007). Acedido em 3 de Dezembro de 2012, disponível em www.iris-kidney.com.
- Jamison, R.L. & Maffly, R.H. (1979). The urinary concentrating mechanism. *The New England Journal of Medicine*, 295, 1059-1067.
- Kampa, N., Bostrom, I., Lord, P., Wennstrom, U., Ohagen, P., Maripuu, E. (2003). Day-to-day variability in glomerular filtration rate in normal dogs by scintigraphic technique. *Journal of Veterinary Medicine: Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 50, 37-41.
- Karayannopoulou, M., Kaldrymidou, E., Constantinidis, T.C., Dessiris, A. (2001). Adjuvant post-operative chemotherapy in bitches with mammary cancer. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 48 (2), 85-96.
- KDIGO 2012 Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. (2013). Chapter 1: Definition, and classification of CKD. *Kidney International Supplements*, 3, 5-8. Acedido em Março 13, 2013, disponível em www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/pdf/CKD/KDIGO_2012_CKD_GL.pdf

- Kent, M.S., Strom, A., London, C.A., Seguin, B. (2004). Alternating carboplatin and doxorubicin as adjunctive chemotherapy to amputation or limb-sparing surgery in the treatment of appendicular osteosarcoma in dogs [abstract]. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18 (4), 540-544. Acedido em Março. 2, 2013 disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15320595>
- Kimata, S., Mizuguchi, K., Hattori, S., Teshima, S., Orita, Y. (2009). Evaluation of a new automated, enzymatic inulin assay using D-fructose deshydrogenase. *Clinical and Experimental Nephrology*, 13, 341-349.
- Klein, M.K. (2003). Multimodality therapy for head and neck cancer. The Veterinary clinics of North America. *Small Animal Practice*, 33, 615–628.
- Lana, S.E. & Dobson, J.M. (2011). Principles of chemotherapy. In J.M. Dobson & B.D.X. Lascelles (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology*. (3rd ed. . (pp.60-79). London: British Small Animal Veterinary Association.
- Laroute, V., Lefebvre, H.P., Costes, G., Toutain, P.L. (1999). Measurement of glomerular filtration rate and effective renal plasma flow in the conscious beagle dog by single intravenous bolus of iohexol and p-aminohippuric acid. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 41, 17-25.
- Launay-Vacher, V., Izzedine, H., Rey, J.B., Rixe, O., Chapalain, S., Nourdine, S., Paci, A., Bourget, P., Deray, G. (2004). Incidence of renal insufficiency in cancer patients and evaluation of information available on the use of anticancer drugs in renally impaired patients. *Medical Science Monitor*, 10, 209-212.
- Launay-Vacher, V., Oudard, S., Janus, N., Gligorov, J., Pourrat, X., Rixe, O., Morere, J.F., Beuzeboc, P. & Deray, G. (2007). Prevalence of renal insufficiency in cancer patients and implications for anticancer drug management. *Cancer*, 110, 1376-1384.
- LeBlanc, A.K., Mauldin G.E., Milner, R.J., LaDue, T.A., Mauldin, G.N., Bartges, J.W. (2006). Efficacy and toxicity of BOPP and LOPP chemotherapy for the treatment of relapsed canine lymphoma. *Veterinary and comparative oncology*, 4, 21-32.

- Lefebvre, H.P. (2011). Renal function testing. In D.J. Polizin, *Nephrology and Urology of Small Animals* (1st ed.). (pp 91-96) Chichester, West Sussex, UK: Blackwell Publishing
- Lefebvre, H.P., Jeunesse, E., Concordet, D., Ferre, P., De La Farge, F., Laroute, V., Giraudel, J. & Watson, A.D.J. (2004). Assessment of glomerular filtration rate using plasma exogenous creatinine clearance test: preliminary results in a healthy canine population. *American College of Veterinary Internal Medicine*. Acedido em Abr. 12, 2013, disponível em: <http://www.vin.com/doc/?id=3849831>
- Linnetz, E.H., Graves, T.K. (2010). Glomerular filtration rate in general small animal practice. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians*, 32(10), E1-E6. Acedido em Dez. 21, 2012, disponível, em: https://s3.amazonaws.com/assets.prod.vetlearn.com/mmah/c1/83f6b300584db294f7dd53b07df230/filePV1010_linnetz_CE.pdf
- London, C.A. (2009). Tyrosine kinase inhibitors in veterinary medicine. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24, 106-112.
- London, C.A.; Malpas, P.B., Wood-Follis, S.L., Broucher, J.F., Rusk, A.W., Rosenberg, M.P., Henry, C.J., Mitchener, K.L., Klein, M.K., Hintermeister, J.G., Bergman, P.J., Couto, G.C., Mauldin, G.N. & Michels, G.M. (2009). Multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. *Clinical Cancer Research*, 15, 3856-3865.
- Magnotti, R.A., Connell, J.L. & Marietta, P.M. (2009). Automated colorimetric gadolinium assay for verification of clearance and estimation of glomerular filtration rate. *Clinica Chimica Acta*, 399, 59-63.
- Marques-Sampaio, B.P., et al. (2007). Dog Kidney: anatomical relationships between intrarenal arteries and kidney collecting system. *The Anatomical Record* 290: 1017-1022.
- McAfee, J.G., Grossman, Z.D., Gagne, G., Zens, A.L., Subramanian, G., Thomas, F.D., Fernandez, P., Roskopf, M.L. (1981). Comparison of renal extraction efficiencies for radioactive agents in the normal dog. *Journal of Nuclear Medicine*, 22, 333-338.

- Miyagawa, Y., Takemura, N., Hirose, H. (2009a). 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. *Journal of Veterinary Medical Science*, 71, 1169-1176.
- Miyagawa, Y., Takemura, N., Hirose, H. (2009b). Evaluation of a single sampling method for estimation of plasma iohexol clearance in dogs and cats with various kidney functions. *Journal of Veterinary Medical Science*, 72, 271-278.
- Miyagawa, Y., Takemura, N. & Hirose, H. (2010). Assessments of factors that affect glomerular filtration rate and indirect markers of renal function in dogs and cats. *Journal of Veterinary Medical Science*, 72, 1129-1136.
- Moe, L. & Heiene, R. (1994). Estimation of glomerular filtration rate in dogs with 99M-Tc-DTPA and iohexol. *Research in Veterinary Science*, 58, 138-143.
- Moe, L. & Heiene, R. (1995). Estimation of glomerular filtration rate in dogs with 99M-Tc-DTPA and iohexol. *Research in Veterinary Science*, 58, 138-143.
- Monti, P., Benckekroun, G., Berlato, D. & Archer, J. (2012). Initial evaluation of canine urinary cystatin C as a marker of renal tubular function. *Journal of Small Animal Practice*, 53, 254-259.
- Morris, J. & Dobson, J. (2001). Treatment options. In J. Morris & J. Dobson, *Small Animal Oncology*. (pp.31-49). London: Blackwell Science.
- Murphy, S.W., Barrett, B.J. & Parfrey, P.S. (2000). Contrast nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 11, 177-182.
- Mutsaers, A.J. (2007). Chemotherapy: New uses for old drugs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 37, 1079-1090.
- Nelson, R., & Couto, G. (2006a). Insuficiência renal. In R. Nelson, & G. Couto, *Medicina Interna de Pequenos Animais* (3^a ed, pp. 583-597). Rio de Janeiro: Elsevier.
- Nelson, R., & Couto, G. (2006b). Quimioterapia. In R. Nelson, & G. Couto, *Medicina Interna de Pequenos Animais* (3^a ed., pp. 1069-1072). Rio de Janeiro: Elsevier.

