

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 03/02/2018.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**LIPOCALINA ASSOCIADA À GELATINASE DE  
NEUTRÓFILOS COMO BIOMARCADOR DE LESÃO  
TUBULAR ATIVA EM CÃES COM DOENÇA RENAL  
CRÔNICA NATURALMENTE ADQUIRIDA**

**Marcelo Augusto Moraes Koury Alves**  
Médico Veterinário

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**LIPOCALINA ASSOCIADA À GELATINASE DE  
NEUTRÓFILOS COMO BIOMARCADOR DE LESÃO  
TUBULAR ATIVA EM CÃES COM DOENÇA RENAL  
CRÔNICA NATURALMENTE ADQUIRIDA**

**Marcelo Augusto Moraes Koury Alves**

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marileda Bonafim Carvalho**

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias – Unesp, *Campus* de  
Jaboticabal, como parte das exigências para  
a obtenção do título de doutor em Medicina  
Veterinária, área de Clínica Médica  
Veterinária.**

**2017**

A474l Alves, Marcelo Augusto Moraes Koury  
Lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos como biomarcador de lesão tubular ativa em cães com doença renal crônica naturalmente adquirida / Marcelo Augusto Moraes Koury Alves. – – Jaboticabal, 2017  
xix,68 p.; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017

Orientadora: Marileda Bonafim Carvalho

Banca examinadora: Alceu Afonso Jordão Júnior, Márcia Mery Kogika, Mirela Tinucci Costa, Thiago Demarchi Munhoz

Bibliografia

1. Lipocalina. 2. Gelatinase. 3. Neutrófilos. 4. Cão. 5. Função renal.  
I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

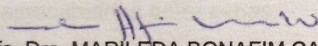
CDU 619:612.466:636.7

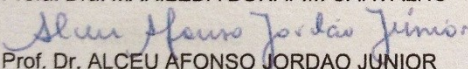
Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

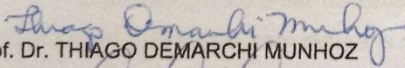
e-mail: marcelo\_koury\_vet@hotmail.com

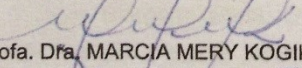
**ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE MARCELO AUGUSTO MORAES KOURY ALVES, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS - CÂMPUS DE JABOTICABAL.**

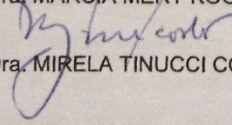
Aos 03 dias do mês de fevereiro do ano de 2017, às 08:00 horas, no(a) Anfiteatro do Hospital Veterinário, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Profa. Dra. MARILEDA BONAFIM CARVALHO - Orientador(a) do(a) Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal, Prof. Dr. ALCEU AFONSO JORDAO JUNIOR do(a) Departamento de Clínica Médica / USP - Ribeirão Preto, SP, Prof. Dr. THIAGO DEMARCHI MUNHOZ do(a) Departamento de Clínica Veterinária / Centro Universitário Barão de Mauá - Ribeirão Preto, SP, Profa. Dra. MÁRCIA MERY KOGIKA do(a) Departamento de Clínica Veterinária / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / USP - São Paulo, SP, Profa. Dra. MIRELA TINUCCI COSTA do(a) Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da TESE DE DOUTORADO de MARCELO AUGUSTO MORAES KOURY ALVES, intitulada **LIPOCALINA ASSOCIADA À GELATINASE DE NEUTRÓFILOS COMO BIOMARCADOR DE LESÃO TUBULAR ATIVA EM CÃES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA NATURALMENTE ADQUIRIDA**. Após a exposição, o discente foi arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: Aprovado. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

  
Profa. Dra. MARILEDA BONAFIM CARVALHO

  
Prof. Dr. ALCEU AFONSO JORDAO JUNIOR

  
Prof. Dr. THIAGO DEMARCHI MUNHOZ

  
Profa. Dra. MÁRCIA MERY KOGIKA

  
Profa. Dra. MIRELA TINUCCI COSTA

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**MARCELO AUGUSTO MORAES KOURY ALVES** – nascido em Belém-PA, no dia cinco de outubro do ano de 1983, filho de José Antonio Koury Alves e Isis Moraes Koury Alves. Em abril de 2008, graduou-se em Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) em Belém-PA. Nos anos de 2009 e 2010 participou do programa de Residência em Clínica Médica de Pequenos Animais, oferecido pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), da Universidade Estadual Paulista (Unesp), *campus* de Jaboticabal, no período de 1 de fevereiro de 2009 a 31 de janeiro de 2011, perfazendo 3.520 horas de atividades, sob orientação da Profa. Dra. Marileda Bonafim Carvalho. Em fevereiro de 2013, obteve o título de Mestre na área de Clínica Médica, do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, *campus* de Jaboticabal-SP. Em março de 2013, ingressou no Curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária – área de Clínica Médica, da mesma Instituição de Ensino Superior. Atualmente é integrante do Grupo de Pesquisa em Nefrologia e Urologia Veterinária – GPNUV da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, *campus* de Jaboticabal-SP, docente do Curso de Pós-graduação *lato sensu* de Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais do Instituto Qualittas.

“Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu  
É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu  
É sobre ser abrigo e também ter morada em outros corações  
E assim ter amigos contigo em todas as situações”

**(Ana Vilella, Trem-Bala)**

Dedico esta Tese a todos os pacientes que a tornaram possível, sou eternamente grato.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e Meishusama por tudo que passei e passo. Aprendi que nada é por acaso.

Aos meus pais José Antônio Koury Alves e Isis Moraes Koury Alves, e ao meu irmão José Antônio Koury Alves Jr, o amor de vocês me traz paz e confiança. Não há como mensurar o quanto os amo.

Aos amigos, atual família-irmãos (Amanda; Bruno; Débora; Fabio; Fernando; Franco; Gabriel; Gustavo; Guilherme; Pedro; Mauricio; Rafael; Sabrina; Thiago; Thais) e a uma amiga-mãe (Sandrinha), obrigado por toda paciência, cuidado e zelo. Tenho gratidão por tudo que fizeram e fazem por mim.

À minha orientadora Marileda Bonafim Carvalho, obrigado por todos os oito anos de apoio, cuidado e paciência, sou muito grato pela chance de crescer não só em minha vida profissional, como pessoal. Levarei e propagarei seus ensinamentos para que outros possam ajudar o maior número de animais.

Ao professor Alceu Afonso Jordão Júnior, responsável pelo Laboratório de Nutrição e Metabolismo, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de SP, pela disponibilidade em realizar uma das partes mais importantes do meu experimento.

Aos professores Bruno Watanabe Minto, Mirela Tinucci Costa e Thiago Demarchi Munhoz, pela colaboração com suas sugestões apresentadas por ocasião do Exame de Qualificação, que foram muito relevantes para a forma que aqui se apresenta.

Ao técnico Matheus do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp – *campus* de Jaboticabal-SP e à técnica Paula Payão Ovídio do Laboratório de Nutrição e Metabolismo, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de SP. O apoio e conhecimento de vocês, sem dúvida, foram imprescindíveis ao desenvolvimento do projeto.

Por último e não menos importante, aos animais e seus proprietários, que possibilitaram o desenvolver deste estudo. Não tenho como mensurar minha gratidão a vocês.

