

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 30/06/2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS JABOTICABAL

**CONTRIBUIÇÃO DIAGNÓSTICA DE BIOMARCADORES
EM CÃES SOB RISCO DE DESENVOLVER LESÃO RENAL
AGUDA**

Karla Alejandra Hidalgo Teran
Médica Veterinária

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS JABOTICABAL

**CONTRIBUIÇÃO DIAGNÓSTICA DE BIOMARCADORES
EM CÃES SOB RISCO DE DESENVOLVER LESÃO RENAL
AGUDA**

Karla Alejandra Hidalgo Teran

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Marileda Bonafim Carvalho

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área Clínica Médica.

2022

T315c Hidalgo Teran, Karla Alejandra
Contribuição diagnóstica de biomarcadores em cães
sob risco de desenvolver lesão renal aguda / Karla
Alejandra Hidalgo Teran. -- Jaboticabal, 2022
31 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual
Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Marileda Bonafim Carvalho

1. Biomarcador de lesão renal. 2. Diagnóstico precoce.
3. NGAL. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca
da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados
fornecidos pelo autor(a).

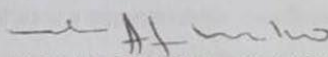
Essa ficha não pode ser modificada.


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

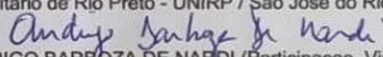
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CONTRIBUIÇÃO DIAGNÓSTICA DE BIOMARCADORES EM CÃES SOB RISCO DE DESENVOLVER LESÃO RENAL AGUDA

AUTORA: KARLA ALEJANDRA HIDALGO TERAN
ORIENTADORA: MARILEDA BONAFIM CARVALHO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Clínica Médica Veterinária pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. MARILEDA BONAFIM CARVALHO (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal


Prof. Dr. MARCELO AUGUSTO MORAES KOURY ALVES (Participação Virtual)
Centro Universitário de Rio Preto - UNIRP / São José do Rio Preto/SP


Prof. Dr. ANDRIGO BARBOZA DE NARDI (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 30 de junho de 2022

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Karla Alejandra Hidalgo Teran - nascida em Quito - Equador aos dezesseis de junho do ano 1992, filha de Benito Fidel Hidalgo Cruz e de Anita Germania Teran Ortega. Em fevereiro de 2016, graduou-se de Medicina Veterinária e Zootecnia na *Universidad de las Américas* (UDLA) em Quito-Ecuador. Desde o ano 2016 até 2020, trabalhou na Clínica Veterinária *Perros e Gatos* na área de Clínica Médica de pequenos animais. Desde abril de 2019 até dezembro do mesmo ano, participou do Curso de pós-graduação *lato senso* em Medicina Felina da *Universidad Católica de Salta* (UCASAL) e o Grupo de Educação contínua *Veterinarios en web*. Em 2020, obteve a Certificação de *Cat Friendly Veterinary Professional* na *Associação Internacional de Medicina Felina* (ISFM). Em março de 2020 ingressou no Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação, *stricto sensu*, em Medicina Veterinária, na área de Clínica Médica com ênfase em Nefrologia e Urologia, oferecido pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), *campus* Jaboticabal. Atualmente é Integrante do Grupo de pesquisa em Nefrologia e Urologia (GPNUV) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, *campus* Jaboticabal, SP.

AGRADECIMENTOS

À minha avó, a pessoa mais importante na minha vida. Sem você, eu não estaria escrevendo estas palavras.

À professora Marileda, minha orientadora. Por ter me acolhido como orientada e ter me proporcionado a melhor das guias durante minha trajetória. A senhora é um exemplo como pessoa e como profissional para mim.

À *Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT)*, por ter acreditado nas minhas capacidades e ter investido na minha educação.

À equipe do Hospital Veterinário da FCAV - UNESP. Aos residentes e pós-graduandos. Foram amigos e parceiros; aprendi muito com todos vocês. Com muito carinho, sempre ficarão no meu coração.

Finalmente, mas não menos importante, ao Francisco. Juntos carregamos todas minhas emoções nestes dois anos, as boas e as ruins. Mesmo à distância, sempre senti uma mão onde apoiar a minha.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Contribuição diagnóstica de biomarcadores em cães sob risco de desenvolver lesão renal aguda**", protocolo nº 4369/20, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Marileda Bonafim Carvalho, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 17 de setembro de 2020.

Vigência do Projeto	01/10/2020 a 26/02/2021
Espécie / Linhagem	Canina
Nº de animais	30
Peso / Idade	≥ 5 Kg / ≥ 1 ano
Sexo	Sem restrição
Origem	Pacientes da espécie canina atendidos no HV-FCAV-Unesp

Jaboticabal, 17 de setembro de 2020.

