

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

OSIMAR DE CARVALHO SANCHES

Histopatologia da série eritróide da medula óssea e do tecido renal de cães com insuficiência renal crônica

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientador: **Prof. Dr. Julio Lopes Siqueira**

BOTUCATU - SP
2005

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Sanches, Osimar de Carvalho.

Histopatologia da série eritróide da medula óssea e do tecido renal de cães com insuficiência renal crônica / Osimar de Carvalho Sanches. – Botucatu : [s.n.], 2005.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2005.

Orientador: Prof. Dr. Julio Lopes Siqueira

Assunto CAPES: 50501062

1. Cão – Rins – Doenças. 2. Insuficiência renal crônica. 3. Medula óssea.

CDD 636.089661

Palavras chave: Anemia; Cão; Insuficiência renal crônica; Medula óssea; Precursor eritróide.

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição das alterações glomerulares nos animais do grupo controle.	36
Tabela 2. Distribuição das alterações glomerulares nos animais com IRC.	37
Tabela 3. Alterações tubulares e intersticiais nos animais do grupo controle.	39
Tabela 4. Alterações tubulares e intersticiais nos animais do grupo com IRC.	40
Tabela 5. Caracterização do infiltrado inflamatório nos animais controle.	43
Tabela 6. Alterações do infiltrado inflamatório nos animais com IRC.	45
Tabela 7. Análise de correlação entre as variáveis hematológicas e as alterações histopatológicas animais controle.	51
Tabela 8. Análise de correlação entre as variáveis da série eritróide e as alterações histopatológicas nos animais controle.	53
Tabela 9. Análise de correlação entre as variáveis da série eritróide e os valores de uréia e creatinina (animais controle).	54
Tabela 10. Análise de correlação entre as variáveis hematológicas e as alterações histopatológicas nos animais com IRC.	56
Tabela 11. Análise de correlação entre as variáveis da série eritróide e as alterações histopatológicas nos animais com IRC.	58
Tabela 12. Análise de correlação entre as variáveis da série eritróide e os valores de uréia e creatinina nos animais com IRC.	59

LISTAS DE FIGURAS

Figura A – Fotomicrografia de medula óssea de cão mostrando eritroblastos com citoplasma azul-escuro, núcleo vesicular com nucléolo central (seta maior) e rubricito basófilo (seta menor), com citoplasma basofílico e com nucléolo ausente (Giemsa – 40X).	29
Figura B – Fotomicrografia de medula óssea de cão mostrando rubricitos policromatófilos com citoplasma variando de levemente basofílico à eosinofílico, núcleo com cromatina condensada (seta maior) e metarubricito (seta menor), com citoplasma intensamente eosinofílico e núcleo picnótico e deslocado para a periferia (Giemsa – 40X).	29
Figura 1. Rim canino com aspecto normal, com distinção clara da zona cortical (camada vermelho escuro) e medular (camada clara).	35
Figura 2. Rim canino com IRC, com córtex esbranquiçado e aspecto granular	35
Figura 3. Fragmento de medula óssea de cão adulto hígido.	35
Figura 4. Biopsia de medula óssea de cão adulto hígido (HxE) – digitalização.	35
Figura 5. Biopsia de medula óssea de cão adulto mostrando aplasia total (Giemsa) – digitalização.	35
Figura 6. Aspecto normal do glomérulo e ausência de reação inflamatória periglomerular, HxE (20X).	36
Figura 7. Túbulo contorcido proximal e distal dentro dos padrões de normalidade e com ausência de reação inflamatória intersticial, HxE (20X).	36
Figura 8. Glomerulonefrite membranosa, espessamento multifocal da parede capilar; Prata metenamina (40X).	36
Figura 9. Espessamento da parede capilar e hiperplasia de células mesangiais, HxE (40X).	36
Figura 10. Glomerulonefrite mesangial, proliferação difusa da matriz mesangial, PAS (40X).	36
Figura 11. Glomerulonefrite crônica, e esclerose glomerular, tricrômio de Masson (40X).	39
Figura 12. Glomérulo mostrando simplificação da arquitetura lobular, com diminuição do espaço de Bowman, HxE (40X).	39
Figura. 13. Glomérulo exibindo acentuação da arquitetura lobular, HxE (40X).	39
Figura 14. Hiperplasia de células epiteliais da cápsula de Bowman e infiltrado inflamatório periglomerular, HxE (40X).	39

Figura 15. Hiperplasia de células mesangiais e espessamento da parede dos capilares glomerulares, HxE (40X).	39
Figura 16. Glomérulo mostrando sinéquia e espessamento da cápsula de Bowman, HxE (100X).	39
Figura. 17. Esclerose glomerular, com proliferação de tecido conjuntivo no tufo glomerular e na região periglomerular, Tricrômio de Masson (40X).	39
Figura 18. Fragmento de rim mostrando dilatação tubular, digitalização, HxE.	42
Figura 19. Fotomicrografia da imagem anterior mostrando dilatação tubular, HxE, (20X).	42
Figura 20. Corte de rim mostrando regeneração do epitélio tubular, fibrose intersticial e dilatação tubular, HxE (20X).	42
Figura 21. Regeneração do epitélio tubular, HxE (40X).	42
Figura 22. Túbulos renais apresentando tireoidização e atrofia do epitélio tubular, HxE (20X).	42
Figura 23. Fotomicrografia mostrando dilatação tubular e atrofia do epitélio (parte superior da imagem), regeneração do epitélio tubular (centro da imagem) e nefrite intersticial (parte inferior da imagem), HxE (20).	42
Figura 24. Fragmentos de rim corados pelo Tricrômio de Masson, mostrando padrão normal, digitalização.	43
Figura 25. Fragmento de rim corado pelo Tricrômio de Masson, mostrando fibrose acentuada, digitalização.	43
Figura 26. Fotomicrografia mostrando esclerose glomerular, fibrose intersticial e infiltrado inflamatório periglomerular, HxE (20X).	43
Figura. 27. Fotomicrografia mostrando fibrose peritubular acentuada e esclerose glomerular, Tricrômio de Masson (20X).	43
Figura 28. Fragmento de medula óssea dos animais controle mostrado as trabéculas ósseas preenchidas por células, HxE - digitalização.	48
Figura 29. Imagem anterior corada por Giemsa.	48
Figura 30. Fragmento de medula óssea de animal com IRC, mostrando aplasia hematopoiética multifocal (setas), HxE.	48
Figura 31. Fragmento de medula óssea de animal com IRC, mostrando aplasia total do tecido hematopoiético, Giemsa.	48
Figura 32. Fotomicrografia de medula óssea de animal hígido, mostrando o ambiente hematopoético, tecido gorduroso e o osso trabecular, HxE (10X).	48
Figura 33. Fotomicrografia de animal controle, mostrando ambiente hematopoiético e clara distinção das diferenças tintoriais entre as linhagens celulares, Giemsa (20X).	48