## **AGRADECIMENTOS ÀS INSTITUIÇÕES**

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias e ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de Bolsa de estudo, que viabilizou parte das atividades acadêmicas e o desenvolvimento do Projeto de Pesquisa.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiv
LISTA DE TABELAS.....	xv
LISTA DE FIGURAS.....	xviii
1.INTRODUÇÃO.....	1
Objetivos.....	3
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1.Laboratórios.....	13
3.2.Pacientes.....	13
3.2.1. Elegibilidade dos pacientes (critérios para inclusão).....	13
3.2.2. Critérios de exclusão.....	14
3.3.Avaliação preliminar e constituição dos grupos.....	14
3.4.Protocolo experimental.....	15
3.5 Metodologia das avaliações.....	16
3.5.1.Considerações gerais sobre a obtenção e preparo das amostras.....	16
3.5.2.Análises laboratoriais.....	16
3.5.2.1.Hemograma.....	16
3.5.2.2.Análises bioquímicas séricas e urinárias.....	17
3.5.2.3.Avaliação da proteinúria.....	17
3.5.2.4.Excreção Fracionada de Sódio (EFNa).....	17
3.5.2.5.Ensaio para dosagem da NGAL.....	18
3.5.2.5.1.Ajuste do uNGAL de acordo com a concentração urinária.....	18
3.6.Análise estatística dos resultados.....	18
4.RESULTADOS.....	20
5.DISSCUSSÃO.....	45
6.REFERÊNCIAS.....	57

## LIPOCALINA ASSOCIADA À GELATINASE DE NEUTRÓFILOS COMO BIOMARCADOR DE LESÃO TUBULAR ATIVA EM CÃES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA NATURALMENTE ADQUIRIDA

**RESUMO** – A doença renal crônica (DRC) apresenta caráter progressivo e irreversível e muitos dos fatores envolvidos na sua progressão, comprometem primariamente os túbulos renais. Com finalidade de detectar precocemente as lesões tubulares, novos biomarcadores têm sido pesquisados. Dentre estes, destaca-se a Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (NGAL). Este estudo teve por objetivo avaliar a excreção urinária de NGAL com o propósito de identificar a ocorrência de lesão tubular ativa (LTA) em cães com DRC naturalmente adquirida. Foram estudados 87 cães adultos, sem distinção de gênero ou de raça (15 sadios, 18 em risco de desenvolver DRC e 54 com DRC nos estádios 1, 2, 3 e 4 – *IRIS staging of CKD - 2015*), atendidos no Hospital Veterinário - Unesp – *campus* de Jaboticabal. Foram avaliados biomarcadores tradicionais e as concentrações de NGAL urinária (uNGAL) e sérica (sNGAL). Os resultados de uNGAL foram ajustados pelos respectivos fatores de concentração urinária (uNGAL.FCU). Os resultados foram inicialmente analisados considerando os seis grupos e posteriormente para comparação entre os 15 sadios, os 41 DRC e os 13 DRC com uNGAL.FCU sugestivo de LTA (LTA<sub>DRC</sub>). Os resultados indicaram que a uNGAL ajustada (uNGAL.FCU), pode servir como indicador de agravamento das lesões renais precocemente em relação à concentração sérica de creatinina, que é o mais utilizado dentre os biomarcadores tradicionais. Quanto à sNGAL, houve aumento gradativo relacionado à progressão da DRC em oposição à uNGAL.FCU, que diminuiu. Assim, a sNGAL parece ser mais relevante como um indicador do agravamento das complicações extrarrenais associadas à uremia crônica grave. Pacientes com uNGAL.FCU muito aumentada (grupo LTA<sub>DRC</sub>), em comparação aos DRC (uNGAL.FCU com variação não significativa), se destacam pela maior ocorrência de proteinúria intensa e de hipertensão, sem aumentos relevantes de outros indicadores ou biomarcadores de DRC. Estes achados reforçam a importância da proteinúria e da hipertensão no agravamento das lesões renais, sem descartar outras causas de LTA na DRC.

**Palavras chave:** NGAL urinária, NGAL sérica, doença renal, nefropatia crônica, cão.

## NEUTROPHIL GELATINASE-ASSOCIATED LIPOCALIN AS A BIOMARKER OF TUBULAR ACTIVE INJURY IN DOGS WITH NATURALLY ACQUIRED CHRONIC KIDNEY DISEASE

**ABSTRACT** – Chronic kidney disease (CKD) is a progressive and irreversible condition, and many of the factors involved in its progression, primarily compromise the renal tubules. To detect tubular injury, new early biomarkers have been investigated. Among them, Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin (NGAL) stands out. The aim of this study was to evaluate the urinary excretion of NGAL, to identify the occurrence of active tubular injury (ATI) in dogs with naturally acquired CKD. A total of 87 adult dogs, regardless of gender or breed (15 healthy, 18 at risk of developing CKD and 54 with CKD stages 1, 2, 3 or 4 – IRIS staging of CKD - 2015), were studied at the Veterinary Hospital - Unesp - Jaboticabal campus. Traditional biomarkers and NGAL concentrations in urine (uNGAL) and serum (sNGAL) were evaluated. The results of uNGAL were adjusted by the respective urinary concentration factors (uNGAL.UCF). The results were initially analyzed considering the six groups, and later for comparison between the 15 healthy, 41 DRC and 13 DRC with uNGAL.UCF suggestive of ATI (ATI<sub>CKD</sub>). The results indicated that adjusted uNGAL (uNGAL.UCF) may serve as an indicator of aggravation of renal damage early in relation to serum creatinine concentration, which is the most used among the traditional biomarkers. Regarding sNGAL, there was a gradual increase related to the progression of CKD, in opposition to uNGAL.UCF, which decreased. Thus, sNGAL appears to be more relevant as an indicator of the extrarenal complications associated with severe chronic uremia. Patients with increased uNGAL.UCF (ATI<sub>CKD</sub> group), compared to CKD group (non-significant changes in uNGAL.UCF), are notable for the higher occurrence of severe proteinuria and hypertension, without significant increases in other indicators or biomarkers of CKD. These findings reinforce the importance of proteinuria and hypertension in aggravating renal lesions, without ruling out other causes of ATI on CKD.

**Keywords:** urinary NGAL, serum NGAL, kidney disease, chronic nephropathy, dog.

## LISTA DE ABREVIATURAS

AINEs	- Anti-inflamatórios não esteroidais
CEUA	- Comissão de ética no uso de animais
DRC	- Doença renal crônica
Epo	- Eritropoietina
EFNa	- Excreção fracionada de sódio
ET-1	- Endotelina-1
GGT	- Gama glutamil transpeptidase
GPNUV	- Grupo de pesquisa em nefrologia e urologia veterinária
IL-1 $\beta$	- Interleucina1- $\beta$
IL-1 $\alpha$	- Interleucina1- $\alpha$
IL-8	- Interleucina 8
IL-10	- Interleucina-10
IRA	- Insuficiência renal aguda
IRIS	- International renal interest society
IECAs	- Inibidores da enzima conversora de angiotensina
KIM-1	- Kidney injury molecule-1
LDL	- Lipoproteínas de baixa densidade
LRA	- Lesão renal aguda
LTA	Lesão tubular ativa
MCP-1	- Proteína quimioatrativa de monócitos-1
NAG	- N-acetil $\beta$ glicosaminidase
NF-kB	- Fator nuclear kappa b
NGAL	- Lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos
PAS	- Pressão arterial sistólica
PDGFRB	- Receptor beta do fator de crescimento derivado das plaquetas
pNGAL	- N-acetil $\beta$ glicosaminidase plasmática
RANTES	- Regulada sob ativação, expressa e secretada por células t normais
sCr	- Creatinina sérica
sK	- Potássio sérico
sNa	- Sódio sérico
sNGAL	- N-acetil $\beta$ glicosaminidase sérica
sP	- Fosfato sérico
sUr	- Ureia sérica
TFG	- Taxa de filtração glomerular
TGF- $\beta$	- Fator de necrose tumoral- $\beta$
TNF- $\alpha$	- Fator de necrose tumoral- $\alpha$
TPC	- Túbulo contornado proximal
uCr	- Creatinina urinária
uNa	- Sódio urinário
uNGAL	- Lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos urinária
UP/C	- Razão proteína/creatinina urinária
uPt	- Proteína urinária