- Nelson, R.W., & Couto, G.C. (2009). Acute renal failure and chronic renal failure. In R.W. Nelson, & G.C. Couto, *Small Animal Internal Medicine* (4th ed., pp. 645-659). St. Louis: Elsevier.
- Nishida, M., Uechi, M., Kono, S., Harada, K., Fujiwara, M. (2012) Estimating glomerular filtration rate in healthy dogs using inulin without urine collection. *Research in Veterinary Science*, 93, 398-403.
- Nolan, B.G., Ross, L.A., Vaccaro, D.E., Groman, E.V. & Reinhardt, C.P. (2009). Estimation of glomerular filtration rate in dogs by plasma clearance of gadolinium diethylenetriamine pentaacetic acid as measured by use of an ELISA. *American Journal of Veterinary Research*, 70, 547-552.
- North, S. & Banks, T. (2009). Principles of chemotherapy. In S. North & T. Banks (Eds.), *Introduction to Small Animal Oncology*. (pp. 31-44). St. Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier.
- Ogilvie, G. & Ahn. A. (2010). Masitinib – The efficacy of targeted therapy in veterinary medicine. *Veterinary Cancer Society*, 34, 6-11. Acedido em Março, 23, 2013 disponível em:
http://www.ab-science.com/file_bdd/1287678360_vcsummernewsletter2010.pdf
- Page, R.L., McEntee, M.C., George, S.L., Williams, P.L., Heidner, G.L., Novotney, C.A., Riviere, J.E., Dewhirst, M.W., Thrall, D.E. (1993). Pharmacokinetic and phase I evaluation of carboplatin in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 7, 235-240. Acedido em Fevereiro, 22, 2013 disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8246213>
- Perazella, M.A. & Moeckel, G.W. (2010). Nephrotoxicity from chemotherapeutic agents: clinical manifestations, pathobiology, and prevention/therapy. *Seminars in Nephrology*, 30, 570-581.
- Polzin, D.J. (2009). Diagnosing & staging of chronic kidney disease. *Proceedings of the 34th World Small Animal Veterinary Congress 2009*. Acedido Fev. 1, 2013, disponível em:
<http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2009/lecture28/1.pdf?LA=1>

- Polzin, D. (2010). Chronic kidney disease. In S. Ettinger, & E. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and the Cat* (7th ed., pp. 1990-2021). St. Louis: Saunders.
- Polzin, D.J. (2011). Chronic kidney disease. In D.J. Polzin & J. Bartges (Eds.), *Nephrology and Urology of Small Animals*. (1st ed.). (pp. 433-471). Chichester, West Sussex, UK: Blackwell Publishing.
- Randall, D., Burggren, W. & French, K. (2011). Equilibrio iónico y osmótico. In D. Randall, W. Burggren & K. French, *Eckert Fisiología Animal: Mecanismos y Adaptaciones*.(pp.623-682). Madrid, España: McGRAW-HILL/INTERAMERICANA.
- Reece, D. U. (2005). The urinary system. In W. O. Reece (Ed.), *Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals*. (3rd ed.). (pp. 269-311). Baltimore, Maryland, USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Rocco, M.V., Buckalew, J.R., Vardaman, M., Moore, L.C. & Shihabi, Z.K. (1996a). Measurement of glomerular filtration rate using nonradioactive Iohexol: comparison of two one-compartment models. *American Journal of Nephrology*, 16, 138-143.
- Rocco, M.V., Buckalew, J.R., Vardaman, M., Moore, L.C. & Shihabi, Z.K. (1996b) Capillary electrophoresis for the determination of glomerular filtration rate using nonradioactive Iohexol. *American Journal of Kidney Diseases*, 28, 173-177
- Rudnick, M.R., Goldfarb, S., Wexler, L., Ludbrook, P.A., Murphy, M.J., Halpern, E.F., Hill, J.A., Winniford, M., Cohen, M.B. & VanFossen, D.B. (1995). Nephrotoxicity of ionic and nonionic contrast media in 1196 patients: A randomized trial. *Kidney International*, 47, 254-261.
- Salgado, J.V., Neves, F.A., Bastos, M.G., França, A.K., Brito, D.J., Santos, E.M. & Salgado Filho, N. (2010). Monitoring renal function: measured and estimated glomerular filtration rates – a review. *Brazilian Journal Of Medical and Biological Research*, 43, 528-536.
- Shihabi, Z.K. & Constantinescu, M.S. (1992). Iohexol in serum determined by capillary electrophoresis. *Clinical Chemistry*, 38, 2117-2120.

- Shihabi, Z.K., Thompson, E.N., Constantinescu, M.S. (1993). Iohexol determination by direct injection of serum on the HPLC column. *Journal of Liquid Chromatography*, 16, 1289-1296.
- Shimizu, K. & Oku, N. (2004) Cancer anti-angiogenic therapy. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 27, 599-605.
- Sorenmo, K. (2003). Canine mammary gland tumors [abstract]. The Veterinary clinics of North America. *Small animal practice*, 33, 573-596. Acedido em Março. 3, 2013 disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12852237>
- Sugimoto, H., Hamano, Y., Charytan, D., Cosgrove, D., Kieran, Sudhakar, A. & Kalluri, R. (2003). Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble receptor 1 induces proteinuria. *Journal of Biological Chemistry*, 278, 12605-12608.
- Taniwaki, H., Ishimura, E., Emoto, M., Kawagishi, T., Matsumoto, N., Shoji, T., Okamura, T., Inaba, M. & Nishizawa, Y. (2000). Relationship between urinary albumin excretion and glomerular filtration rate in normotensive, nonproteinuric patients with type 2 diabetes mellitus. *Nephron Journal*, 86, 36–43.
- Tartaglia, L. & Waugh, A. (2002). The urinary system. In L. Tartaglia & A. Waugh, *Veterinary Physiology and Applied Anatomy: A textbook for veterinary nurses and technicians*. (pp. 123-128). London, UK: Butterworth-Heinemann.
- Verlander, J.W. (2009). Fisiología renal. In B.G. Klein, J.G. Cunningham, *Fisiología Veterinaria* (4ª ed., pp. 528-556). Barcelona, Espanha: Elsevier
- VICH Topic GL2. (1998). Guideline on validation of analytical procedures: methodology. CVMP/VICH/591/98-FINAL. Acedido Jan. 19, 2013, disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2009/lecture28/1.pdf?LA=1>
- Von Hendy-Willson, V.E., Pressler, B.M. (2011). An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. *The Veterinary Journal*, 188(2), 156-165.
- Watson, A.D.J., Lefebvre, H.P., Concordet, D., Laroute, V., Ferré, J., Braun, J., Conchou, F. & Toutain, P. (2002). Plasma exogenous creatinine clearance test in dogs:

comparison with other methods and proposed limited sampling strategy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16, 22-33.

Wehner, A., Hartmann, K., Hirshberger, J. (2008). Utility of serum cistatin C as a clinical measure of renal function in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 44, 131-138

Weidemann, A. And R.S. Johnson (2009). Nonrenal regulation of EPO synthesis. *Kidney International*, 75, 682-688.

Withrow, S.J., Vail, D.M., & Page, R.L. (2012). Introduction: Why worry about cancer in companion animals?. In S.J. Withrow, D.M. Vail & R.L. Paige (Eds.), *Withrow and Macewen`s Small Animal Clinical Oncology*, (5th ed.). (pp.157-179). St. Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier

Figura 11: Poster apresentado no ESVONC

Glomerular filtration rate in dogs submitted to therapeutic protocols with antineoplastic drugs. Preliminary results.

Cabral, A.S.^{1*}, Belas, A.¹, Vicente, G.², Lourenço, A. M.¹, Braz, B.S.¹

1. Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa
2. Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa
*sofiacabra4@gmail.com

INTRODUCTION

Pets submitted to chemotherapy protocols are potential exposed to severe drug side effects. Nephrotoxicity is of special concern with many of these drugs. Therefore renal function should be closely assessed both previously and throughout chemotherapy. Plasma clearance of exogenous creatinine has been accepted as an accurate, simple method for assessment of glomerular filtration rate (GFR) the gold standard test of renal function. Our goal with this study is to use plasma clearance of exogenous creatinine to evaluate renal function in animals with neoplastic disease as they undergo chemotherapy protocols (with potential nephrotoxic drugs) and look for early signs of renal damage.

MATERIAL & METHODS

In this study, 6 client-owned dogs (2 females and 4 males) aged between 7 and 13 years old (mean=10,5) admitted for chemotherapeutic treatment were included. Chemotherapy protocols used were Vinblastin+prednisolone (for mast cells tumor), CHOP (for lymphoma), carboplatin+doxorubicin (for melanoma) and mitroxtantone (for mammary carcinoma). Plasma clearance of exogenous creatinine was assessed for each chemotherapy cycle. Creatinine solution (80mg/kg BW) was administered by IV bolus (80mg/ml saline). Blood samples were collected at 15, 60, 120, 180, 240, 300 and 360 minutes after creatinine IV administration. Plasma creatinine concentrations were measured via the kinetic alkaline picrate method (1). Plasma creatinine clearance was determined by non compartmental approach using appropriated software (TOPFIT).

Dogs	Tumour	Protocol
1	Mast cells Tumour- grade II	Vinblastin+prednisolone
2	Mast cells Tumour- grade II	Vinblastin+prednisolone
3	Mast cells Tumour- grade II and grade I	Vinblastin+prednisolone + Masiitinib
4	Multicentric Lymphoma	CHOP + L-asparaginase
5	Malign melanoma	Doxorubicin+carboplatin
6	Mammary carcinoma	Mitroxantone

RESULTS & DISCUSSION

For measurement of plasma creatinine concentration the method was validated according to published guidelines (2). The linearity range was 1,56-100 µg/mL and the quantitation limit was 1,56 µg/mL. Within- and between day coefficients of variation were <10%.