- Figura 34. Fotomicrografia aproximada da fig. 32 onde é possível visualizar os 48
precursores eritróides (seta), contudo sem distinção do tipo celular, HxE (100X).
- Figura 35. Fotomicrografia aproximada da Fig. 33 onde é possível fazer a 48
distinção do precursor eritróide – eritroblastos (seta) , Giemsa (40X).
- Figura 36. Fotomicrografia de medula óssea mostrando ilha eritróide (setas), 49
contudo não é possível distinguir os tipos celulares, HxE (40X).
- Figura 37. Ilha eritróide individualiza (seta longa), mostrando um macrófago 49
cental e vários rubricitos basófilo ao redor, eritroblasto no canto inferior direito
(seta curta), Giemsa (100X).
- Figura 38. Mostra eritroblasto (seta menor), com citoplasma basofílico e 49
escasso, núcleo claro com nucléolo visível e um rubricito basófilo (seta maior),
com citoplasma escasso e basofilia discreta, núcleo claro sem nucléolo, Giemsa
(100X).
- Figura 39. Mostra vários rubricitos policromatófilos (setas), observar que o 49
citoplasma apresenta tanto coloração basofílica como eosinofílica, característica
deste precursor eritróide, Giemsa (100X).
- Figura 40. Mostra vários metarubricitos com citoplasma totalmente eosinofílico 49
(setas).
- Figura 41. Mostra vários metarubricitos (seta longa) e dois rubricitos 49
policromatófilos (setas curtas).

ANEXOS

Anexo 1. Parâmetros hematológicos e bioquímicos dos animais do grupo controle.

Anexo 2. Parâmetros hematológicos e bioquímicos dos animais do grupo com IRC.

Anexo 3. Análise histopatológica renal dos animais do grupo controle.

Anexo 4. Análise histopatológica renal dos animais do grupo com IRC.

Anexo 5. Contagem dos precursores eritróides nos animais do grupo controle.

Anexo 6. Contagem dos precursores eritróides nos animais com IRC.

Anexo 7. Análise estatística (teste T de Student) entre as variáveis hematológicas e bioquímicas nos animais do grupo controle e dos animais com IRC.

Anexo 8. Análise estatística “teste de Mann-Whitney (MW)” das alterações histopatológicas nos animais do grupo controle e nos animais com IRC.

SUMÁRIO

Resumo	5
Abstract	6
Introdução	7
Objetivos	9
Revisão de Literatura	11
Eritropoiese	11
Papel do rim na eritropoiese	14
Insuficiência renal crônica	16
Alterações hematológicas no paciente com IRC	18
Metabólitos urêmicos	20
Material e Métodos	26
Animais estudados e colheita de material	26
Processamento histológico das amostras	27
Quantificação dos precursores eritróides da medula óssea	27
Análise quantitativa e qualitativa dos rins e da medula óssea	30
Análise estatística	31
Resultados	33
Análise dos parâmetros hematológicos e bioquímicos	33
Análise histopatológica do rim	34
Alterações glomerulares	37
Alterações tubulares e intersticiais	40
Infiltrado inflamatório	44
Análise histopatológica da medula óssea	46
Análise estatística	50
Discussão	61
Conclusão	72
Referências Bibliográficas	73

SANCHES, O. C. **Histopatologia da série eritróide da medula óssea e do tecido renal de cães com insuficiência renal crônica**. 2005. 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

RESUMO

A insuficiência renal crônica a principal afecção renal dos cães e a anemia é a principal seqüela desta infecção. Os rins são os principais responsáveis pela produção do hormônio estimulador e regulador da eritropoiese – eritropoetina. Portanto, o conhecimento pleno dos mecanismos envolvidos na produção dos quadros anêmicos e sua correlação com as alterações bioquímicas sanguíneas e morfológicas do tecido renal e medular, são de fundamental importância para se avaliar qual a melhor manobra terapêutica que favoreça a condição hemática e conseqüentemente a qualidade de vida dos cães portadores de insuficiência renal crônica. O presente estudo teve por objetivos investigar e descrever as alterações histopatológicas dos rins e da linhagem eritróide na medula óssea de cães portadores de insuficiência renal crônica (IRC), identificando e quantificando as células precursoras das hemácias na medula óssea. Foram utilizados 15 animais controle e 15 animais portadores de insuficiência renal crônica. As amostras foram analisadas em microscopia ótica, tendo como auxílio à coloração de Giemsa, que foi utilizada para diferenciar os precursores eritróides. Os animais do grupo controle apesar de apresentarem alterações morfológicas nos rins, estas não foram suficientes para promover alterações nos parâmetros hematológicos, bem como na bioquímica sérica. Já nos animais do grupo com IRC as alterações morfológicas se caracterizaram por glomerulonefrite crônica, seguida da glomerulonefrite proliferativa mesangial, glomerulonefrite membranoproliferativa e da glomerulonefrite membranosa com 46,66%, 26,66%, 13,33% e 13,33% dos animais respectivamente. Vale ressaltar ainda que 73,33% dos animais exibiam nefrite intersticial crônica e 20% apresentavam nefrite intersticial focal. Dos quinze animais do grupo com IRC, 80% exibiam quadro de anemia, sendo 46,66% do tipo normocítica normocrômica, 20% macrocítica hipocrômica, 6,66% com anemia microcítica normocrômica e 6,66% do tipo macrocítica hipocrômica. As alterações morfológicas túbulo-intersticiais apresentaram maior correlação com as concentrações de uréia e creatinina e com a contagem dos precursores eritróides.

Palavras-chave: Anemia, cão, insuficiência renal crônica, medula óssea, precursor eritróide.

SANCHES, O. C. **Histopatology of the erythroid series of the bone marrow and of the renal tissue of dogs with chronic renal inadequacy.** Botucatu, 2005. Thesis (Master's degree in Veterinary Medicine, Concentration area: Veterinary Clinic) -University of Veterinary Medicine and Animal Science, Campus of Botucatu, From São Paulo State University "Júlio de Mesquita Filho."