## LISTA DE TABELAS

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1.</b> Sumário da composição dos grupos de cães sadios (Sadio), sob risco de desenvolver DRC (Risco) ou com doença renal crônica (DRC) nos diferentes estádios ( <i>IRIS staging of CKD - 2015</i> ).	<b>15</b>
<b>Tabela 2.</b> Características físicas dos 87 cães avaliados, distribuídos em seis grupos – sadios (S), risco de doença renal crônica (Risco) e doença renal crônica nos quatro estádios (DRC 1, DRC 2, DRC 3 e DRC 4 – <i>IRIS staging of CKD - 2015</i> ).	<b>21</b>
<b>Tabela 3.</b> Dados das análises (estatística descritiva) da massa corporal e idade de 87 cães, distribuídos nos grupos: sadio (S), risco de doença renal crônica (Risco) e doença renal crônica nos quatro estádios (DRC 1, DRC 2, DRC 3 e DRC 4 – <i>IRIS staging of CKD - 2015</i> ).	<b>22</b>
<b>Tabela 4.</b> Dados referentes às análises das concentrações séricas de creatinina (sCr) e de ureia (sUreia) de 87 cães, distribuídos nos grupos: sadio (S), risco de doença renal crônica (Risco) e doença renal crônica nos quatro estádios (DRC 1, DRC 2, DRC 3 e DRC 4 – <i>IRIS staging of CKD - 2015</i> ).	<b>24</b>
<b>Tabela 5.</b> Dados referentes às análises das concentrações séricas de fosfato (sP) e da razão proteína/creatinina urinária (UP/C) de 87 cães distribuídos nos grupos: sadio (S), risco de doença renal crônica (Risco) e doença renal crônica nos quatro estádios (DRC 1, DRC 2, DRC 3 e DRC 4 – <i>IRIS staging of CKD - 2015</i> ).	<b>25</b>
<b>Tabela 6.</b> Dados referentes às análises da densidade urinária (DU) e excreção fracionada de sódio (EFNa) de 87 cães distribuídos nos grupos: sadio (S), risco de doença renal crônica (Risco) e doença renal crônica nos quatro estádios (DRC 1, DRC 2, DRC 3 e DRC 4 – <i>IRIS staging of CKD - 2015</i> ).	<b>27</b>
<b>Tabela 7.</b> Dados referentes às análises das concentrações de NGAL* urinário (uNGAL) e NGAL urinário ajustado pelos respectivos fatores de concentração urinária (uNGAL.FCU), de 87 cães distribuídos nos grupos: sadio (S), risco de doença renal crônica (Risco) e doença renal crônica nos quatro estádios ((DRC 1, DRC 2, DRC 3 e DRC 4 – <i>IRIS staging of CKD - 2015</i> ).	<b>28</b>
<b>Tabela 8.</b> Dados referentes às análises das concentrações séricas de proteína total (sPt) e albumina (sAlb), de 87 cães, distribuídos nos grupos: sadio (S), risco de doença renal crônica (Risco) e doença renal crônica nos quatro estádios (DRC 1, DRC 2, DRC 3 e DRC 4 – <i>IRIS staging of CKD - 2015</i> ).	<b>30</b>



<b>Tabela 9.</b>	Dados referentes às análises da pressão arterial sistólica (PAS) e da concentração sérica de NGAL* (sNGAL) de 87 cães, distribuídos nos grupos: sadio (S), risco de doença renal crônica (Risco) e doença renal crônica nos quatro estádios (DRC 1, DRC 2, DRC 3 e DRC 4 – <i>IRIS staging of CKD</i> - 2015).	<b>31</b>
<b>Tabela 10.</b>	Dados referentes às análises do número de hemácias (He) e do valor de hematócrito (Ht), de 87 cães, distribuídos nos grupos: sadio (S), risco de doença renal crônica (Risco) e doença renal crônica nos quatro estádios (DRC 1, DRC 2, DRC 3 e DRC 4 – <i>IRIS staging of CKD</i> - 2015).	<b>33</b>
<b>Tabela 11.</b>	Dados referentes às análises dos números de leucócitos (Le) e de neutrófilos segmentados (Ns), de 87 cães distribuídos nos grupos: sadio (S), risco de doença renal crônica (Risco) e doença renal crônica nos quatro estádios (DRC 1, DRC 2, DRC 3 e DRC 4 – <i>IRIS staging of CKD</i> - 2015).	<b>34</b>
<b>Tabela 12.</b>	Dados referentes às análises das concentrações de NGAL* urinário (uNGAL) ajustadas pelos respectivos fatores de concentração urinária (uNGAL.FCU), e do NGAL sérico (sNGAL), de 69 cães, referentes aos grupos: sadio (S), doença renal crônica (DRC) e lesão tubular ativa sobreposta à DRC (LTA <sub>DRC</sub> ).	<b>39</b>
<b>Tabela 13.</b>	Dados referentes às análises das concentrações séricas de creatinina (sCr) e de ureia (sUreia), de 69 cães, referentes aos grupos: sadio (S), doença renal crônica (DRC) e lesão tubular ativa sobreposta à DRC (LT <sub>ADRC</sub> ).	<b>39</b>
<b>Tabela 14.</b>	Dados referentes às análises de densidade urinária (DU) e excreção fracionadas de sódio (EFNa), de 69 cães, referentes aos grupos: sadio (S), doença renal crônica (DRC) e lesão tubular ativa sobreposta à DRC (LTA <sub>DRC</sub> ).	<b>40</b>
<b>Tabela 15.</b>	Dados referentes às análises dos valores de pressão arterial sistólica (PAS) e das razões proteína/creatinina urinária (UP/C), de 69 cães, referentes aos grupos: sadio (S), doença renal crônica (DRC) e lesão tubular ativa sobreposta à DRC (LTA <sub>DRC</sub> ).	<b>40</b>
<b>Tabela 16.</b>	Dados referentes às análises das concentrações urinárias de NGAL e concentração sérica de fosfato (sP), de 69 cães, referentes aos grupos: sadio (S), doença renal crônica (DRC) e lesão tubular ativa sobreposta à DRC (LTA <sub>DRC</sub> ).	<b>42</b>
<b>Tabela 17.</b>	Dados referentes às análises das concentrações séricas de proteína total (sPt) e albumina (sAlb), de 69 cães, referentes aos grupos: sadio (S), doença renal crônica (DRC) e lesão tubular ativa sobreposta à DRC (LTA <sub>DRC</sub> ).	<b>42</b>

- Tabela 18.** Dados referentes às análises dos números de hemácias (He) e do hematócrito (Ht), de 69 cães, referentes aos grupos: sadio (S), doença renal crônica (DRC) e lesão tubular ativa sobreposta à DRC (LTA<sub>DRC</sub>). **43**
- Tabela 19.** Dados referentes às análises dos números de leucócitos (Le) e neutrófilos segmentados (Ns), de 69 cães, referentes aos grupos: sadio (S), doença renal crônica (DRC) e lesão tubular ativa sobreposta à DRC (LTA<sub>DRC</sub>). **43**