Fig. 1. - Calibration curve [with correlation coefficient and slope of regression line]

Fig. 2. - Plate with samples measurements

The GFR calculated for all animals was 4.3 (± 1.2) ml/min/kg (Fig 3). This is in accordance with the findings of other authors regarding clinical conditions with renal dysfunction (3). In some animals increased GFR was frequently observed that could indicate transient glomerular hyperfiltration, witch seems to resolve with time (Fig.4). However, this does not imply that there is no loss in filtration capacity in the long-term.

Fig. 3. - Glomerular Filtration rate - distribution of values

Fig. 4. - GFR per animal in each chemotherapy session

CONCLUSIONS

It can be concluded that renal function is likely to be affected by chemotherapy. However some variability was observed between and within animals. Some variables like tumor type, chemotherapy protocol and other individual parameters (age, body weight, hydration state, protein intake) could explain the variability observed. In our opinion more studies of GFR evaluation are need taking these variables in account.

Bibliography

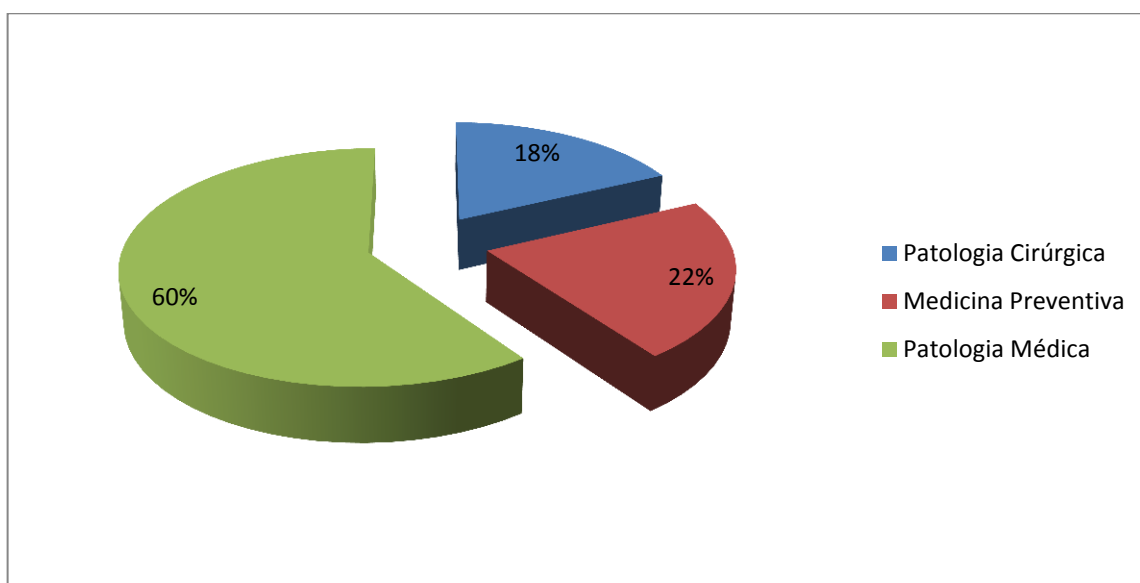
(1) Watson, et al. Plasma Exogenous Creatinine Clearance Test in Dogs: Comparison with Other Methods and Proposed Limited Sampling Strategy. *J Vet Intern Med* 2002;16:22-33
 (2) Guideline on validation of analytical procedures: methodology. CVMP/VICH/591/98-FINAL.
 (3) Cotadellas, et al. . Glomerular filtration rate in dogs with leishmaniasis and chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2008;293-300.

European Society of Veterinary Oncology
 Annual congress 2013
 30th May – 1st June 2013
 Lisbon, Portugal

Anexo 2: Estatística descritiva da casuística acompanhada durante o estágio curricular realizado no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária, no período de 1 de Março até 31 de Agosto de 2012

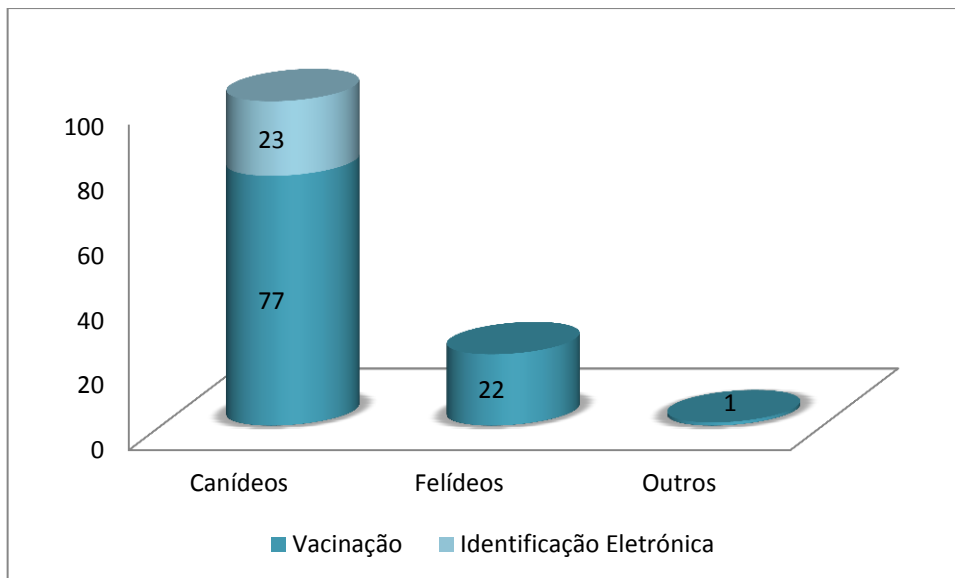
1 - Estatística descritiva referente à casuística nas diferentes áreas de Medicina Preventiva, Patologia Cirúrgica e Patologia Médica

Gráfico 5: Frequência relativa (%) dos casos clínicos acompanhados nas áreas de Medicina Preventiva, Patologia Médica e Patologia Cirúrgica



2 - Estatística descritiva referente à casuística na área de Medicina Preventiva

Gráfico 6: Frequência relativa (%) dos casos clínicos acompanhados nas áreas de Medicina Preventiva referente à vacinação e identificação eletrônica, por espécie.



3 - Estatística descritiva referente à casuística na área de Patologia Médica

Gráfico 7: Frequências relativas (%) das diferentes espécies animais na área da Patologia Médica.

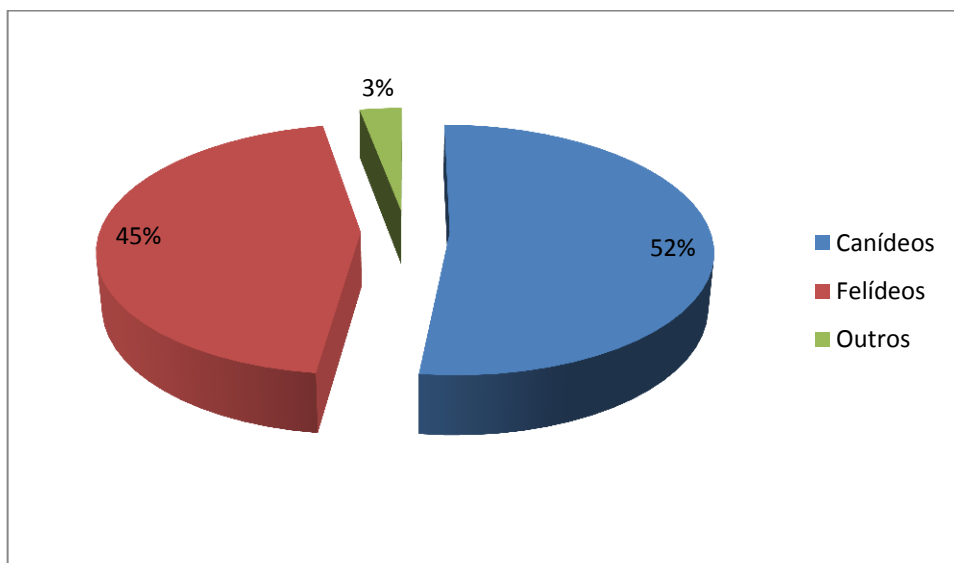


Gráfico 8: Frequências relativas (%) dos casos acompanhados nas diferentes áreas da Patologia.