ABSTRACT

The chronic renal failure, the main renal affection of the dogs and the anemia is the main sequel of this affection. The kidneys are the main responsible for the production of the hormone stimulator and regulator of the erythropoiesis - erythropoietin. Therefore, the full knowledge of the mechanisms involved in the production of the anemic pable and its correlation with the sanguine and morphologic biochemical alterations of the renal and marrow tissues, are of fundamental importance to evaluate the best therapeutic maneuver that favors the hematic condition and consequently the quality of life of the dogs bearers of chronic renal inadequacy. The present work had as objectives to investigate and to describe the histopathologic alterations of the kidneys and of the erythroid lineage in the bone marrow of dogs bearers of chronic renal failure (CRF), identifying and quantifying the precursory cells of the erythrocytes in the bone marrow. 15 control animals and 15 animals bearers of chronic renal failure were used. The samples were analyzed in optic microscopy, with the use of the Giemsa coloration, used to differentiate the erythroid precursors. The animals of the control group inspite of the morphologic alterations presented in the kidneys, were not enough to promote alterations in the hematological parameters, as well as in the serum biochemistry. In the animals of the group with CRF the morphologic alterations are characterized by chronic glomerulonephritis, following by proliferative mesangial glomerulonephritis, membranousproliferative glomerulonephritis and the membranous glomerulonephritis with 46,66%, 26,66%, 13,33% and 13,33% of the animals respectively. It is worth to stand out that 73,33% of the animals exhibited chronic interstitial nephritis and 20% presented focal interstitial nephritis. Of the 15 animals of the group with CRF, 80% exhibited anemia, being 46,66% of the type normocytic normochromic, 20% macrocytic hypochromic, 6,66% with anemia microcytic normochromic and 6,66% of the type macrocytic hypochromic. The morphologic tubulo-interstitial alterations presented larger correlation with the urea concentrations and creatinine and with the counting of the erythroid precursors.

KEY - WORDS: Anemia, dog, chronic renal failure, bone marrow, erythroid precursor.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Os cães portadores de insuficiência renal crônica desenvolvem frequentemente anemia, o que está associado ao aumento da morbidade e da mortalidade. Este processo tem sido atribuído à deficiência de eritropoetina. Esta relação torna-se lógica já que a principal fonte deste hormônio é exatamente o rim e, na medida em que progride a lesão do tecido renal, menores quantidades de eritropoetina são produzidas. Várias pesquisas têm sido desenvolvidas, no sentido de estudar esta relação.

O efeito da eritropoetina é exercido sobre as células precursoras das hemácias e, portanto, o exame da medula óssea dos cães portadores de doença renal crônica pode fornecer dados importantes a respeito da hematopoiese nestes animais. Deve-se ressaltar que poucos estudos têm focado as alterações da linhagem eritropoiética medular nos casos de doença renal crônica e, principalmente, a sua correlação com o grau de lesão renal e parâmetros bioquímicos do sangue.

Considerando ser a insuficiência renal crônica a principal afecção renal dos cães, e sendo os rins os principais responsáveis pela produção do hormônio estimulador e regulador da eritropoiese / eritropoetina, e que a anemia é a principal seqüela desta afecção, o conhecimento pleno dos mecanismos envolvidos na produção dos quadros anêmicos e sua correlação com as alterações bioquímicas sanguíneas e morfológicas do tecido renal e medular, são de fundamental importância para se avaliar qual a melhor manobra terapêutica que favoreça a condição hemática e conseqüentemente a qualidade de vida dos cães portadores de insuficiência renal crônica.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

O presente estudo teve por objetivos:

Investigar e descrever as alterações histopatológicas da linhagem eritróide na medula óssea de cães portadores de insuficiência renal crônica (IRC)

Identificar e quantificar através da análise histopatológica as células precursoras de eritrócitos na medula óssea de cães clinicamente saudáveis e em cães com insuficiência renal crônica.

Quantificar e descrever as alterações histopatológicas nos cães utilizados do grupo controle e dos animais com insuficiência renal crônica.

Investigar a correlação entre a concentração de solutos urêmicos (uréia e creatinina) e contagem dos precursores eritróides.

REVISÃO DE LITERATURA

REVISÃO DE LITERATURA

1. ERITROPOIESE

A estimulação e a regulação da eritropoiese, foi pela primeira vez relacionada a um hormônio em 1906, por CARNOT e DEFLANDRE *apud* (JELKMANN, 1994). Este hormônio é uma glicoproteína denominada eritropoetina (MORITZ et al, 1997, ERSLEV e BESARAB,1997).

Os eritrócitos, além de transportar oxigênio — indispensável para todos os processos fisiológicos e/ou metabólicos das células — transportam também dióxido de carbono e íons hidrogênio (BUNN et al, 1996; HOCHACHKA et al, 1996; MORITZ et al, 1997; HARVEY, 2000).

Como as demais células do tecido sangüíneo, a produção dos eritrócitos, ou eritropoiese, tem início na fase embrionária, mais precisamente no saco vitelino, de onde as “stem cells” embrionárias migram para o fígado, baço, medula óssea e timo, que constituem os órgãos hematopoiéticos fetais dos recém-nascidos. No animal adulto estas células são produzidas na medula óssea, baço e, em alguns animais, no timo (EMERSON et al, 1989; MORRISON et al, 1995; ZON, 1995; JONES et al, 1997 e FELDMAN et. al, 2000).

De acordo com GASPER (2000), o sistema hematopoiético é dividido em três compartimentos morfofuncionais distintos: compartimento das “stem cells” (células pluripotentes), compartimento das células progenitoras e compartimento das células precursoras.

As células do compartimento das “stem cells” (pluripotente) possuem a capacidade de auto-renovação, proliferação e diferenciação, contudo, poucas células deste compartimento estão mitoticamente ativas, já que a maioria

permanece no estágio G_0 do ciclo celular. Estas células representam 0,05% das células da medula óssea de camundongos e do homem (MORRISON et. al, 1995).

As células do compartimento de células progenitoras (BFU-e e CFU-e) possuem uma capacidade limitada de auto-renovação, mas entram no ciclo celular em maior número que as células do compartimento das “stem cells” (GASPER, 2000).

As células do compartimento precursor são células blásticas, comprometidas com os processos de eritropoiese, mielopoiese, linfopoiese e trombopoiese. São as células mais abundantes no ambiente medular e, apesar de estarem ativas no ciclo celular, não possuem a capacidade de auto-renovação (GASPER, 2000).