## LISTA DE FIGURAS

		<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b>	Representação gráfica dos resultados das análises (Kruskal-Wallis com teste de comparação múltipla de Dunn e distribuição dos dados em quartis, com mediana, máximo e mínimo) dos parâmetros idade e massa corporal de 87 cães sadios (Sadio), com doença renal crônica (DRC*) ou em risco de desenvolver DRC (Risco): 15 sadios; 18 em Risco, 6 com DRC1, 11 com DRC2, 26 com DRC3 e 11 com DRC4. * <i>IRIS staging of CKD</i> , 2015.	<b>23</b>
<b>Figura 2.</b>	Representação gráfica dos resultados das análises (Kruskal-Wallis com teste de comparação múltipla de Dunn e distribuição dos dados em quartis, com mediana, máximo e mínimo) de parâmetros relativos às funções glomerulares de cães sadios (Sadio), com doença renal crônica (DRC*) ou em risco de desenvolver DRC (Risco): 15 sadios; 18 em Risco, 6 com DRC1, 11 com DRC2, 26 com DRC3 e 11 com DRC4. A. Concentração sérica de creatinina (sCr mg/dL). B. Concentração sérica de ureia (sUreia mg/dL). C. Concentração sérica de fosfato (sFosfato mg/dL). D. Razão proteína/creatinina urinária (UP/C). * <i>IRIS staging of CKD</i> , 2015.	<b>26</b>
<b>Figura 3.</b>	Representação gráfica dos resultados das análises (Kruskal-Wallis com teste de comparação múltipla de Dunn e distribuição dos dados em quartis, com mediana, máximo e mínimo) de parâmetros relativos às funções túbulo-intersticiais de cães sadios (Sadio), com doença renal crônica (DRC*) ou em risco de desenvolver DRC (Risco): 15 sadios; 18 em Risco, 6 com DRC1, 11 com DRC2, 26 com DRC3 e 11 com DRC4. A. Densidade urinária. B. Excreção fracionada de sódio (EFNa). C. Concentração urinária de NGAL** (uNGAL). D. Concentração urinária de NGAL ajustado pelo fator de concentração urinária (uNGAL.FCU). * <i>IRIS staging of CKD</i> , 2015. ** Lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos.	<b>29</b>
<b>Figura 4.</b>	Representação gráfica dos resultados das análises (Kruskal-Wallis com teste de comparação múltipla de Dunn e distribuição dos dados em quartis, com mediana, máximo e mínimo) de parâmetros relativos a aspectos sistêmicos implicados na doença renal crônica (DRC*) de cães sadios (Sadio), com DRC ou em risco de desenvolver DRC (Risco): 15 sadios; 18 em Risco, 6 com DRC1, 11 com DRC2, 26 com DRC3 e 11 com DRC4. A. Concentração sérica de proteínas totais (sPt). B. Concentrações séricas de albumina (sAlb). C. Pressão arterial sistólica (PAS). D. Concentração sérica de NGAL** (sNGAL). * * <i>IRIS staging of CKD</i> , 2015. ** Lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos.	<b>32</b>

- Figura 5.** Representação gráfica dos resultados das análises (Kruskal-Wallis com teste de comparação múltipla de Dunn e distribuição dos dados em quartis, com mediana, máximo e mínimo) de parâmetros hematológicos implicados na doença renal crônica (DRC\*) de cães saudáveis (Sadio), com DRC ou em risco de desenvolver DRC (Risco): 15 saudáveis; 18 em Risco, 6 com DRC1, 11 com DRC2, 26 com DRC3 e 11 com DRC4. A. Concentração de hemácias. B. Hematócrito. C. Concentração total de leucócitos. D. Concentração de neutrófilos segmentados. \* *IRIS staging of CKD*, 2015. **35**
- Figura 6.** Representação gráfica da distribuição dos resultados de concentração sérica de creatinina, dispostos em ordem crescente dentro de cada grupo (sCr - linha com pontos laranja), e pareados com os respectivos valores de excreção urinária de NGAL\* ajustado pelo fator de concentração urinária (uNGAL.FCU - pontos verdes e triângulos), de cães saudáveis (Sadio), em risco de desenvolver DRC\*\* (Risco) ou com DRC. Os valores de uNGAL.FCU >20.000 pg/mL estão destacados por triângulos (roxo para pacientes em risco e vermelho para os com DRC). \* Lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos. \*\* DRC 1, 2, 3 e 4 - *IRIS staging of CKD*, 2015. **38**
- Figura 7.** Representação gráfica dos resultados das análises (Kruskal-Wallis com teste de comparação múltipla de Dunn e distribuição dos dados em quartis, com mediana, máximo e mínimo) de parâmetros, direta ou indiretamente, implicados na doença renal crônica (DRC) de cães saudáveis ou com DRC: 15 saudáveis (S), 41 com DRC e outros 13 com DRC e sinal de lesão tubular ativa (LTA<sub>DRC</sub>) presumida em função da intensidade da excreção urinária de NGAL\* (uNGAL.FCU >20000 pg/mL). A. Concentrações de NGAL urinária e sérica (uNGAL.FCU e sNGAL, respetivamente). B. Concentrações séricas de creatinina (sCr) e ureia (sUreia). C. Densidade urinária (DU) e excreção fracionada de sódio (EFNa). D. Razão proteína/creatinina urinária (UP/C) e pressão arterial sistólica (PAS). \* Lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos. **41**
- Figura 8.** Representação gráfica dos resultados das análises (Kruskal-Wallis com teste de comparação múltipla de Dunn e distribuição dos dados em quartis, com mediana, máximo e mínimo) de parâmetros, direta ou indiretamente, implicados na doença renal crônica (DRC) de cães saudáveis ou com DRC: 15 saudáveis (S), 41 com DRC e outros 13 com DRC e sinal de lesão tubular ativa (LTA<sub>DRC</sub>) presumida em função da intensidade da excreção urinária de NGAL\* (uNGAL.FCU >20000 pg/mL). A. Concentrações de NGAL urinária (uNGAL) e de fosfato sérico (sP). B. Concentrações séricas de proteína total (sPt) e albumina (sAlb). C. Número de hemácias e valor de hematócrito. D. Números de leucócito e neutrófilo segmentado. \* Lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos. **44**

## 1. INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) é a afecção renal mais diagnosticada em cães e gatos, principalmente os de idade mais avançada (GRAUER, 2005; POLZIN, 2011a). O termo DRC descreve alterações heterogêneas que afetam a estrutura e funcionalidade dos rins. A expressão da condição é variável dependendo do tipo e da gravidade da doença de base que originou o processo, assim como, da taxa de progressão (LEVEY et al., 2003, LEVEY et al., 2005).

Pelo menos inicialmente, a redução da função renal é uma consequência da doença primária do paciente (POLZIN, 2011a). Entretanto, se um número significativo de lesões já tiver ocorrido, a DRC pode se tornar autoperpetuante (LEES, 2004), ou seja, a progressão das lesões não dependerá da causa inicial (BRENNER; MEYER; HOSTETTER, 1982; HOSTETTER et al., 2001). Como descrito por Polzin (2011b), este processo pode ser denominado “progressão espontânea da DRC”.

A perda progressiva da função renal dos pacientes com DRC pode resultar de diminuição linear ou da alternância de períodos de estabilidade e quedas íngremes, até que a doença evolua para fase terminal (LEES, 2004; POLZIN, 2011a).

Muitos fatores podem estar envolvidos na progressão da DRC. Dentre eles destacam-se a doença renal aguda sobre a crônica e as lesões secundárias à proteinúria glomerular. Em ambos os casos, as lesões comprometem primariamente os túbulos renais (LIEBERTHAL; LEVINSKY, 1992; POLZIN; OSBORNE, 1995; COWGILL; FRANCEY, 2005; GRAUER, 2007; CARVALHO, 2015).

Com finalidade de detectar precocemente as lesões tubulares, a busca por biomarcadores tem sido objetivo de muitas pesquisas. Diversos novos biomarcadores para diagnóstico de lesão renal aguda (LRA) estão sendo avaliados em humanos (PRICE, 2002; BONOMINI et al., 2010; GARG et al., 2015) e em cães (SEGEV et al., 2013; STEINBACH et al., 2014; ZHOU et al., 2014; PRESSLER, 2015; NENTWIG et al., 2016). Embora a aplicabilidade dos marcadores de lesão tubular tenha sido voltada, inicialmente, para o diagnóstico precoce de LRA, a possibilidade de diagnosticar lesão tubular ativa (LTA) na DRC também vem sendo estudada em humanos (BONOMINI et al., 2010; SHRESTHA et al., 2012) e em cães (NABITY et al., 2012; AHN; HYUN, 2013; SEGEV et al., 2013; STEINBACH et al.,

2014; CARVALHO; ALVES; VASCONCELLOS, 2016; HOKAMP et al., 2016; NENTWIG et al., 2016).