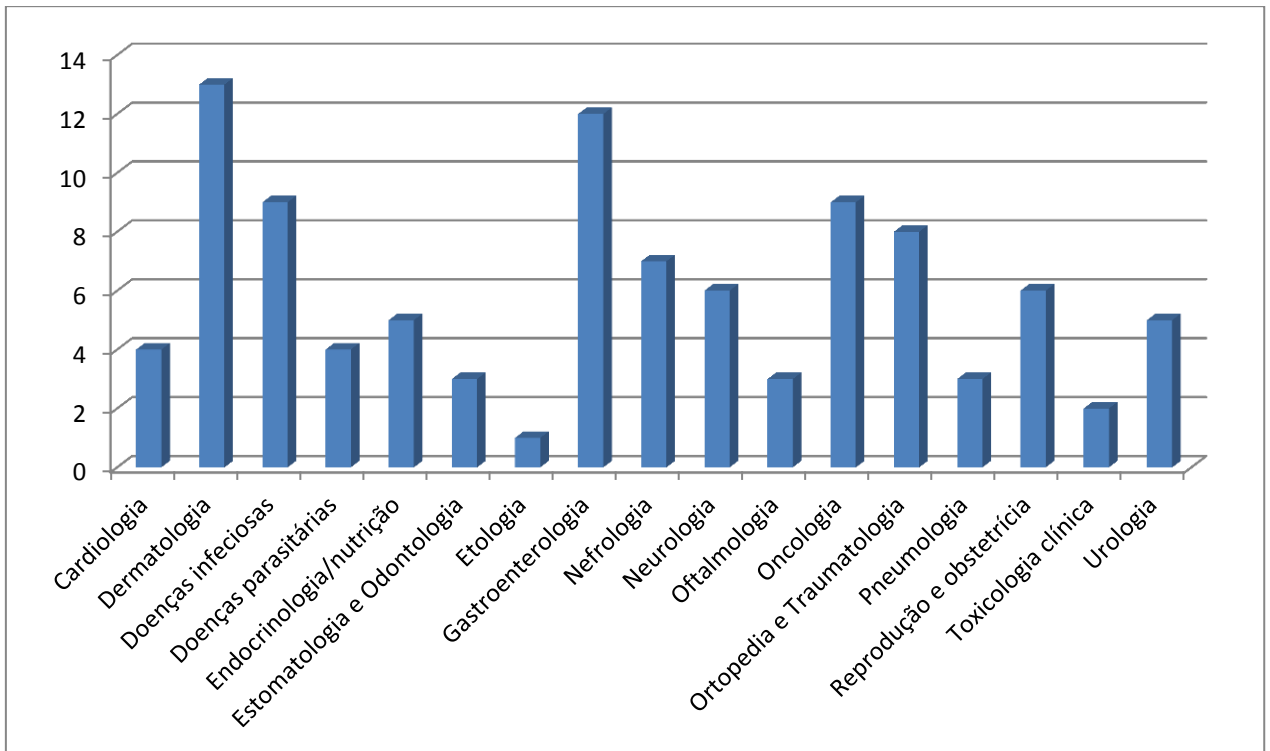
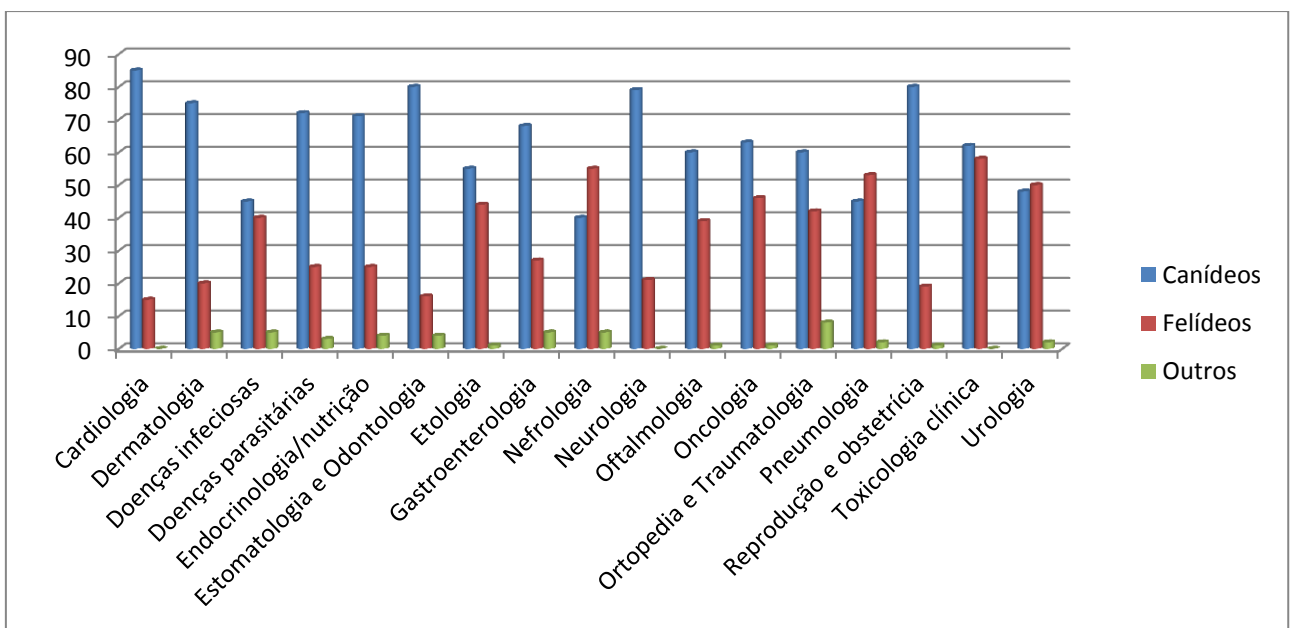


Gráfico 9: Frequências relativas (%) dos casos acompanhados nas diferentes áreas da Patologia Médica, por espécie



4 - Estatística descritiva referente à casuística na área da Medicina Laboratorial

Gráfico 10: Frequências relativas (%) das análises efetuadas no âmbito da Medicina Laboratorial.

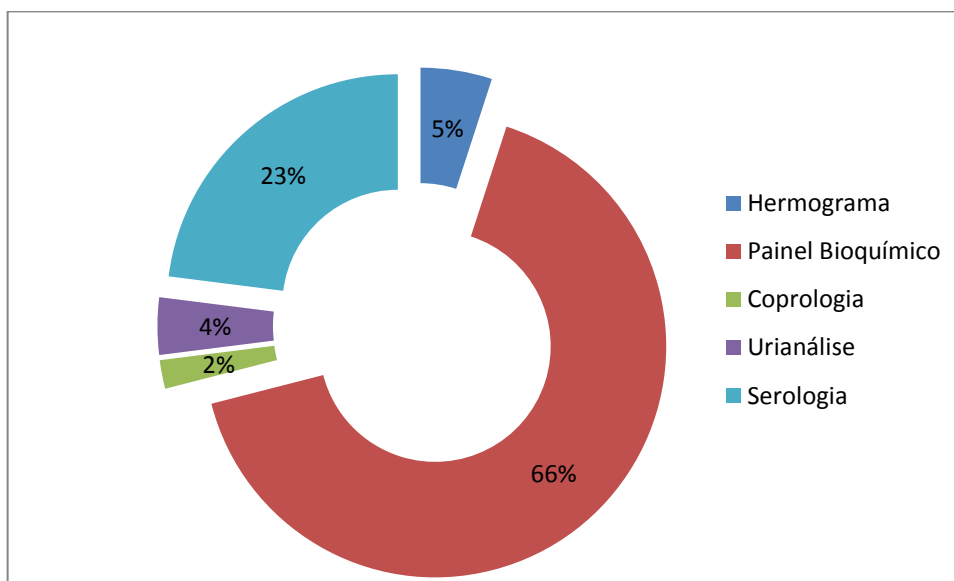


Gráfico 11: Frequências relativas (%) das análises efetuadas no âmbito da Medicina Laboratorial, por espécie.