O processo de eritropoiese ocorre em uma unidade microanatômica denominada de ilha eritroblástica, a qual é formada por um macrófago central (denominada de célula enfermeira ou célula babá) circundado por um anel de células eritróides em desenvolvimento. As ilhas eritróides são estruturas frágeis, e por isso raramente estão presentes no aspirado de medula óssea. Os precursores eritróides estão unidos ao macrófago através moléculas de adesão, como a molécula de adesão à célula vascular (VCAM-1), a caderina, ao colágeno do tipo I e IV, fibronectina e trombospondina (JAIN, 1993; CAR, 2000). JAIN (1993) comenta que quando as células eritróides vão maturando, estas se distanciam do macrófago e fazem contato com as células endoteliais dos sinusóides através das moléculas de adesão e com isso entram na circulação sanguínea.

Conforme CAR (2000) a expressão dessas moléculas são geralmente altas nas BFU-e e nas CFU-e, e diminuem progressivamente conforme a maturação da célula eritróide.

Na linhagem eritróide, as células das BFU-e são as primeiras a expressar receptores para eritropoetina, mas a expressão máxima destes receptores ocorre nas células das unidades formadoras de colônias de eritrócitos (CFU-e). A partir daí, as células precursoras de eritrócitos apresentam uma diminuição gradativa de receptores para este hormônio (MORITZ et al, 1997).

As células das BFU-e de fetos humanos são estimuladas somente pela eritropoetina, enquanto que as das BFU-e de adultos, além da eritropoetina, requerem fatores adicionais, como a interleucina 3 (IL-3) ou fator estimulador de colônias (CFS) (EMERSON et al, 1998).

A eritropoiese é regulada pela combinação dos fatores de crescimento que permitem a proliferação e a sobrevivência celular e pelos reguladores nucleares (fatores de transcrição), que ativam genes específicos para cada linhagem (ORKIN, 1995) *apud* (CAR, 2000).

CAR (2000) relata que os fatores de crescimento, agem sinergicamente com a eritropoetina, contudo, estes não são capazes de induzir por si só a eritropoiese *in vitro*. Entre os fatores de que estimulam o crescimento eritropoiético, estão a interleucina 3 (IL-3), a interleucina 6 (IL-6), interleucina 11 (IL-11), fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), fator de crescimento de hepatócitos, trombopoetina, testosterona. Já os fatores de transcrição relacionados com a eritropoiese, estão os membros da família GATA (1,2,3), tal-1/SCL e rbtn-2.

2. PAPEL DO RIM NA ERITROPOIESE

O sítio primário de produção de eritropoetina, durante o desenvolvimento fetal e logo após o nascimento é o fígado (ZANJANI et al,1981). Em mamíferos adultos ela é produzida pelos rins e atua como fator estimulante, especificamente, para as células precursoras eritróides na medula óssea (IKEDA et al, 1990; KRANTZ, 1991; JELKMANN, 1992 e 1994; PORTER; GOLDBERG, 1994 e ELLIOTT et al, 1997), diferentemente dos outros fatores de crescimento hematopoiético (KRANTZ, 1991).

Uma vez caracterizado como principal órgão produtor de eritropoetina (JACOBSON et al, 1957; MORITZ et al, 1997), os rins passaram a ser investigados a fim de se identificar às células responsáveis pela produção deste hormônio.

A eritropoetina produzida pelos rins representa de 85 a 90% do nível circulante deste hormônio. A produção extra-renal se dá no fígado e possivelmente pelos próprios eritroblastos; entretanto, esta produção não contribui com mais do que 10 a 15% da produção total em ratos e, possivelmente, menos no humanos (ERSLEV e BESARAB,1997). Nos cães, diferentemente das outras espécies, os rins podem ser o único sítio de produção deste hormônio (COWGILL, 1995).

Estudos de hibridização "*in situ*" realizados em rins de camundongos (KOURY et. al., 1988; LACOMBE et. al., 1988) demonstraram que a célula intersticial peritubular do córtex renal é a célula que expressa o gene para produção de eritropoetina (EpoRNAm). Verificou-se também que a expressão de EpoRNAm aumenta exponencialmente em resposta à anemia, tendo como resultado um aumento na produção de eritropoetina (KOURY et al., 1989).

Usando técnicas imunoistoquímicas, LEHIR et al. (1989) e BACHMANN et al (1993), também verificaram a presença de EpoRNAm em células intersticiais peritubulares de ratos. Entretanto, MAXWELL et al (1990), relataram a localização do EpoRNAm em células tubulares de rins de camundongos submetidos a hipóxia.

O principal estímulo para a produção de eritropoetina é a hipóxia tecidual que leva a um aumento da concentração plasmática de eritropoetina (ECKHARDT, 1994). A meia-vida da eritropoetina é pequena, por isso, o acúmulo deste hormônio no sangue não é verificado, portanto, a concentração plasmática deste é considerada, um bom parâmetro para a análise da taxa de produção de eritrócitos (PECHEREAU et al, 1997). Além disso, a taxa de produção de eritropoetina pelos rins é inversamente proporcional à capacidade de oxigênio transportado pelo sangue (ERSLEV e BESARAB, 1997).

Existe uma grande dificuldade de se estabelecer os valores plasmáticos normais de eritropoetina em algumas espécies, já que a concentração deste hormônio sofre influência de diversos fatores, inclusive na altitude (ERSLEV e BESARAB, 1997). Em cães, os valores plasmáticos de 5 a 15 mU ml⁻¹ (GIGER, 1992) e 7 a 37 mU ml⁻¹ (COOK e LOTHROP, 1994) foram considerados normais. O aumento da concentração plasmática de eritropoetina é descrito em cães e gatos, especialmente, em casos de aplasia medular e anemia hemolítica (COOK e LOTHROP, 1994).

3. INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA (IRC)

POLZIN e OSBORNE (1995) e FORRESTER e LESS (1998), conceituam a IRC como uma insuficiência renal primária que persistiu por um longo período, geralmente meses ou anos, sendo portanto progressiva, promovendo lesões estruturais irreversíveis nos rins.

A causa da IRC nos animais domésticos não está totalmente esclarecida, todavia a pielonefrite crônica e a glomerulonefrite crônica, têm sido identificadas como causas importantes em alguns animais, mas provavelmente outros fatores não identificados até o momento são responsáveis pela maioria dos casos (FINCO, 1997) *apud* KANEKO (1997).

A insuficiência renal é um processo patológico, no qual ocorre a perda de 75% ou mais da função de ambos os rins, tendo como causa anormalidades funcionais e ou orgânicas e que podem ser classificadas em aguda ou crônica, reversível ou irreversível (DUCROCQ e BIOUSSE, 1998) *apud* (GUÉRIOS e SPREA, 2003).