Os primeiros biomarcadores descritos foram KIM-1 (*Kidney Injury Molecule-1*), NGAL (*Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin*), L-FABP (*Liver-type Fatty Acid Binding Protein*) e IL-18 (Interleucina-18) (BONOMINI et al., 2010; DEVARAJAN, 2011; DEDE et al., 2015). Citam-se, ainda, IL-1  $\beta$  (Interleucina1-  $\beta$ ), IL-1  $\alpha$  (Interleucina1-  $\alpha$ ), IL-8 (Interleucina 8), IL-10 (Interleucina-10), TNF-  $\alpha$  (Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$ ), TGF-  $\beta$  (Fator de Necrose Tumoral-  $\beta$ ), (NENTWIG et al., 2016), NAG (N-acetil  $\beta$  Glicosaminidase), microglobulinas  $\alpha_1$  e  $\beta_2$ , GGT (Gama Glutamil Transpeptidase), Vanina-1, bem como fatores inflamatórios excretados na urina, tais como IgG urinária, Proteína C e Tromboxano B<sub>2</sub> (DEVARAJAN, 2011; DEDE et al., 2015). Dentre todos, a Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (NGAL) tem sido reconhecida como biomarcador precoce útil, acurado, sensível e promissor para o diagnóstico da LRA em humanos e cães em fase inicial da doença e também na LTA descrita na DRC (SHEMIN; DWORKIN, 2011; LEE et al., 2012; NABITY et al., 2012; AHN; HYUN, 2013; DAURE et al., 2013; SEGEV et al., 2013; HSU et al., 2014a; STEINBACH et al., 2014; WATANABE et al., 2014; ROCHA et al., 2015; CARVALHO; ALVES; VASCONCELLOS, 2016; PALM et al., 2016).

Ainda assim, os estudos para avaliar o papel dos novos biomarcadores na DRC são escassos. Embora já existam pesquisas assertivas, muitas outras serão necessárias tanto na medicina quanto na medicina veterinária. Os estudos que envolvem o biomarcador de lesão tubular, NGAL, vem sendo considerados como um dos mais específicos e promissores na medicina. Na nefrologia veterinária, os primeiros resultados, divulgados na literatura científica – incluindo apresentação de resultados preliminares do presente estudos (CARVALHO; ALVES; VASCONCELLOS, 2016) – indicam a mesma performance para avaliação de cães com LRA ou com LTA na DRC. Entretanto, apesar dos estudos já realizados, ainda não há valores de referência para o biomarcador. Assim, justifica-se o presente estudo.

Nosso grupo de pesquisa coordenado pela professora Marileda Bonafim Carvalho vem, durante anos, desenvolvendo diversas pesquisas em nefrologia veterinária com enfoque na DRC na espécie canina. Voltados para o foco de

explorar áreas atuais do conhecimento, e obter novas informações úteis na medicina veterinária, atualmente, estamos alinhados à avaliação do biomarcador precoce de lesão tubular, NGAL, em pacientes com DRC em suas diversas fases de evolução.

Por fim, temos por hipótese, que o biomarcador de lesão tubular, NGAL, possa de forma antecipada, em relação aos biomarcadores tradicionais, detectar períodos de LTA que cursam com piora do quadro clínico de pacientes com DRC em suas diversas fases.

### **Conclusões**

A uNGAL ajustada (uNGAL.FCU), pode servir como indicador de agravamento das lesões renais precocemente em relação à concentração sérica de creatinina, que é o mais utilizado dentre os biomarcadores tradicionais;

A sNGAL aumenta gradativamente na DRC em oposição à uNGAL.FCU, que tende a diminuir, e, portanto, pode ser um indicador do agravamento das complicações extrarrenais associadas à uremia crônica grave;

Pacientes com uNGAL.FCU muito aumentada (grupo LTA<sub>DRC</sub>), em comparação aos DRC (uNGAL.FCU com variação não significativa), se destacam pela maior ocorrência de proteinúria intensa e de hipertensão, sem aumentos relevantes de outros indicadores ou biomarcadores de DRC. Estes achados reforçam a importância da proteinúria e da hipertensão no agravamento das lesões renais, sem descartar outras causas de LTA na DRC.



Outrossim, é possível que a disponibilização da dosagem de uNGAL para aplicação clínica venha a viabilizar novas abordagens terapêuticas e maior precisão prognóstica.

## 6. REFERÊNCIAS

ABBATE, M.; ZOJA, C.; REMUZZI, G. How does proteinuria cause progressive renal damage? **Journal of American Society of Nephrology**, Baltimore, v. 17, n. 11, p. 2974-2984, 2006.

AHN, H. J.; HYUN, C. Evaluation of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) activity in dogs with chronic kidney disease. **The Veterinary Records**, London, v. 173, n. 18. p. 452-456, 2013.

ASADA, N.; TAKASE, M.; NAKAMURA, J.; OGUCHI, A.; ASADA, M.; SUZUKI, N.; YAMAMURA, K.; NAGOSHI, N.; SHIBATA, S.; RAO, T. N.; FEHLING, H. J.; FUKATSU, A.; MINEGISHI, N.; KITA, T.; KIMURA, T.; OKANO, H.; YAMAMOTO, M.; YANAGITA, M. Dysfunction of fibroblasts of extrarenal origin underlies renal fibrosis and renal anemia in mice. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 121, n. 10. p. 3981-3990, 2011.

ATKINSONS, A.; COLBURN, W.; DE GRUTTOLA, V.; DEMETS, D.; DOWNING, G.; HOTH, D. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. **Clinical pharmacology and therapeutics**, v. 69, n. 3, p. 89-95, 2001.

BARTGES, J. W.; WILLIS, A. M.; POLZIN, D. J.; Hypertension and renal disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 26, n. 6, p. 1331-1345, 1996.

BLOCK, G. A.; HULBERT-SHEARON, T. E.; LEVIN, N. W.; & PORT, F. K. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. **American Journal of Kidney Diseases**, Philadelphia, v. 31, n. 4, p. 607-617, 1998.

BOLIGNANO, D.; DONATO, V.; COPPOLINO, G.; CAMPO, S.; BUEMI, A.; LACQUANITI, A.; BUEMI, M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage. **American Journal of Kidney Diseases**, Washington, v. 52, n. 3, p. 595-605, 2009.

BONOMINI, F.; FOGLIO, E.; RODELLA, L. F.; REZZANI, R. Clinical biomarkers in kidney diseases. **Frontiers in Bioscience**, New York, v. 2, p. 591-615, 2010.

BONVENTRE, J. V.; YANG, L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 121, n. 11, p. 4210-4221, 2011.

BOYD, L. M.; LANGSTON, C.; THOMPSON, K.; ZIVIN, K.; IMANISHI, M. Survival in cats with naturally occurring chronic kidney disease (2000–2002). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 22, n. 5, p. 1111-1117, 2008.

BRENNER, B. M.; MEYER, T. W.; HOSTETTER, T. H. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 307, n. 11. p. 652-659, 1982.

BRENNER, B. M. Remission of renal disease: recounting the challenge, acquiring the goal. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 110, n. 12, p. 1753-1758, 2002.

BROWN, S. A. Management of acute renal failure. In: ELLIOTT, J.; GRAUER, G. F. **BSAVA Manual of canine and feline nephrology and urology**. 2. ed. Gloucester: British small animal veterinary association, 2007. cap. 17, p. 223-230.

BURANAKARL, C.; ANKANAPORN, K.; THAMMACHAROEN, S.; TRISIROJ, M.; MALEERATMONGKOL, T.; THONGCHAI, P.; PANASJAROEN, S. Relationships between degree of azotaemia and blood pressure, urinary protein: creatinine ratio and fractional excretion of electrolytes in dogs with renal azotaemia. **Veterinary research communications**. Dordrecht, v. 31, n. 3, p. 245-257, 2007.

BURTON, C.; HARRIS, K. P. G. The role of proteinuria in the progression of chronic renal failure. **American journal of kidney diseases**. Philadelphia, v. 27, n. 6, p. 765-775, 1996.

CARVALHO, M. B. Semiologia do sistema urinário. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia veterinária – A arte do diagnóstico**. 3. ed. São Paulo: Rocca, 2014. cap. 10, p. 351-366.

CARVALHO, M. B. Insuficiência renal aguda. In: JERICÓ, M. M.; ANDRADE NETO, J. P.; KOGIKA, M. M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: Roca, 2015. cap.158, p.1364-1393.