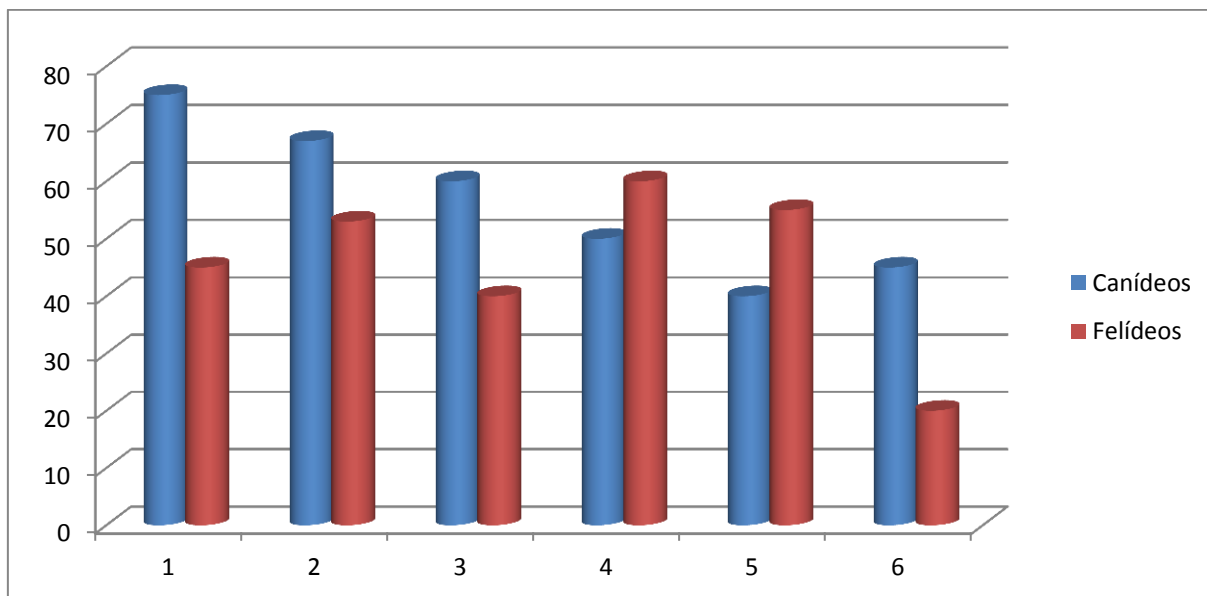


Tabela 16: Frequências relativas (%) referentes ao Painel Bioquímico Sanguíneo efetuado, por espécie

Parâmetro	FR (%)	Canídeos FR (%)	Felídeos (FR%)
AST (Aspartato aminotransferase)	11	68	32
ALT (Alanina aminotransferase)	14	72	28
FA (Fosfatase alcalina)	13	66	34
GGT (Gama glutamil transferase)	1.9	39	61
Glucose	13.8	65	35
Ureia	18	45	55
Creatinina	19	43	57
Potássio	7	65	35
Bilirrubina	0.8	70	30
Colesterol	0.6	100	0
Proteínas totais	0.9	86	14

Tabela 17: Frequências relativas (%) referentes aos exames serológicos efetuados, em canídeos e respectivos resultados.

	FR (%)	Positivo FR (%)	Negativo FR (%)
Dirofilariose	9	25	75
Leishmaniose	44	44	56
Parvovirose/ Coronavirose	20	40	60
Esgana	0	0	0
Hemoparasitas (<i>Babesia</i> , <i>Ehrlichia</i> , <i>Rickettsia</i>)	14	15	85
<i>Brucela</i>	0	0	100
A.N.A (Anticorpos anti-nucleares)	3	0	100

Tabela 18: Frequências relativas (%) referentes aos exames serológicos efetuados, em canídeos e respectivos resultados

	FR (%)	Positivo FR (%)	Negativos FR (%)
FIV (Imunodeficiência felina) / FeLV (Leucemia felina)	88	13	87
FeLV (Leucemia felina)	10	12	88
PIF (Peritonite infecciosa felina)	2	98	2

Tabela 19: Frequências relativas (%) referentes aos diversos tipos de urianálise efetuadas, por espécie

	Canídeo FR (%)	Felídeo FR (%)	Outros FR (%)
Urina tipo I	22	78	0
Urina tipo II	28	72	0
Urina tipo III	34	66	0

5 - Estatística descritiva referente à casuística na área da Imagiologia

Gráfico 12: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada na área de Imagiologia.

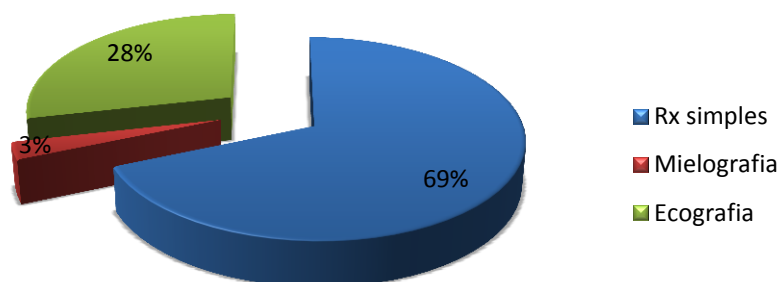


Gráfico 13: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada na área de Imagiologia, por espécie

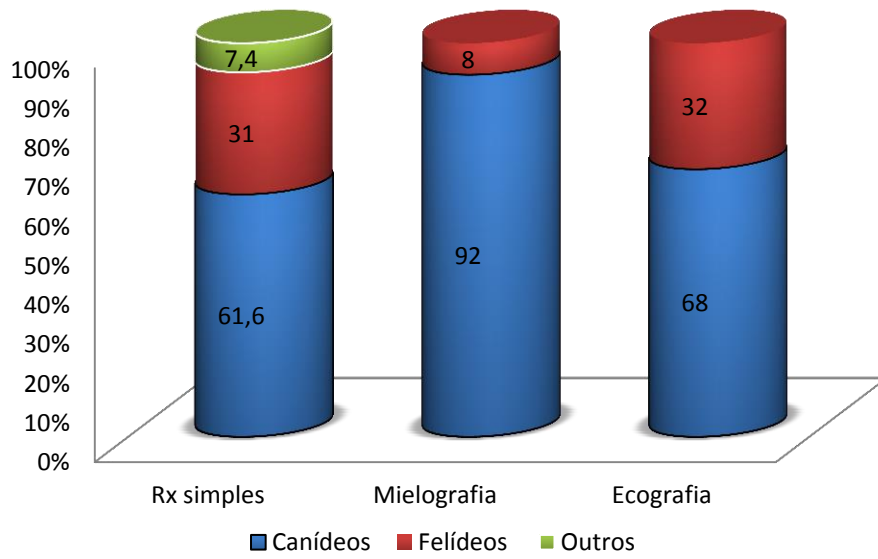


Gráfico 14: Frequências relativas (%) referentes aos exames de radiologia simples, por espécie

Região anatómica	Local	FR (%)	Canídeo FR (%)	Felídeo FR (%)	Outros FR (%)
Crânio		2	81	3	16
Coluna vertebral		8	86	14	0
Tórax		21	74	26	0
Abdômen		24	79	21	0
Membro torácico	Art. Escápulo-Umeral	2	100	0	0
	Membro anterior	7	75	25	0
	Art. Úmero-Rádio-Ulnar	4	100	0	0
	Pélvis	10	76	24	0
Cintura pélvica	Art. Coxo-Femural	7	77	23	0
	Art. Femuro-Tíbio-Patelar	4	84	16	0
Membro pélvico	Membro Posterior	6	62	38	0
	Art. Tíbio-Társica	3	59	41	0
Panorâmico		2		61	39

Tabela 20: Frequências relativas (%) referentes a outros exames realizados e/ou interpretados, por espécie

Exame	FR (%)	Canídeo FR (%)	Felídeo FR (%)
Eletrocardiograma	81	100	0
Teste de Fluoresceína	7	56	44
TAC (Tomografia axial computadorizada)	12	96	4

6 - Estatística descritiva referente à casuística na área da Patologia Cirúrgica

Gráfico 15: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada em Patologia Cirúrgica

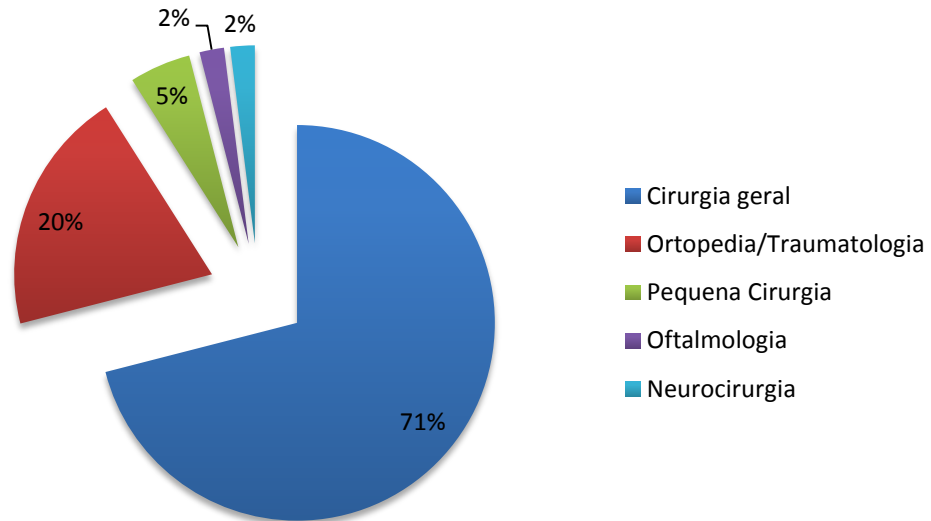


Gráfico 16: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada em Patologia Cirúrgica, por espécie