A insuficiência renal crônica é a forma mais comum de afecção renal em cães, determinando lesões estruturais irreversíveis nos rins, que é acompanhada por sinais prolongados de azotemia e uremia. É comum encontrar úlceras na cavidade oral, gastrite, anemia e muitas outras alterações morfofuncionais em cães com IRC (JUBB et al, 1993 e POLZIN et al, 1997). De acordo com LEWIS et al (1987) *apud* KRAWIEC et al (1999) a insuficiência renal constitui a segunda causa principal de morte não acidental em cães, e a idade média para o início da IRC é de 6,95 anos.

Os cães idosos possuem rins com tamanho e peso menor do que os indivíduos mais jovens, isto se deve à diminuição do número de glomérulos

funcionais, à diminuição do tamanho e peso dos túbulos e da proliferação do mesângio e da fibrose (COWGILL e SPANGLER, 1981; SAMIY, 1983). Essas alterações morfológicas levam a uma diminuição do fluxo sanguíneo renal, diminuição da filtração glomerular, perda da capacidade de concentrar a urina e diminuição da capacidade de manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico e ácido-básico (SAMIY, 1983). Um dos mecanismos propostos para a diminuição da função renal associada ao envelhecimento, é a ingestão de alimentos ricos em proteínas, sendo, portanto, a proteinúria um sinal clínico identificável de envelhecimento renal, e está associada com lesões renais estruturais significativas (SAMIY, 1983).

O mecanismo que ativa a doença glomerular crônica se dá através de um grande número de citocinas e fatores de crescimento que são produzidos pelas células residentes ou pelas células que invadem o glomérulo, tanto na forma aguda como na doença glomerular crônica. Em seguida estes atingem o mesângio através dos capilares e finalmente podem atingir o interstício periglomerular após atravessarem a cápsula de Bowman. No compartimento túbulo-intersticial esses fatores fazem a quimiotaxia de células inflamatórias mononucleares que por sua vez ativam as células epiteliais tubulares bem como os fibroblastos (D' AMICO, 1998).

ORISIO et al (1993) e ONG et al (1993), comentam que o epitélio tubular produz vários fatores de crescimento, entre eles a endotelina 1, que age não somente na quimiotaxia de leucócitos, mas pode contribuir diretamente na ativação dos fibroblastos intersticiais residentes. Todavia, a secreção do fator de crescimento transformante beta (TGF- β) e o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) por linfócitos T e monócitos no interstício, é

provavelmente o mais importante mecanismo que estimula os fibroblastos residentes, favorecendo assim a sua proliferação, levando a alterações morfológicas e funcionais (STRUTZ e MULLER, 1995).

As alterações túbulo-intersticiais podem ser o maior determinante da progressão do dano renal (HOSTETTER, 1995; NATH, 1992; NATH, 1998; YEE et al, 1991; CAMERON, 1992; JONES e ALLISON, 1992; STRUTZ e MULLER, 1995; BOHLE et al, 1996). Entretanto, FINCO et al (1999) comentam que as alterações túbulo-intersticiais não são somente um meio de prognóstico para a progressão, mas o fator principal no evento que conduz à progressão da doença renal.

4. ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS NO PACIENTE COM IRC

Estudos clínicos com cães e gatos têm evidenciado a importância da integridade renal na remissão dos processos anêmicos. PECHEREAU et al (1997), estudando grupos de gatos e cães clinicamente saudáveis, anêmicos e anêmicos com insuficiência renal crônica (IRC), observaram que os gatos que apresentavam apenas anemia, exibiam concentração plasmática de eritropoetina significativamente elevada (354 mU ml^{-1}) e nos gatos com anemia e insuficiência renal crônica, a concentração plasmática de eritropoetina não era afetada ($6,6 \text{ mU/ml}^{-1}$). Os resultados da concentração plasmática de eritropoetina obtidos em cães anêmicos ($7,7 \text{ mU/ml}^{-1}$) foram semelhantes à dos normais ($7,2 \text{ mU/ml}^{-1}$), enquanto que nos cães com insuficiência renal ($4,8 \text{ mU ml}^{-1}$) e nos anêmicos com I.R.C. ($4,8 \text{ mU ml}^{-1}$), a diminuição deste hormônio foi idêntica. Resultados semelhantes foram descritos em cães com insuficiência

renal crônica experimental, nos quais se verificou redução de cerca de 30% na concentração plasmática de eritropoetina (PETRITES-MURPHY et al, 1989).

Cães com doença renal crônica ou com doença renal em estágio terminal geralmente apresentam anemia normocítica normocrômica não regenerativa, com volume globular em torno de 20% a 30%, contudo em animais que sobrevivem por vários meses, a anemia é progressiva e o volume globular diminuir abaixo de 10%, e o aspirado de medula óssea revela hipoplasia da série eritrocítica (JAIN, 1993).

A anemia é comum em pacientes que sofrem de IRC, sendo a principal causa de aumento de doença cardiovascular e morte nesses pacientes. A anemia é do tipo normocítica e normocrômica, hipoproliferativa e o número de reticulócitos está diminuído (KAYE, 1957 e LOGE et al, 1958) *apud* (BONOMINI e SIROLLI, 2003). KING et al (1992), considera um cão anêmico, quando este apresenta concentração de hemoglobina abaixo de 12 g/dL e hematócrito abaixo de 35%.

Segundo ERSLEV E BESARAB (1997), em pacientes humanos com IRC, a anemia está invariavelmente presente, todavia a severidade da anemia está diretamente relacionada com a severidade da azotemia, que se manifesta pelo aumento da concentração de uréia e de creatinina no plasma.

As causas de anemia em cães com IRC são multifatoriais, incluindo a diminuição da meia vida dos eritrócitos, distúrbios nutricionais, como a deficiência de ferro e ácido fólico, substâncias inibidoras da eritropoiese no plasma urêmico (toxinas urêmicas), perda de sangue e mielofibrose. Entretanto a deficiência de eritropoetina é a principal causa de anemia tanto em seres

humanos como em animais com IRC (COWGILL, 1992; JUBB et al, 1993; COWGILL, 1995; POLZIN et al, 1997).

5. METABÓLITOS URÊMICOS

Existe uma discussão a respeito de como os solutos urêmicos de retenção (denominadas de toxinas urêmicas), contribuem na patogênese da anemia durante a IRC. A elevada concentração plasmática de eritropoetina em alguns pacientes anêmicos com IRC terminal sugere uma supressão da medula óssea, a qual não responde a ação da eritropoetina (CARO et al, 1979; RADTKE et al, 1980 e MCGONIGLE et al, 1984).