CARVALHO, M. B.; ALVES, M. A. M. K.; VASCONCELLOS, A L. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin urinary concentration in healthy and ill dogs – New proposal for the interpretation. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 30, n. 4, p. 1520-1551, 2016.

CORTADELLAS, O. R.; FERNANDEZ DEL PALACIO, M. J.; TALAVERA, J.; BAYÓN, A. Calcium and phosphorus homeostasis in dogs with spontaneous chronic kidney disease at different stages of severity. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 24, n. 1, p. 73-79, 2010.

COWGILL, L. D.; FRANCEY, T. Acute uremia. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Veterinary internal medicine**. 6. ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2005. cap. 258, p. 1731-1751.

COWLAND, J. B.; BORREGAARD, N. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. **Genomics**, San Diego, v. 45, n. 1, p. 17-23, 1997.

D'AMICO, G.; BAZZI, C. Pathophysiology of proteinuria. **Kidney International**, New York, v. 63, n. 3, p. 809-825, 2003.

DAURE, E.; BELANGER, M. C.; BEAUCHAMP, G.; LAPOINTE C. Elevation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in non-azotemic dogs with urinary tract infection. **Research in Veterinary Science**, London, v. 95, n. 3, p. 1181-1185, 2013.

DEDE, O.; DAGGULI, M.; UTANGAÇ, M.; YUKSEL, H.; BODAKCI, M. N.; HATIOĞLU, N. K.; SANCAKTUTAR, A. A.; PENBEGUL, N. Urinary expression of acute kidney injury biomarkers in patients after RIRS: it is a prospective, controlled study. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, Madison, v. 8, n. 5, p. 8147-8152, 2015.

DEVARAJAN, P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. **Current Opinion in Pediatrics**, Philadelphia, v. 23, n. 2, p.194-200, 2011.

DOI, K.; URATA, M.; KATAGIRI, D.; INAMORI, M.; MURATA, S.; HISAGI, M.; ONO, M.; MATSUBARA, T.; ISHII, T.; YAHAGI, N.; NANGAKU, M.; NOIRI, E. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in acute kidney injury superimposed on chronic kidney disease after cardiac surgery: a multicenter prospective study. **Critical Care**, London, v. 17, n. 6, p. 1-12, 2013.

DUFFIELD, J. S. Cellular and molecular mechanisms in kidney fibrosis. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 124, n. 6, p. 2299-2306, 2014.

EDDY, A. A.; NEILSON, E. G. Chronic kidney disease progression. *Journal of the American Society of Nephrology*, Washington, v. 17, n. 11, p. 2964 –2966, 2006

ENDO, T.; NAKAMURA, J.; SATO, Y.; ASADA, M.; YAMADA, R.; TAKASE, M.; TAKAORI, K.; OGUCHI, A.; IGUCHI, T.; HIGASHI, A. Y.; OHBAYASHI, T.; NAKAMURA, T.; MUSO, E.; KIMURA, T.; YANAGITA, M. Exploring the origin and limitations of kidney regeneration. **The Journal of Pathology**, London, v. 236, n. 2, p. 251-263, 2015.

FINCO, D. R.; BROWN, S. A.; CROWELL, W. A.; DUNCAN, R. J.; BARSANTI, J. A.; BENNETT, S. E. Effects of dietary phosphorus and protein in dogs with chronic renal failure. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 53, n. 12, p. 2264-2271, 1992.

FINCO, D. R.; BROWN, S. A.; VADEN, S. L.; FERGUSON, D. C. Relationship between plasma creatinine concentration and glomerular filtration rate in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, Oxford. v. 18, n. 6, p. 418-421, 1995.

FINCO, D. R.; BROWN, S. A.; BROWN, C. A.; CROWELL, W. A.; COOPER, T. A.; BARSANTI, J. A. Progression of chronic renal disease in the dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 13, n. 6, p. 516-528, 1999.

FLOWER, D. R. The lipocalin protein family: structure and function. **The Biochemical Journal**, London, v. 318, pt. 1, p. 1-14, 1996.

GARG, V.; KUMAR, M.; MAHAPATRA, H. S.; CHITKARA, A.; GADPAYLE, A. K.; SEKHAR, V. Novel urinary biomarkers in pre-diabetic nephropathy. **Clinical and Experimental Nephrology**, Tokyo, v. 19, n. 5, p. 895-900, 2015.

GOLDSTEIN, S. L. Urinary NGAL to define AKI in asphyxiated infants. **Pediatric Nephrology**, Berlin, v. 30, n. 7, p. 1047-1049, 2015.

GRAUER, G. F. Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 35, n. 3, p. 581-596, 2005.

GRAUER, G. F. Management of acute renal failure. In: ELLIOTT, J.; GRAUER, G. F. **BSAVA Manual of canine and feline nephrology and urology**. 2. ed. Gloucester: British small animal veterinary association, 2007. cap. 17, p. 215-222.

GrGIC, I.; CAMPANHOLLE, G.; BIJOL, V.; WANG, C.; SABBISSETTI, V. S.; ICHIMURA, T.; HUMPHREYS, B. D.; BONVENTRE, J. V. Targeted proximal tubule injury triggers interstitial fibrosis and glomerulosclerosis. **Kidney International**, New York, v. 82, n. 2, p. 172-183, 2012.

HALL, J. A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; ALMES, K.; JEWELL, D. E. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 30, n. 3, p. 794-802, 2016.

HARRIS, R. C.; NEILSON, G. E. Toward a unified theory of renal progression. **Annual Reviews of Medicine**, Palo Alto, v. 57, p. 365-380, 2006.

HELANOVA, K.; SPINAR, J.; PARENICA, J. Diagnostic and prognostic utility of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in patients with cardiovascular diseases-review. **Kidney & Blood Pressure Research**, Basel, v. 39, n. 6, p. 623-629, 2014.

HOKAMP, J. A.; CIANCIOLO, R. E.; BOGGESS, M.; LEES, G. E.; BENALI, S. L.; KOVARSKY, M.; NABITY, M. B. Correlation of urine and serum biomarkers with renal damage and survival in dogs with naturally occurring proteinuric chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 30, n. 2, p. 591-601, 2016.

HOSTETTER, T. H.; OLSON, J. L.; RENNKE, H. G.; VENKATACHALAM, M. A.; BRENNER, B. M. Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response

to renal ablation. **Journal of the American Society of nephrology**, Baltimore, v. 12, n. 6, p. 1315-1325, 2001.

HSU, W. L.; LIN, Y. S.; HU, Y. Y.; WONG, M. L.; LIN, F. Y.; LEE, Y. J. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in dogs with naturally occurring renal diseases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 28, n. 2, p. 437-442, 2014a.

HSU, W. L.; CHIOU, H. C.; TUNG, K. C.; BELOT, G.; VIRILLI, A.; WONG, M. L.; LIN, F. Y.; LEE, Y. J. The different molecular forms of urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin present in dogs with urinary diseases. **BMC Veterinary Research**, London, v. 10, p. 202-212, 2014b.

IRIS. International Renal Interest Society. **Staging Chronic Kidney Disease (CKD) 2015**. Disponível em: < <http://www.iris-kidney.com/pdf/staging-of-ckd.pdf>>. Acesso em 03 agos. 2016.

ISEKI, K.; IKEMIYA, Y.; ISEKI, C.; TAKISHITA, S. Proteinuria and the risk of developing end-stage renal disease. **Kidney International**, New York, v. 63, n. 4, p. 1468-1474, 2003.

ISHANI, A.; NELSON, D.; CLOTHIER, B.; SCHULT, T.; NUGENT, S.; GREER, N.; SLININ, Y.; ENSRUD, K. E. The magnitude of acute serum creatinine increase after cardiac surgery and the risk of chronic kidney disease, progression of kidney disease, and death. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, v. 171, n. 3, p. 226-233, 2011.

JACOB, F.; POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A.; NEATON, J. D.; KIRK, C. A.; ALLEN, T. A.; SWANSON, L. L. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 226, n. 3, p. 393-400, 2005.