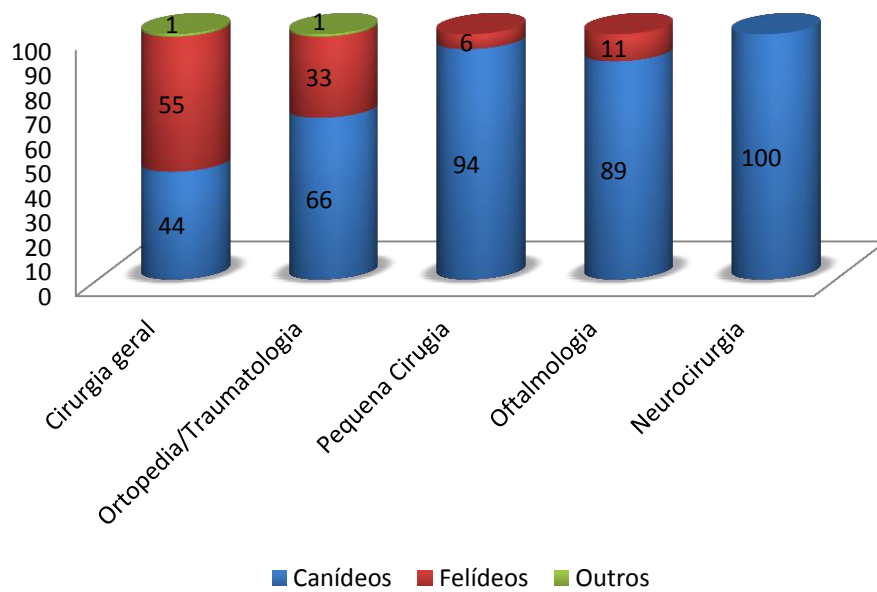


Tabela 21: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada no âmbito da Cirurgia Geral, por área e espécie

Área	FR (%)	Intervenção cirúrgica	FR (%)	Canídeos FR (%)	Felídeos FR (%)	Outros
Estomatologia/ Dentisteria	16,4	Destartarização	11	33	67	0
		Exodontia	5,4	16	84	0
Dermatologia	3,5	Mastocitoma cutânea	0,5	100	0	0
		Exérese Hemangiossarcoma	0,5	0	100	0
		Nódulo cutâneo	2,5	100	0	0
Sistema GI	2,5	Laparotomia exploratória	1	88	11	0
		Biópsia	0,5	100	0	0
		Enterotomia	1	100	0	0
Sistema muscular	0,9	Herniorrafia perineal	0,9	100	0	0
Teriogenologia	76,3	Cesariana	2	100	0	0
		Mastectomia	61,7	87	10	3
		Ovariohisterectomia	36,3	34	64	2
Outros	0,4	Esplenectomia	0,4			

Tabela 22: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada no âmbito da Ortopedia/Traumatologia, por área e espécie

Área	FR (%)	Intervenção cirúrgica	FR (%)	Canídeos FR (%)	Felídeos FR (%)	Outros	
Artrologia	23	Artroplastia com resseção da cabeça do fémur	17	68	32	0	
		Desmoplastia	Ligamento cruzado cranial	1,5	100	0	0
			Ligamento colateral lateral	1,5	100	0	0
			Trocleoplastia com sutura de imbricamento da cápsula (luxação patelar medial)	1,5	100	0	0
			Panartrodese Tibiotársica	1,5	100	0	0
			Osteologia	77	Amputação (caudectomia)	1,2	100
Osteossíntese	Rádio-Ulnar	6,5			100	0	0
	Íliaca	19,5			88	12	0
	Femural	36,8			37	58	0
	Tibial	10,4			66	34	0
	Remoção de placa e parafusos	2,6			85	15	0

Tabela 23: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada no âmbito da neurocirurgia, por espécie

Intervenção cirúrgica	FR (%)	Localização (Vértebras)	FR (%)	Canídeos FR (%)	Felídeos FR (%)	Outros
Hemilaminectomia lateral	100	T12-T13	50	100	0	0
		T13-L1	50	100	0	0

Tabela 24: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada no âmbito da Cirurgia Oftálmica

Intervenção cirúrgica	FR (%)	Canídeos FR (%)	Felídeos FR (%)	Outros
Blefaroplastia (correção do entropion)	25	100	0	0
Enucleação	37,5	50	50	0
Tarsorrafia	37,5	85	15	0

Tabela 25: Frequências relativas (%) referentes à casuística acompanhada no âmbito da Pequena Cirurgia

Intervenção cirúrgica	FR (%)	Canídeos FR (%)	Felídeos FR (%)	Outros
Exérese de nódulos cutâneos	50	67	33	0
Remoção de agulhas	50	0	100	0

7 - Estatística descritiva referente à casuística de Procedimentos Médicos

Tabela 26: Frequências relativas (%) referentes à casuística dos procedimentos médicos, por espécie

Procedimentos médicos	FR (%)	Canídeos	Felídeos	Outros
		FR (%)	FR (%)	
Abdominocentese	8	66	34	0
Algaliação	14	35	65	0
Colocação de dreno	7	84	6	0
Colocação de sonda de diálise pleural	1,4	0	100	0
Corte de bico (Ranfoplastia)	0,6	0	0	100
Colocação de sonda de diálise peritoneal	1,4	100	0	0
Diálise peritoneal	1,4	100	0	0
Enema	8,8	85	15	0
Lavagem vesical	10,3	40	60	0
Oxigenioterapia	13,5	44	56	0
Reanimação Cérebro-Cárdio-Respiratória	12,7	66	34	0
Redução de fratura fechada	1,1	0	0	100
Toracocentese	7,5	29	71	0
Transfusão sanguínea	12,3	100	0	0

Tabela 27: Frequências absolutas e relativas (%) referentes ao ato de Eutanásia, por espécie

	FA	Canídeos		Felídeos		Outros	
		FA (%)	FR (%)	FA (%)	FR (%)	FA (%)	FR (%)
Eutanásia	28	17	60	11	0,38	0	0

Tabela 28: Marcadores de lesão renal (adaptado de Polzin, 2010)

Marcadores sanguíneos
Concentração de ureia sérica elevada Concentração de creatinina sérica elevada Hiperfosfatemia Hipercalémia ou hipocalémia Acidose metabólica Hipoalbuminemia
Marcadores urinários
Capacidade de concentração urinária diminuída Proteinúria Cilindrúria Hematúria renal pH urinário inapropriado Concentração de glicose na urina inapropriada Cistinúria
Marcadores Imagiológicos - Alterações no rim
Tamanho Forma Localização Densidade Número

Tabela 29: Causas de Insuficiência renal crônica (Adaptado de Polzin, 2010)