O aumento do hematócrito após o início do tratamento com diálise (ESCHBACH et al, 1970 e RADTKE et al, 1980), e uma inibição dose dependente de células da medula óssea em cultura expostas ao plasma urêmico (WALLNER et al, 1976) e (WALLNER et al, 1978), sustenta a tese de que os compostos tóxicos no plasma urêmico suprimem a eritropoiese.

Os estudos de FISHER et al (1968), MORIYAMA et al (1970), LINDEMANN (1971), MORIYAMA e FISHER (1975), WALLNER et al (1976), e WALLNER et al (1981), corroboram ainda mais, a teoria de que os solutos urêmicos inibem a eritropoiese, pois estes verificaram uma inibição na síntese da molécula de heme no plasma de pacientes urêmicos. De acordo com WALLNER et al (1975), as células da medula óssea de pacientes normais e dos com IRC terminal respondem similarmente a eritropoetina, mas a síntese total da molécula de heme é significativamente menor nas culturas de células preparadas com soro urêmico.

A azotemia é a concentração anormal de uréia, creatinina, ou outras substâncias nitrogenadas não protéicas no sangue, enquanto que, a uremia é caracterizada pelas manifestações clínicas destes metabólitos elevados no sangue. A azotemia pode ocorrer quando a estrutura do parênquima renal e a função estão normais, quando a estrutura do parênquima está normal e a função renal está comprometida e ou quando a estrutura e a função estão anormais (POLZIN e OSBORNE, 1995). Os mesmos autores citados acima, relatam ainda que a azotemia pode ser causada por fatores que não estão diretamente relacionados com o sistema urinário, e por anormalidades nos órgãos do trato urinário inferior, não ligados diretamente com os rins; portanto o termo azotemia não deve ser usado como sinônimo de falência renal ou uremia.

Deve-se ressaltar que a taxa de produção de uréia e creatinina endógena são constantes, logo a azotemia resulta na diminuição da filtração glomerular. Portanto, todo e qualquer fator que leve a diminuição da filtração glomerular, como por exemplo, a diminuição do fluxo sanguíneo, diminuição da pressão sanguínea, diminuição da pressão colóido-osmótica, número de capilares e arteríolas, permeabilidade dos capilares glomerulares, pressão intersticial e pressão intratubular, pode levar a azotemia (POLZIN e OSBORNE, 1995).

Estudo clássico de Johnson et al (1972) *apud* VANHOLDER e SMET (1999), demonstrou que os sinais clínicos aumentam em pacientes que fazem hemodiálise, quando a concentração de uréia é alta. LIM et al (1995) *apud* VANHOLDER e SMET (1999), constatou que a concentração elevada de uréia inibia a bomba iônica em hemácias de humanos. A concentração elevada de

uréia extracelular diminui a produção de AMPc (BAUDOUIN-LEGROS et al, 1996), além de diminuir a ligação do oxigênio com a hemoglobina devido a ligação com o 2,3-difosfoglicerato (MONTI et al, 1995). Outro agravante é que a uréia dá origem a outros solutos urêmicos como os derivados guanidínicos, especialmente o ácido guanidilsuccinico (VANHOLDER e SMET, 1999).

BRAUN et al (2003), relatam que a análise da creatinina plasmática é o método analítico mais usado nos laboratórios para mensurar de forma indireta a taxa de filtração glomerular tanto no homem quanto nos animais. A creatinina é uma molécula solúvel em água, e que é formada a partir do metabolismo dos aminoácidos glicina, arginina, e metionina e parcialmente do suprimento alimentar (BRAUN et al, 2003).

A creatinina é livremente filtrada pelo glomérulo, assim a concentração do filtrado glomerular é idêntica à plasmática. A Creatinina é pobremente secretada pelos túbulos proximais em cães (O'CONNELL, 1962; SHANNON et al, 1932 e SWANSON et al, 1962), especialmente nos machos (ROBINSON et al, 1974), mas isto é de importância desprezível (WATSON et al, 2002; GREENBERG et al, 1952; SAPIRSTEIN et al, 1955; SCHLOERB, 1960; LABATO e Ross, 1991), mesmo nos machos com insuficiência renal crônica (FINCO et al, 1991).

A mensuração da creatinina plasmática é mais eficiente do que à concentração de uréia plasmática para o diagnóstico de IRC (Biewenga e Van DER BROM,1981), além do que, ALLEN et al (1987) comentam que a creatinina plasmática é eficiente no monitoramento da progressão da IRC e no tratamento, como por exemplo na hemodiálise (MASHITA et al, 1997). Em cães com IRC a creatinina aumenta progressivamente com o tempo, contudo

variações interindividuais são marcantes, e em alguns cães a creatinina plasmática não oferece prognóstico satisfatório do ritmo de filtração glomerular (FINCO et al, 1999).

Não há diferenças na concentração da creatinina urinária entre o dia ou à noite (MCCAW et al, 1985). JERGENS et al (1987), relata que mesmo após a alimentação o nível de creatinina urinária não aumenta, entretanto, UECHI et al (1994), comentam que o nível de creatinina na urina aumenta após a alimentação. A concentração de creatinina na urina apresenta grande variação entre indivíduos, mesmo quando mensurada por um período de 24 horas (BARSANTI e FINCO, 1979; UECHI et al, 1997; CENTER et al, 1985). A creatinina total eliminada na urina difere muito nos estudos, com taxa de excreção média de 170 a 425 $\mu\text{mol/kg/d}$ (WATSON et al, 2002; UECHI et al, 1994; BARSANTI e FINCO, 1979; UECHI et al, 1997), essas diferenças podem ocorrer devido à composição do alimento, logo cães alimentados com uma dieta baseada em carne, contendo 31.4% de proteína, eliminam mais creatinina que os cães alimentados com dieta baseada em caseína apresentando 10,4% de proteína (BARTGES et al, 1995).

O sexo exerce pequeno ou nenhum efeito sobre a concentração plasmática de creatinina em cães, independente da idade (MATSUZAWA, 1993; BROULET et al, 1986; PASSING e BRUNK, 1981; TESKE et al, 1976).