KING, J. N.; TASKER, S.; GUNN-MOORE, D. A.; & STREHLAU, G.; Prognostic factors in cats with chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 21, n. 5, p. 906-916, 2007.

KJELDSEN, L.; JOHNSEN, A. H.; SENGELOV, H.; BORREGAARD, N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 268, n.14, p.10425-10432, 1993.

KRAMANN, R.; TANAKA, M.; HUMPHREYS, D. Fluorescence microangiography for quantitative assessment of peritubular capillary changes after AKI in mice. **Journal of the American Society of Nephrology**, Baltimore, v. 25, n. 9, p. 1924-1931, 2014.

KRAMANN, R.; SCHNEIDER, R. K.; DiROCCO, D. P.; MACHADO, F.; FLEIG, S.; BONDZIE, P. A.; HENDERSON, J. M.; EBERT, B. L.; HUMPREYS, D. Perivascular

Gli1<sup>+</sup>progenitors are key contributors to injury-induced organ fibrosis. **Cell Stem Cell**, Cambridge, v. 16, n. 1, p. 51-66, 2015.

KUSABA, T.; LALLI, M.; KRAMANN, R.; KOBAYASHI, A.; HUMPHREYS, B. D. Differentiated kidney epithelial cells repair injured proximal tubule. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 111, n. 4, p. 1527-1532, 2014.

KUWABARA, T.; MORI, K.; MUKOYAMA, M.; KASAHARA, M.; YOKOI, H.; SAITO, Y.; YOSHIOKA, T.; OGAWA, Y.; IMAMAKI, H.; KUSAKABE, T.; EBIHARA, K.; OMATA, M.; SATOH, N.; SUGAWARA, A.; BARASCH, J.; NAKAO, K. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons. **Kidney International**, New York, v. 75, n. 3, p. 285-294, 2009.

LEE, S.; HUEN, S.; NISHIO, H.; NISHIO, S.; LEE, H. K.; CHIO, B. S.; RUHRBERG, C.; CANTLEY, L. G. Distinct macrophage phenotypes contribute to kidney injury and repair. **Journal of the American Society of Nephrology**, Baltimore, v. 22, n. 2, p. 317-326, 2011.

LEE, Y. J.; HU, Y. Y.; LIN, Y. S.; CHANG, C. T.; LIN, F. Y.; WONG, M. L.; HSUAN, H. K.; HSU, W. L. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute canine kidney injury. **BMC Veterinary Research**, London, v. 8, p. 248-256, 2012.

LEES, G. E. Early diagnosis of renal disease and renal failure. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 34, n. 4, p. 867-885, 2004.

LEFEBVRE, H. P.; DOSSIN, O.; TRUMEL, C.; BRAUN, JP. Fractional excretion tests: a critical review of methods and applications in domestic animals. **Veterinary Clinical Pathology**, Madison, v. 37, n. 1, p. 4-20, 2008.

LEFEBVRE, H. P. Renal function testing. In: BARTGES, J.; POLZIN, D. J. **Nephrology and urology of small animals**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011. cap. 14, p. 91-96.

LEVEY, A. S.; CORESH, J.; BALK, E.; KAUSZ, A. T.; LEVIN, A.; STEFFES, M. W.; HOGG, R. J.; PERRONE, R. D.; LAU, J.; EKNOYAN, G. National kidney foundation. practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 139, n. 2, p. 137-47, 2003.

LEVEY, A. S.; ECKARDT, K. U.; TSUKAMOTO, Y.; LEVIN, A.; CORESH, J.; ROSSERT, J De ZEEUW, D.; HOSTETTER, T. H.; LAMEIRE, N.; EKNOYAN, G. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from kidney disease: improving global outcomes (KDIGO). **International Society of Nephrology**, New York, v. 67, n. 6, p. 2089-2100, 2005.

LIEBERTHAL, W.; LEVINSKY, N. G. Acute clinical renal failure. In: SELDIN, D. W.; GIEBISCH, G. **The kidney, physiology and pathophysiology**. 2. ed. New York: Raven Press, 1992. cap. 96, p. 3181-3225.

LIU, F.; YANG, H.; CHEN, H.; ZHANG, M.; MA, Q. High expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in the kidney proximal tubules of diabetic rats. **Advances in Medical Sciences**, Amsterdam, v. 60, n. 1, p. 133-138, 2015.

MARTÍNEZ, P. P.; CARVALHO, M. B. Participação da excreção renal de cálcio, fósforo, sódio e potássio na homeostase em cães saudáveis e cães com doença renal crônica. **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 30, n.10, p. 868-876, 2010.

McDOUGALL, D. F.; COOK, T.; STEWARD, A. P.; CATTELL, V. Canine chronic renal disease: prevalence and types of glomerulonephritis in the dog. **Kidney International**, New York, v. 29, n. 6, p. 1144-1151, 1986.

MCGROTTY, Y. Diagnosis and management of chronic kidney disease in dogs and cats. **Journal of the British Veterinary Association**, London, v. 30, n. 9, p. 502-507, 2008.

MELDRUM, K. K.; HILE, K.; MELDRUM, D. R.; CRONE, J. A.; GEARHART, J. P.; BURNETT, A. L. Simulated ischemia induces renal tubular cell apoptosis through a nuclear factor- $\kappa$ B dependent mechanism. **The Journal of Urology**, v. 168, n. 1, p. 248-252, 2002.

MENG, X. M.; PATERSON, D. J. N.; LAN, H. Y. Inflammatory processes in renal fibrosis. **Nature Reviews. Nephrology**, London, v. 10, n. 9, p. 493-503, 2014.

MEYER, T. W. Tubular injury in glomerular disease. **Kidney International**, New York, v. 63, n. 2, p. 774-787, 2003.

MISHRA, J.; MA, Q.; PRADA, A.; MITSNEFES, M.; ZAHEDI, K.; YANG, J.; BARASH, J.; DEVARAJAN, P. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. **Journal of the American Society of Nephrology**, Baltimore, v. 14, n. 10, p. 2534-2543, 2003.

MISHRA, J.; MORI, K.; MA, Q.; KELLY, C.; YANG, J.; MITSNEFES, M.; BARASCH, J.; DEVARAJAN, P. Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. **Journal of the American Society of Nephrology**, Baltimore, v. 15, n.12, p. 3073-3082, 2004.

MULLER-PEDDINGHAUS, R.; TRAUTWEIN, G. Spontaneous glomerulonephritis in dogs. I. classification and immunopathology. **Veterinary pathology**, Thousand Oaks, v. 14, n. 1, p. 1-13, 1977.



NABITY, M. B.; LEES, G. E.; CIANCIOLO, R.; BOGGESS, M. M.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI J. S. Urinary biomarkers of renal disease in dogs with x-linked hereditary nephropathy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 26, n. 2. p. 282-293, 2012.

NENTWIG, A.; SCHWEIGHAUSER, A.; MAISSEN-VILLIGER, C.; BRUCKMAIER, R. M.; ZURBRIGGEN, A.; VAN DORLAND, H. A.; FRANCEY, T. Assessment of the expression of biomarkers of uremic inflammation in dogs with renal disease. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 77, n. 2, p. 218-224, 2016.

OKUDA, S.; LANGUINO, L. R.; RUOSLAHTI, E.; BORDER, W. A. Elevated expression of transforming growth factor-beta and proteoglycan production in experimental glomerulonephritis. Possible role in expansion of the mesangial extracellular matrix. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 86, n. 2. p. 453-462, 1990.

OTTO, G. P.; GRUNWALD, B.; GEIS, C; KOTHE, S.; HURTADO-OLIVEROS, J.; CHUNG, H. Y.; EKANEY, M.; BOCKMEYER, C. L.; SOSSDORF, M.; BUSCH, M.; CLAUS, R. A. Impact of antibiotic treatment intensity on long-term sepsis-associated kidney injury in a polymicrobial peritoneal contamination and infection model. **Nephron**, New York, v. 129, n. 2, p.137-142, 2015.