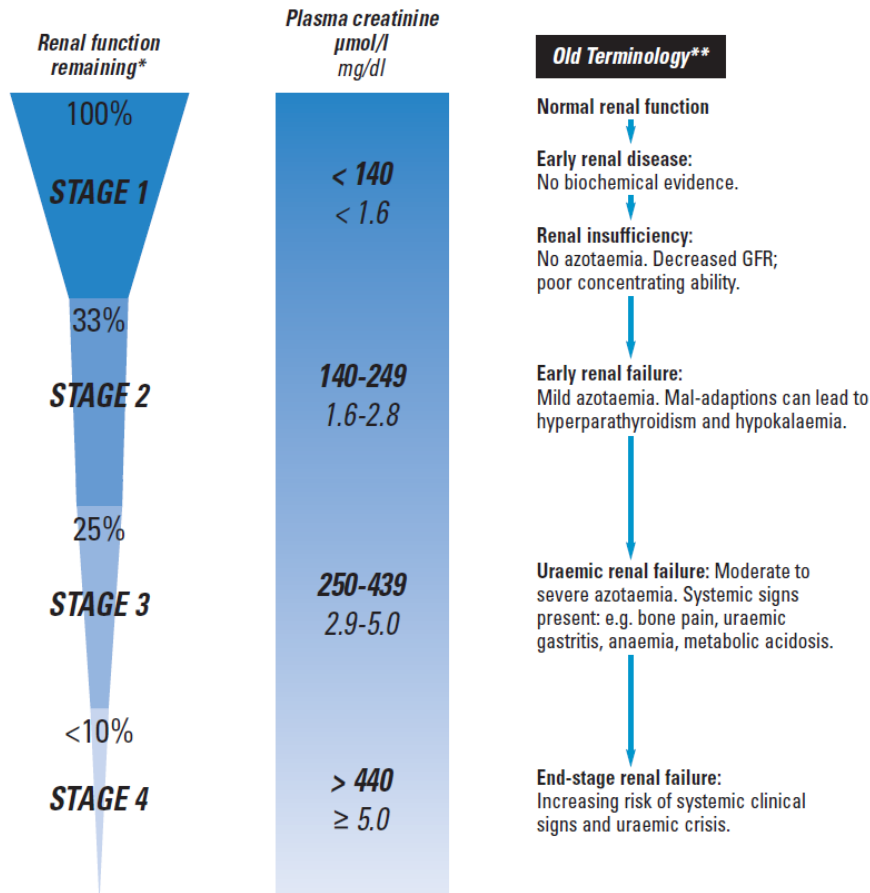
Causas familiares ou congénitas
Amiloidose nos shar pei e beagle
Cistadenocarcinoma do pastor alemão
Displasia renal no shi tzu, lhasa apso, golden retrievers, chow chows e outros
Glomerulopatia no english cocker spaniel, doberman pinscher, bull terriers, soft-coated wheaton terriers, samoyedos
Síndrome de Fanconi nos basenjis
Doença poliquística nos cairn terriers
Causas Adquiridas
Infeciosas
Bacteriana
Micótica – blastomicose
Leptospirose
Leishmaniose
Glomerulopatia por complexos-imunes
Amiloidose
Neoplasia
Linfossarcoma
Carcinoma das células renais
Nefroblastoma
Outros
Sequela de insuficiência renal aguda
Hidronefrose bilateral
Granulomas de castração
Carcinoma das células de transição
Nefrolitíase
Poliquístico
Hipercalcémia
Maligna
Hiperparatiroidismo primário
Idiopática

Figura 12: Sistema de estadiamento da DRC (IRIS)



Staging System for Chronic Kidney Disease (CKD)

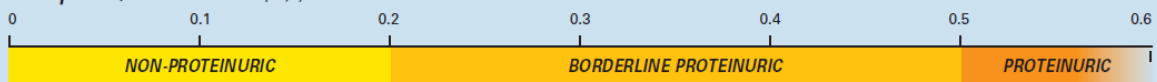
STEP 1. Staging is initially based on fasting plasma creatinine assessed on at least two occasions in the stable patient.



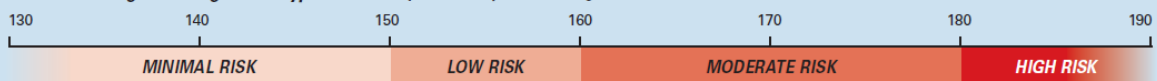
STEP 2. Cases are then sub-staged based on proteinuria and blood pressure.

Note that UP/C and blood pressure vary independently of each other and the stage of CKD, so that any level of proteinuria or hypertension can occur at any stage of CKD i.e. at any level of azotaemia.

Urine protein/creatinine ratio (UP/C)



Risk of end organ damage from hypertension (Systolic blood pressure mm Hg)



Adapted from the Manual of Canine & Feline Nephrology & Urology (Fig. 5.5) 2nd Edition edited by J. Elliott & G. Grauer (2006) with permission of the British Small Animal Veterinary Association.
*The relative percentages of residual function are conceptual estimates only. **This terminology has been used previously without precise definition and should be replaced by the numerical staging system.

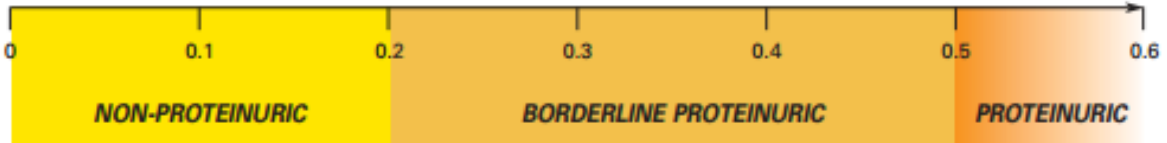
Supported by Novartis Animal Health Inc.

Based on IRIS 2006 staging of CKD.

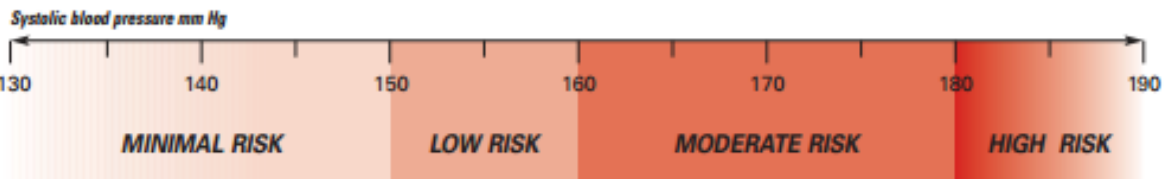
Figura 13: Substadiamento da DRC em cães (IRC)



Substaging CKD: urine protein to creatinine ratio (UP/C)



Substaging CKD: risk of end organ damage from hypertension



An adaptation of this staging system can be used for those breeds known to have higher blood pressure than average e.g. sight hounds



NB. Any level of proteinuria or hypertension can occur at any stage of CKD i.e. at any level of azotaemia.

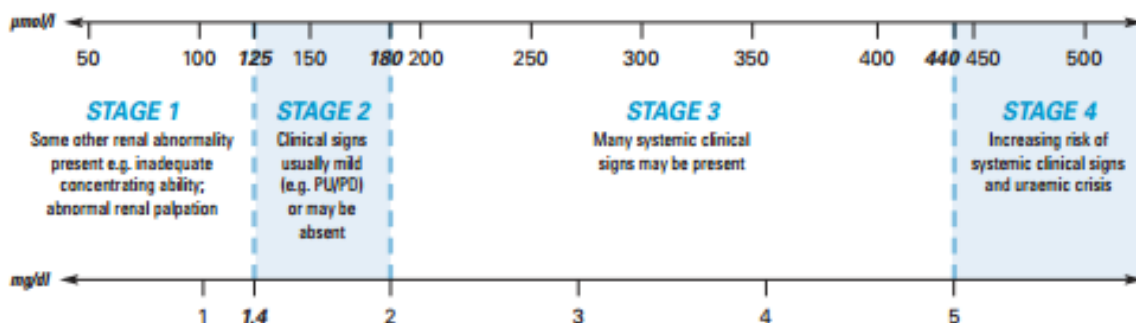


Staging System for Chronic Kidney Disease (CKD)

STEP 1. Staging is initially based on fasting plasma creatinine assessed on at least two occasions in the stable patient.

STEP 2. Cases are then sub-staged based on proteinuria and blood pressure.

Plasma creatinine concentration



Plasma creatinine concentrations apply to average size dogs – those of extreme size may vary.
Supported by Novartis Animal Health Inc.
Based on IRIS 2006 staging of CKD.

www.iris-kidney.com

IRIS 41

Tabela 30 - Agentes terapêuticos potencialmente nefrotóxicos (adaptado de Polzin, 2010)

Antibióticos	Antivirais	Antineoplásicos	Antifúngicos
Aminoglicosídeos	Aciclovir	Cisplatina	Anfotericina B
Penicilinas	Foscarnet	Carboplatina	Diuréticos
Nafcilina	Antiprotozoários	Metotrexato	Manitol
Cefalosporinas	Pentamidina	Doxorrubicina	Outros
Fluorquinolonas	Sulfadiazina	Adriamicina	Dextran 40
Carbapenems	Trimtoprim-sulfametoxazole	Azatioprina	Alopurinol
Rifampicina	Dapsona	Imunossupressores	Cimetidina
Tetraciclinas	Tiacetarsemida	Ciclosporina	Apomorfina
Vancomicina	Anti-inflamatórios não esteroides (Aines)	FK506	Deferoxamina
Aztreonam		Interleuquina (IL)-2	Streptoquinase
		Inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA)	Agentes de radiocontraste

Anexo 4: Nefrotoxicidade associados à quimioterapia

Tabela 31: Fatores de risco para o desenvolvimento de nefrotoxicidade associados à quimioterapia (Adaptado de Perazella & Moeckel, 2010)