Fabiana Pilarski

Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

CONTRIBUIÇÃO DIAGNÓSTICA DE BIOMARCADORES EM CÃES SOB RISCO DE DESENVOLVER LESÃO RENAL AGUDA

RESUMO – Pacientes caninos, com necessidade de intervenção cirúrgica, correm risco de desenvolver Lesão renal aguda, cuja manifestação clínica se apresenta tardiamente. A busca por métodos diagnósticos precoces revelou o biomarcador Lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL) como o mais apropriado para detecção de lesão tubular aguda (LTA). Considerando a hipótese de que cães com câncer são mais propensos a desenvolver LTA, relacionada às diversas intervenções ao longo do processo cirúrgico, foi conduzido estudo prospectivo longitudinal (do pré-operatório até pós-operatório mediato), de 17 cães, clinicamente estáveis, indicados para procedimento cirúrgico. Para o estudo foram avaliadas creatinina sérica, densidade urinária, razão proteína/creatinina urinária, que são indicadores tradicionais para doença renal, o biomarcador NGAL do soro e da urina. As coletas de amostras foram realizadas em três momentos: 12 a 24 horas antes da cirurgia, 48 horas e 96 horas após o término da cirurgia. Os resultados evidenciaram aumento relevante da NGAL urinária em 11 dos 17 cães, 48 horas após a cirurgia, enquanto os biomarcadores convencionais não apresentaram alteração significativa e não foram observados sinais clínicos relacionados. Assim, confirmada a hipótese do estudo, a NGAL se mostrou útil para detecção precoce de eventos silenciosos de ataques à integridade tubular renal.

Palavras-chave: biomarcador de lesão renal, diagnóstico precoce, NGAL.

DIAGNOSTIC CONTRIBUTION OF BIOMARKERS IN DOGS AT RISK OF DEVELOPING ACUTE KIDNEY INJURY

ABSTRACT - Canine patients needing surgical intervention are at risk of developing acute kidney injury, whose clinical manifestation is late. The search for early diagnostic methods revealed the neutrophil gelatinase-associated Lipocalin (NGAL) biomarker as the most appropriate for detecting acute tubular injury (ATI). Considering the hypothesis that dogs with cancer are more likely to develop ATI, related to the different interventions throughout the surgical process, a prospective longitudinal study (from the preoperative to the immediate postoperative period) of 17 clinically stable dogs indicated for surgical procedure. The serum creatinine, urinary density, and urinary protein/creatinine ratio, which are traditional indicators for kidney disease, the serum, and urine NGAL biomarkers, were evaluated. The sample collections were performed three times: 12 to 24 hours before surgery, 48 hours, and 96 hours after surgery. The results showed a significant increase in urinary NGAL in 11 of 17 dogs 48 hours after surgery, while conventional markers showed no significant change, and no related clinical signs were observed. Thus, confirming the study's hypothesis, NGAL proved helpful for the early detection of silent events of attacks on renal tubular integrity.

Keywords: biomarker of kidney injury, early diagnosis, NGAL.

AVALIAÇÃO DA CONTRIBUIÇÃO DIAGNÓSTICA DE BIOMARCADORES EM CÃES SOB RISCO DE DESENVOLVER LESÃO RENAL AGUDA

1. INTRODUÇÃO

As nefropatias adquiridas podem comprometer qualquer um dos componentes do parênquima renal (glomérulos, túbulos, interstício e vasculatura), de forma isolada ou conjunta, a depender da causa e da duração do processo mórbido. Os túbulos renais, com destaque para o túbulo contornado proximal, são o alvo primário nas doenças renais agudas desencadeadas por fatores isquêmicos ou nefrotóxicos. Esse tipo de doença, atualmente denominada lesão renal aguda (LRA), é relativamente comum em cães e humanos. Os pacientes desenvolvem insuficiência renal aguda (IRA) e, comumente, evoluem para óbito, doença renal crônica ou, na melhor das hipóteses, déficit de função tubular. Contudo, o desfecho pode ser favorável ou melhorado se o fator causal for passível de eliminação ou compensação e a condição seja diagnosticada em tempo hábil.

Existem vários fatores, que isolada ou conjuntamente, influenciam a gravidade das lesões tubulares e o tipo de desfecho da LRA. O diagnóstico tardio da LRA é um dos fatores relevantes mais graves. A concentração sérica de creatinina (sCr), o biomarcador tradicional para IRA, só se manifestam quando o paciente já se encontra em estado crítico.

Pacientes que necessitam de intervenção cirúrgica são particularmente expostos a fatores com potencial para causar eventos isquêmicos e nefrotóxicos que, somados aos fatores mórbidos já existentes, resultem em lesão tubular aguda (LTA), que podem evoluir para os piores efeitos por falta de diagnóstico precoce.

9. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo confirmaram a hipótese proposta. Foi possível detectar aumentos de uNGAL compatíveis com lesão tubular aguda, apesar da ausência de sinalização dos biomarcadores convencionais.

Os marcadores tradicionais não são eficientes para determinar lesões renais nos pacientes com condições clínicas pré-existentes em risco de desenvolver insuficiência renal aguda.

É plausível considerar que vários fatores podem estar simultaneamente relacionados às variações da uNGAL, com destaque para os procedimentos cirúrgicos e as condições clínicas de cada paciente.

10. REFERÊNCIAS

- AHN, H. J.; HYUN, C. Evaluation of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) activity in dogs with chronic kidney disease. **The Veterinary Record**, v. 173, n. 18, p. 452, 2013.
- BAUER, M.; EICKHOFF, J. C.; GOULD, M. N.; MUNDHENKE, C.; MAASS, N.; FRIEDL, A. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is a predictor of poor prognosis in human primary breast cancer. **Breast cancer research and treatment**, v. 108, n. 3, p. 389-397, 2008.
- BENSMAN, A. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) systemic use: the risk of renal failure. **Frontiers in Pediatrics**, p. 517, 2020.
- CAO, J.; LU, X.; GAO, F.; ZHANG, X.; XIA, X.; SUN, H. Assessment of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an early biomarker for canine renal ischemia-reperfusion injury. **Annals of translational medicine**, v. 8, n. 22, 2020.
- CARVALHO, M. B. Insuficiência Renal Aguda. In: MARQUEZ, M.; DE ANDRADE J.; KOGICA, M. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan Ltda, 2015. p. 4106-4193.
- CHEW, D.; DIBARTOLA, S.; SCHENCK, P. Acute Renal Failure. In: **Canine and Feline Nephrology and Urology**. St. Louis: Elsevier, 2011. p. 63-92.
- COBRIN, A. R.; BLOIS, S. L.; ABRAMS-OGG, A. C. G.; KRUTH, S. A.; DEWEY, C.; HOLOWAYCHUK, M. K.; GAUTHIER, V. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in dogs with chronic kidney disease, carcinoma, lymphoma and endotoxemia. **Journal of Small Animal Practice**, v. 57, n. 6, p. 291-298, 2016.
- COWLAND, J. B.; BORREGAARD, N. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. **Genomics**, v. 45, n. 1, p. 17-23, 1997.
- CRILLY, S.; GRAUER, G. Acute Kidney Injury. In: ELLIOTT, J.; GRAUER, G.; WESTROPP, J. **BSAVA Manual of Nephrology and Urology**. Gloucester: BSAVA British Small Animal Veterinary Association, 2017. p. 246-255.
- DEVARAJAN, P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, v. 68, n. 241, p. 89-94, 2008.
- DUNAEVICH, A.; CHEN, H.; MUSSERI, D.; KUZU, S.; MAZAKI-TOVI, M.; AROCH, I.; SEGEV, G. Acute on chronic kidney disease in dogs: Etiology, clinical and clinicopathologic findings, prognostic markers, and survival. **Journal of Internal Veterinary Medicine**, v. 34, n. 6, p. 2507–2515, 2020.

GINÉ, J. Fallo Renal Agudo. In: CORTADELLAS, O. **Manual de Nefrología e Urología Clínica Canina y Felina**. Zaragoza: SERVET, 2010. p. 175-187.

GU, Y. Z.; VLASAKOVA, K.; DARBES, J.; WANG, E.; FERRARO, J.; GLAAB, W. E.; SISTARE, F. D. Urine kidney safety biomarkers improve understanding of indirect intra-renal injury potential in dogs with a drug-induced prerenal azotemia. **Toxicology**, v. 439, p. 152462, 2020.

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**, V. 10, N. 1, P. 1-8, 2014a.

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**, v. 28, n. 2, p. 437-442, 2014b.

KAI, K.; YAMAGUCHI, T.; YOSHIMATSU, Y.; KINOSHITA, J.; TERANISHI, M.; TAKASAKI, W. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin, a sensitive urinary biomarker of acute kidney injury in dogs receiving gentamicin. **The Journal of toxicological sciences**, v. 38, n. 2, p. 269-277, 2013.

KIM, B. H.; YU, N.; KIM, H. R.; YUN, K. W.; LIM, I. S.; KIM, T. H.; LEE, M. K. Evaluation of the optimal neutrophil gelatinase-associated lipocalin value as a screening biomarker for urinary tract infections in children. **Annals of laboratory medicine**, v. 34, n. 5, p. 354, 2014.

KIM, B. R.; YOON, S.; SONG, G. Y.; LEE, S.; BAHK, J. H.; NAM, K. The impact of total intravenous anesthesia versus inhalation anesthesia on acute kidney injury after major abdominal surgery: a propensity score analysis. **Journal of Anesthesia**, n. 35, p. 112-121, 2021.