PALM, C. A.; SEGEV, G.; COWGILL, L. D.; LeROY, B. E.; KOWALKOWSKY, K. L.; KANAKUBO, K.; WESTROPP, J. L. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker for identification of acute canine kidney injury and recovery in dogs with gentamicin-induced nephrotoxicity. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 30, n. 1, p. 200-205, 2016.

POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A. Pathophysiology of renal failure and uremia. In: OSBORNE, C. A.; FINCO, D. R. **Canine and feline nephrology and urology**. 2. ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1995. cap. 16, p. 335-367.

POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A.; ROSS, S. Chronic renal failure. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Text book of veterinary internal medicine**. 6. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2005. cap. 260, p. 1756-1785.

POLZIN, D. J. Chronic kidney disease. In: BARTGES, J.; POLZIN, D. J. **Nephrology and urology of small animals**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011a. cap. 48, p. 433-471.

POLZIN, D. J. Chronic kidney disease in small animals. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia. v 41, p. 15-30, 2011b.

PRESSLER, B. M. Clinical approach to advanced renal function testing in dogs and cats. **Clinics in Laboratory Medicine**, Philadelphia, v. 35, n. 3, p. 487-502, 2015.

PRICE, R. G. Early markers of nephrotoxicity. **Comparative Clinical Pathology**, London, v. 11, n. 1, p. 2-7, 2002.

ROCHA, P. N.; MACEDO, M. N.; KOBAYASHI, C. D.; MORENO, L.; GUIMARÃES, L. H.; MACHADO, P. R.; BADARÓ, R.; CARVALHO, E. M.; GLESBY, M. J. Role of urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the early diagnosis of amphotericin B-induced acute renal injury. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 59, n. 11, p. 6913-6921, 2015.

ROUSE, B. T.; LEWIS, R. J. Canine glomerulonephritis: prevalence in dogs submitted at random for euthanasia. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Québec, v. 39, n. 4, p. 365-370, 1975.

SEGEV, G.; PALM, C.; LeROY, B.; COWGILL, L. D.; WESTROPP, J. L. Evaluation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of kidney injury dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 27, n. 6, p. 1362-1367, 2013.

SCHMIDT-OTT, K. M.; MORI, K.; LI, J. Y.; KALANDADZE, A.; COHEN, D. J.; DEVARAJAN, P.; BARASCH, J. Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. **Journal of the American Society of Nephrology**, Baltimore, v. 18, n. 2, p. 407-413, 2007.

SHEMIN, D.; DWORKIN, L. D. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for early acute kidney injury. **Critical Care Clinics**, Philadelphia, v. 27, n. 2, p. 379-389, 2011.

SHRESTHA, K.; SHAO, Z.; SINGH, D.; DUPONT, M.; TANG, W. H. Relation of systemic and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels to different aspects of impaired renal function in patients with acute decompensated heart failure. **The American Journal of Cardiology**, New York, v. 110, n. 9, p.1329-1335, 2012.

SOUMA, T.; YAMAZAKI, S.; MORIGUCHI, T.; SUZUKI, N.; HIRANO, I.; PAN, X.; MINEGISHI, N.; ABE, M.; KIYOMOTO, H.; ITO, S.; YAMAMOTO, M. Plasticity of renal erythropoietin-producing cells governs fibrosis. **Journal of the American Society of Nephrology**, Baltimore, v. 24, n. 10, p. 1599-1616, 2013.

STEINBACH, S.; WEIS, J.; SCHWEIGHAUSER, A.; FRANCEY, T.; NEIGER, R. Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in dogs with acute kidney injury or chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 28, n. 2, p. 264-269, 2014.

SYME, H. M.; MARKWELL, P. J.; PFEIFFER, D.; ELLIOTT, J. Survival of cats with naturally occurring chronic renal failure is related to severity of proteinuria. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 20, n. 3, p. 528-535, 2006.

SYME, H.; ELLIOTT, J. Proteinuria and microalbuminuria. In: BARTGES, J.; POLZIN, D. J. **Nephrology and urology of small animals**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011. cap. 43, p. 410-414.

TAKAORI, K.; NAKAMURA, J.; YAMAMOTO, S.; NAKATA, H.; SATO, Y.; TAKASE, M.; NAMETA, M.; YAMAMOTO, T.; ECONOMIDES, A. N.; KOHNO, K.; HAGA, H.; SHARMA, K.; YANAGITA, M. Severity and frequency of proximal tubule injury determines renal prognosis. **Journal of the American Society of Nephrology**, Baltimore, v. 27, n. 8, p. 2393-2406, 2015.

TAKAORI, K.; YANAGITA, M. Insights into the mechanisms of the acute kidney injury-to-chronic kidney disease continuum. **Nephron**, Basel, v. 134, n. 3. P. 1-5, 2016.

TANAKA, S.; TANAKA, T.; NANGAKU, M. Hypoxia as a key player in the AKI-to-CKD transition. **American Journal of Physiology. Renal Physiology**, Bethesda, v. 307, n. 11, p. 1187-1195, 2014.

THAKAR, C. V.; CHRISTIANSON, A.; HIMMELFARB, J.; LEONARD, A. C. Acute kidney injury episode and chronic kidney disease risk in diabetes mellitus. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, Washington, v. 6, n. 11, p. 2567-2572, 2011.

VADEN, S. L. Glomerular disease. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Veterinary internal medicine*. 6. ed. St. Louis: Elsevier-Saunders, 2005. cap. 261, p. 1786-1800.

VADEN, S. L.; GRAUER, G. F. Glomerular disease. In: BARTGES, J.; POLZIN, D. J. **Nephrology and urology of small animals**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2011. cap. 53, p. 538-546.

VALLE, D. A. S. D.; MOHAN, S.; CHENG, J. T.; PARAGAS, N. A.; SISE, M. E.; AGATI, V. D. D.; BARASCH, J. Urinary NGAL is a useful clinical biomarker of HIV-associated nephropathy. **Nephrology, Dialysis, Transplantation**, Berlin, v. 26, n. 7, p. 2387-2390, 2011.

VIANNA, P. T. G. Marcadores biomoleculares da insuficiência renal. In: CAVALCANTE, I. L.; CANTINHO, F. A. F.; ASSAD, A. **Medicina perioperatória**. Rio de Janeiro: Sociedade de anestesiologia do estado do rio de janeiro, 2006. cap. 10, p. 57-61.

WANG, Y.; CHEN, J.; CHEN, L.; TAY, Y. C.; RANGAN, G. K.; HARRIS, D. C. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in proximal tubule cells by urinary protein. **Journal of the American Society of Nephrology**, Baltimore, v. 8, n. 10, p. 1537-1545, 1997.

WATANABE, M.; SILVA, G. F.; FONSECA C. D.; VATTIMO, M. F. F. NGAL urinária em pacientes sem e com lesão renal aguda em unidade de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 347-354, 2014.

YANG, J.; LIU, Y. Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis. **The American Journal of Pathology**, Philadelphia, v. 159, n. 4. p. 1465-1475, 2001.

ZHOU, X.; MA, B.; LIN, Z.; QU, Z.; HUO, Y.; WANG, J.; LI, B. Evaluation of the usefulness of novel biomarkers for drug-induced acute kidney injury in beagles dogs. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 280, n. 1, p. 30-35, 2014.

ZOJA, C.; MORIGI, M.; FIGLIUZZI, M.; BRUZZI, I.; OLDROYD, S.; BENIGNI, A.; RONCO, P.; REMUZZI, G. Proximal tubular cell synthesis and secretion of endothelin-1 on challenge with albumin and other proteins. **American Journal of Kidney Diseases**, Philadelphia, v. 26, n. 6, p. 934-941, 1995.

ZOJA, C.; DONADELLI, R.; COLLEONI, S.; FIGLIUZZI, M.; BONAZZOLA, S.; MORIGI, M.; REMUZZI, G. Protein overload stimulates RANTES production by proximal tubular cells depending on NF- $\kappa$ B activation. **Kidney International**, New York, v. 53, n. 6, p. 1608-1615, 1998.