Os resultados das pesquisas com relação ao efeito da idade na concentração plasmática de creatinina são conflitantes, a maioria destas indica que a concentração plasmática de creatinina diminui nos primeiros dias de vida, se estabiliza após os dois meses ou aumenta moderadamente após um ano (KUHL et al, 2000; KRAFT et al, 1996; NAP et al, 1991; WOLFORD

et al, 1998). A concentração plasmática de creatinina é estável (BROULET et al, 1986; KRAFT et al, 1996), ou aumenta moderadamente (STRASSER et al, 1997) nos cães adultos acima dos 8 a 10 anos de idade, em seguida ela diminui, desde que o peso corpóreo permaneça inalterado (FUKUDA et al, 1989; LOWSETH et al, 1990). Não foi observada nenhuma diferença na concentração plasmática de creatinina entre cães com idade entre 0.5-5.0 e 6.0-13.5 anos (STRASSER et al, 1993) ou em cães com menos de um ano e mais de nove anos de idade (VAJDOVICH et al, 1997).

Em raças de grande porte a concentração plasmática da creatinina é alta nos recém nascidos (KUHL et al, 2000). Nos cães adultos a concentração plasmática de creatinina aumenta conforme o peso corpóreo (CENTER et al, 1985; VAN DER BROM e BIENWEGA, 1981).

HARDY e OSBORNE (1979) indicam que a concentração plasmática de creatinina não é proporcional ao grau de desidratação e demonstra grande variação entre os indivíduos, todavia, ENGLISH et al (1980), comenta que a desidratação causa aumento na concentração plasmática da creatinina somente quando esta é maior 5%.

Cães que apresentam redução em 60% da massa de tecido renal apresentam duas vezes mais creatinina no plasma, entretanto, aqueles, com redução de 50% da massa renal não produzem alteração na concentração plasmática da creatinina por 4 anos, desde que seja mantida a quantidade de proteína na dieta (WATSON et al, 2002, LEFEBVRE et al, 1999).

MATERIAL E MÉTODO

MATERIAL E MÉTODO

1. Animais experimentais e colheita de material

O experimento foi realizado usando quinze cães hígidos (grupo controle) e quinze cães portadores de IRC (grupo com IRC). Todos os animais envolvidos no experimento eram adultos (variando de 3 a 17 anos), machos e fêmeas, de diferentes raças e sem raça definida. A alocação dos animais nos grupos foi feita com base no diagnóstico clínico e laboratorial de IRC, que inclui necessariamente, hemograma completo, bioquímica sérica (concentração de uréia e creatinina).

Foram colhidos fragmentos de medula óssea e rins dos cães do grupo controle e do grupo com IRC, dos animais atendidos no Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Campus de Botucatu-S.P., e no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Veterinário da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE no período de março de 2002 a fevereiro de 2004.

Os animais do grupo controle eram oriundos do canil da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, e as amostras dos rins eram colhidas após estes serem submetidos às aulas de técnica operatória.

As amostras de medula óssea dos cães portadores de IRC que vinham a óbito e davam entrada no serviço de anatomia patológica, eram colhidas da crista ilíaca através de incisão com serra, e as amostras dos cães do grupo controle foram colhidas com o auxílio de agulha para biópsia de medula óssea (agulha Jamishid).

2. Processamento histológico das amostras

As amostras de medula óssea e dos rins foram fixadas em solução de formalina a 10% tamponada, pH 7,0 por 24 a 48 horas, e depois lavadas em água corrente por 1 hora. Após isso, os fragmentos de tecido renal foram transferidos para uma solução de álcool 70%. Já as amostras de medula óssea foram inicialmente descalcificadas em solução de ácido fórmico a 5% por 5 a 8 horas para as amostras colhidas através de agulha, e por 24 a 48 para as amostras colhidas com o auxílio da serra. Em seguida, as amostras foram lavadas em água corrente por 1 hora, transferidas para água destilada (dois banhos de 30 minutos), e só então armazenadas em solução de álcool 70%. Os fragmentos de medula óssea e dos rins preservados em álcool 70% foram processados conforme a técnica de rotina histológica para microscopia óptica e inclusão em parafina. Com o auxílio do micrótomo rotativo secções de 2 a 3 μm de espessura de todas as amostras foram obtidas. Os cortes de medula óssea foram corados pelos métodos da hematoxilina e eosina e do Giemsa. As secções dos rins foram coradas pelos métodos da hematoxilina e eosina, tricrômio de Masson, ácido periódico de Schif (P.A.S.) e prata metanamina. Todas as colorações seguiram o protocolo de TOLOSA et al (2003).

3. Quantificação dos precursores eritróides na medula óssea

A avaliação quantitativa dos precursores eritróides na medula óssea, foi feita com base na contagem de células precursoras eritróides (eritroblasto, rubricito basófilo, rubricito policromatófilo e metarubricito) em 10 espículas ósseas de cada amostra, em microscópio óptico no aumento de 100x. Os resultados das contagens dos precursores eritróides foram expressos em termos da média do número de células por espícula óssea.

A quantificação dos precursores eritróides baseou-se nas características morfo-tintoriais conforme a descrição de JAIN (1993) e YAWATA (1998), onde os **eritroblastos** (Fig. A) são células redondas apresentando citoplasma escasso de coloração azul-escuro, o núcleo é central ou excêntrico e ocupa a maior parte da célula, a cromatina é delicada e de coloração avermelhada, a presença de nucléolo ou anel nucleolar é característico desta célula; o **rubricito basófilo** (Fig. A) é uma célula pequena com citoplasma escasso de coloração azul, cromatina nuclear condensada e separada por um halo claro, tendo a aparência de roda de carroça; já o **rubricito policromatófilo** (Fig. B) apresenta-se como uma célula pequena com citoplasma de coloração azul-claro ou cinza devido à síntese pronunciada de hemoglobina. Núcleo com cromatina nuclear intensamente condensada, o qual aparece como um corpo escuro separado por um halo claro e o **metarubricitos** (Fig. B) é reconhecido por apresentar um núcleo picnótico ou parcialmente fragmentado deslocado para a periferia, citoplasma de coloração acinzentado ou rosado devido à intensa síntese de hemoglobina.