KIM, Y. M.; POLZIN, D. J.; RENDAHL, A.; GRANICK, J. L. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in dogs with stable or progressive kidney disease. **Journal of veterinary internal MEDICINE**, V. 33, N. 2, P. 654-661, 2019.

KO, H. Y.; KIM, J.; GEUM, M.; KIM, H. J. Cystatin C and neutrophil gelatinase-associated lipocalin as early biomarkers for chronic kidney disease in dogs. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 45, p. 100580, 2021.

KUKANICH, B.; BIDGOOD, T.; KNESL, O. Clinical pharmacology of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in dogs. **Veterinary anaesthesia and analgesia**, v. 39, n. 1, p. 69-90, 2012.

LEE, Y. J.; HU, Y. Y.; LIN, Y. S.; CHANG, C. T.; LIN, F. Y.; WONG, M. L.; KUO-HSUAN, H.; HSU, W. L. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute canine kidney injury. **BMC veterinary research**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2012.

LOMAS, A. L.; GRAUER, G. F. The renal effects of NSAIDs in dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 51, n. 3, p. 197-203, 2015.

MISHRA, J.; MA, Q.; PRADA, A.; MITSNEFES, M.; ZAHEDI, K.; YANG, J.; BARASCH, 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**, v. 14, n. 10, p. 2534-2543, 2003.

MORI, K.; LEE, H. T.; RAPOPORT, D.; DREXLER, I. R.; FOSTER, K.; YANG, J.; SCHMIDT-OTT, K. M.; CHEN, X.; LI, J. Y.; WEISS, S.; MISHRA, J.; CHEEMA, F. H.; MARKOWITZ, G.; SUGANAMI, T.; SAWAI, K.; MUKOYAMA, M.; KUNI, C.; D'AGATI, V.; DEVARAJAN, P.; BARASCH, J. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. **The Journal of clinical investigation**, v. 115, n. 3, p. 610-621, 2005.

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

PELLIGAND, L.; ELLIOTT, J. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drug treatment on the kidney. In: ELLIOTT, J.; GRAUER, G.; WESTROPP, J. **BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology**. BSAVA Library, 2017. p. 232-245.

PELLIGAND, L.; SUEMANOTHAM, N.; SEEWALD, W.; SYME, H.; SMITH, K.; LEES, P. E.; ELLIOTT, J. Effect of Cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 inhibition on furosemide-induced renal responses and isoform immunolocalization in the healthy cat kidney. **BMC veterinary research**, v. 11, n. 1, p. 1-11, 2015.

PERIS, M. P.; MORALES, M.; ARES-GÓMEZ, S.; ESTEBAN-GIL, A.; GÓMEZ-OCHOA, P.; GASCÓN, M.; MORENO, B.; CASTILLO, J. A. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) Is Related with the Proteinuria Degree and the Microscopic Kidney Findings in Leishmania-Infected Dogs. **Microorganisms**, v. 8, n. 12, p. 1966, 2020.

ROSS, L. Acute kidney injury in dogs and cats. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 41, n. 1, p. 1-14, 2011.

SEGEV, G.; PALM, C.; LEROY, B.; COWGILL, L. D.; WESTROPP, J. L. Evaluation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of kidney injury in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 27, n. 6, p. 1362-1367, 2013.

SIMMONS, D. L.; BOTTING, R. M.; HLA, T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. **Pharmacological reviews**, v. 56, n. 3, p. 387-437, 2004.

SINHA, V.; VENCE, L. M.; SALAHUDEEN, A. K. Urinary tubular protein-based biomarkers in the rodent model of cisplatin nephrotoxicity: a comparative analysis of serum creatinine, renal histology, and urinary KIM-1, NGAL, and NAG in the initiation, maintenance, and recovery phases of acute kidney injury. **Journal of investigative medicine**, v. 61, n. 3, p. 564-568, 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**, v. 28, n. 2, p. 264-269, 2014.

SUN, Y; YOKOI, K; LI, H; GAO, J; HU, L; LIU, B; CHEN, K; HAMILTON, SR; FAN, D; SUN, B; ZHANG, W. NGAL Expression Is Elevated in Both Colorectal Adenoma–Carcinoma Sequence and Cancer Progression and Enhances Tumorigenesis in Xenograft Mouse Models. **American Association for Cancer Research**, v. 17, n. 13, p. 4331-4340, 2011.

VADEN, SL; KNOLL, JS; SMITH JR, FWK; TILLEY, LP. **Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Laboratory Tests and Diagnostic Procedures: Canine & Feline**. Willey-Blackwell, 2009. p. 200-201.

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 beagle dogs. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 280, n. 1, p. 30-35, 2014.