Fatores inerentes ao paciente
Idade avançada
Síndrome nefrótica, cirrose, colangiohepatite
Doença renal aguda ou crônica
Depleção do volume sanguíneo circulante
Diminuição da TFG
Aumento da reabsorção tubular de toxinas
Diminuição do ritmo de fluxo de urina tubular distal
Alterações metabólicas
Hipocalcemia; hipomagnesemia; Hipocalcemia; hipercalcemia
pH de urina ácido ou alcalino
Genes de resposta imunitária
Aumento de reações alérgicas a fármacos
Farmacogenética a favor da toxicidade do fármaco/toxina
Mutação de genes do sistema enzimático citocromo P450 renal e hepático
Mutações de genes nos transportadores de proteína e transportadores renais
Metabolização e excreção renal dos fármacos
Elevado débito sanguíneo renal (e taxa de entrega do fármaco aos rins)
Ambiente renal relativamente hipóxico
Aumento da concentração de fármaco/toxina na medula renal e interstício
Biotransformação de substâncias de espécies reativas a oxigênio, causando estresse oxidativo
Captação de toxinas pelo túbulo proximal
Toxicidade inata dos fármacos
Exposição a doses elevadas do fármaco
Tratamento prolongado
Fármacos insolúveis ou metabolito sob forma de cristais dentro dos lumens intratubulares
Potente efeito nefrotóxico direto do fármaco ou toxina
Combinações de fármacos podem potencializar nefrotoxicidade
Aines, aminoglicosídeos e agentes de contraste

Tabela 32: Classes e subclasses dos fármacos antineoplásicos

Classe	Subclasse	Fármaco	Vias de excreção	Toxicidade	Referências
Agentes alquilantes	Mostardas de Azoto	Ciclofosfamida	Sistema urinário	Mielossupressão; irritação da bexiga (cistite hemorrágica estéril); teratogénica; embriogénica	(Chun et al., 2007; Dobson et al, 2008; Coppoc, 2009)
		Mecloretamina	Sistema urinário	Mielossupressão; substância vesicante para os tecidos ; toxicidade gastrointestinal (GI)	(Chun et al., 2007; Dobson et al, 2008)
		Clorambucilo	Sistema urinário e fezes	Toxicidade GI e cerebelar; mielossupressão;	(Dobson et al, 2008; Coppoc, 2009; Lana & Dobson, 2011)
	Nitrosoureas	Lomustina	Sistema urinário	Toxicidade GI, hepática e renal; mielossupressão	(Chun et al., 2007; Dobson et al, 2008; Coppoc, 2009; Lana & Dobson, 2011)
		Carmustina	Sistema urinário e respiratório	Mielossupressão; toxicidade GI	(LeBlanc et al, 2006; Lana & Dobson, 2011)
	Outros	Dacarbazina	Sistema urinário	Toxicidade GI; mielossupressão	(Gustafson & Page, 2012)
	Antibiótico antineoplásico	Antraciclina	Doxorrubicina	Bílis e sistema urinário	Hipersensibilidade; mielossupressão; toxicidade GI; cardiotoxicidade; substância vesicante para os tecidos
Mitoxantrona			Sistema urinário e fezes	Toxicidade GI; mielossupressão	(Chun et al., 2007; Gustafson & Page, 2012)
Actinomicina D			Bílis e sistema urinário	Toxicidade GI; mielossupressão; vesicante para os tecidos	(Dobson et al., 2008)
Antimetabolitos		Citarabina	Sistema urinário e fezes	Mielossupressão	(Chun et al., 2007; Lana & Dobson, 2011; Dobson et al, 2008;

Tabela 32: Classes e subclasses dos fármacos antineoplásicos (continuação)

Antimetabolitos		5-fluorouacil	Sistema urinário; Sistema respiratório	Toxicidade GI; mielossupressão; neurotoxicidade	(Chun et al., 2007)
		Gemcitabina	Sistema urinário	Toxicidade hematológica e GI	(Chun et al., 2007; Dobson et al, 2008)
		Metotrexato	Sistema urinário	Toxicidade GI; mielossupressão; alopecia; nefrotoxicidade; hepatotoxicidade	Coppoc, 2009; Lana & Dobson, 2011)
Anti-microtúbulos	Taxanos	Paclitaxel	Sistema urinário e fezes	Toxicidade GI, hipersensibilidade; mielossupressão	(Lana & Dobson, 2011)
	Alcaloides de Vinca	Vincristina	Fezes	Hepatotoxicidade; toxicidade GI; substância vesicante; alopecia; neuropatia periférica	(Lana & Dobson, 2011)
		Vimblastina	Bílis; sistema urinário		
	Outros	Dacarbazina	Sistema urinário	Toxicidade GI; mielossupressão	(Gustafson & Page, 2012)
Antibiótico antineoplásico	Antraciclinas	Doxorrubicina	Bílis e sistema urinário	Hipersensibilidade; mielossupressão; toxicidade GI; cardiotoxicidade; substância vesicante para os tecidos	(Dobson et al, 2008)
		Mitoxantrona	Sistema urinário e fezes	Toxicidade GI ligeira; mielossupressão; substância vesicante	(Chun et al., 2007; Dobson et al., 2008; Lana & Dobson, 2011)
Inibidores da topoisomerasas	Epipodofilotoxinas	Etoposide	Sistema urinário	Reação cutânea moderada a grave não responsiva a esteroides, anti-histamínicos ou infusão lenta; mielossupressão	(Dobson et al., 2008; Gustafson & Page, 2012)
Corticoesteróides		Prednisolona	Sistema urinário	Hiperadrenocorticismos iatrogénico; toxicidade GI; osteoporose; suscetibilidade a infecções	(Chun et al., 2007; Coppoc, 2009; Gustafson & Page, 2012)

Tabela 32: Classes e subclasses dos fármacos antineoplásicos (continuação)

Outros	Compostos platinados	Cisplatina	Sistema urinário	Emetogénico; nefrotoxicidade ; mielossupressão; ototoxicidade; reações do tipo anafilático; neurotoxicidade	(Chun et al., 2007; Coppoc, 2009; Lana & Dobson, 2011)
		Carboplatina	Sistema urinário	Nefrotoxicidade ligeira; mielossupressão	Chun et al., 2007; Dobson et al., 2008; Lana & Dobson, 2011
		Hidroxiureia	Metabolismo hepático e excreção urinária	Toxicidade GI; mielossupressão; onicólise; fibrose pulmonar	(Coppoc, 2009; Gustafson & Page, 2012)
		L-asparaginase	Fezes e urina	Hipersensibilidade; pancreatite; mielossupressão; alterações da coagulação	Duval et al., 2002; Chun et al., 2007; Gustafson & Page, 2012)

Anexo 5: Parâmetros da avaliação da função renal da amostra de cães estudada

Tabela 33: Valores da TFG e do T1/2Cr das diferentes colheitas e as semanas em que estas foram feitas, de todos os animais incluindo a média e DP global das três variáveis

Neoplasia	Cães	Colheita	Semanas	Fármacos	TFG (ml/min/Kg)	T1/2 da creatinina
Mastocitoma	1	2 ^o	2	V	4,38	126
	1	3 ^o	5	V	4,64	152
	1	4 ^o	7	V	5,99	109
	1	5 ^o	11	V	2,87	95
	2	1 ^o	0	(V)*	3,22	172
Mastocitoma	2	2 ^o	2	V	5,62	117
	2	3 ^o	5	V	3,33	153
	2	4 ^o	7	V	5,59	82
	2	5 ^o	11	V	3,26	90
	3	1 ^o	0	(V)*	2,73	90
Mastocitoma	3	2 ^o	2	V+Masi	6,93	88
	3	3 ^o	5	V+Masi	7,07	115
	3	4 ^o	7	V+Masi	4,22	95
	3	5 ^o	11	V+Masi	6,36	101
	4	1 ^o	0	(Vinc)*	4,98	120
Linfoma Multicêntrico	4	2 ^o	2	Cicl	3,46	132
	4	3 ^o	5	D	6,73	124
	4	4 ^o	7	Cicl	5,08	169
	4	5 ^o	10	D	6,88	94
	4	6 ^o	12	Cicl	6,13	99
Melanoma Maligno	5	1 ^o	0	(C)*	5,49	109
	5	2 ^o	3	C	3,88	117
	5	3 ^o	6	D	3,44	133
	5	4 ^o	9	C	5,61	121
	5	5 ^o	12	D	3,55	112
Carcinoma Mamário	6	1 ^o	0	(M)*	5,5	109
	6	2 ^o	3	M	3,88	117
		Média			4,845185185	116,3333333
		DV			1,370172281	23,77458242

Legenda: V – vimblastina; V+Masi – vimblastina e masitinib; D – doxorrubicina; Vinc – vincristina; Cicl – ciclofosfamida; C – Carboplatina; M – mitoxantrona.

* A avaliação da TFG foi realizada antes da administração do fármaco antineoplásico que se encontra entre parênteses