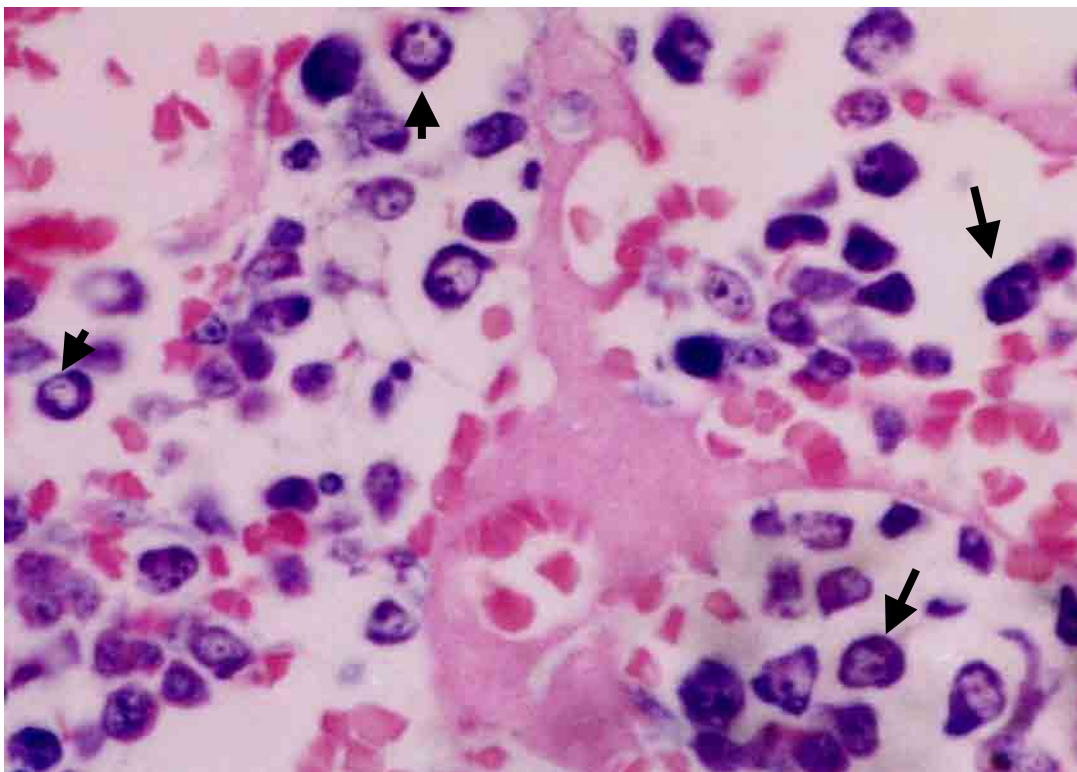


Figura A – Fotomicrografia de medula óssea de cão mostrando eritroblastos com citoplasma azul-escuro, núcleo vesicular com nucléolo central (seta maior) e rubricito basófilo (seta menor), com citoplasma basofílico e com nucléolo ausente (Giemsa – 40X).

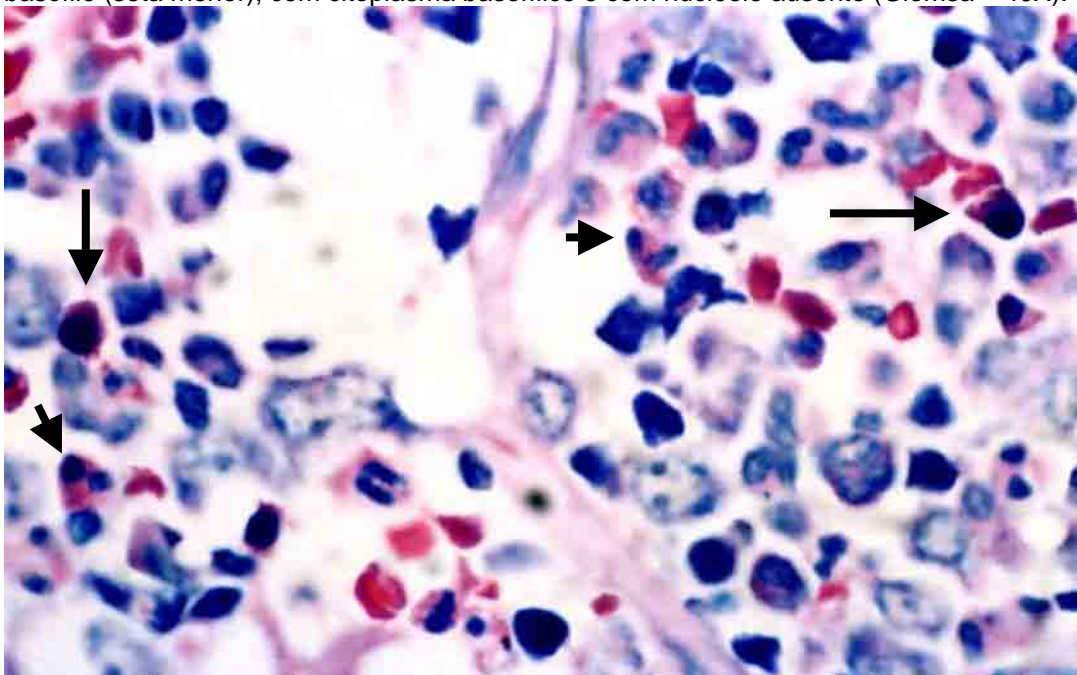


Figura B – Fotomicrografia de medula óssea de cão mostrando rubricitos policromatófilos com citoplasma variando de levemente basofílico à eosinofílico, núcleo com cromatina condensada (seta maior) e metarubricito (seta menor), com citoplasma intensamente eosinofílico e núcleo picnótico e deslocado para a periferia (Giemsa – 40X).

4. Análise quantitativa e qualitativa dos rins e da medula óssea

A análise histopatológica dos rins, nos animais do grupo controle e nos animais portadores de IRC, se baseou na observação das alterações glomerulares, tubulares e intersticiais e na caracterização do infiltrado inflamatório (anexo 3 e 4), conforme protocolo utilizado por LAUFER (1997).

As alterações glomerulares analisada foram: espessamento difuso da parede glomerular, acentuação da arquitetura lobular, simplificação da arquitetura lobular, aumento de matriz mesangial, obliteração da luz capilar, espessamento de membrana basal, hiperplasia de células endoteliais, hiperplasia de células epiteliais, hiperplasia de células mesangiais, formação de crescentes, sinéquias, esclerose glomerular. **As alterações tubulares e intersticiais** avaliadas incluem a regeneração do epitélio tubular, degeneração tubular, necrose tubular, fibrose intersticial, atrofia tubular, tireoidização e dilatação tubular. E a análise morfológica do **infiltrado inflamatório** foi feita com base na distribuição (focal, multifocal e difuso), quanto à localização (intersticial, periglomerular e peritubular) e quanto ao tipo celular (linfocitário, plasmocitário, linfoplasmocitário e neutrofílico), como mostra a Tabela 1. Todas as alterações renais foram classificadas em leve (+), moderada (++) e acentuada (+++).

Já os resultados de contagem dos precursores eritróides na medula óssea, baseou-se na diferenciação do eritroblasto, rubricito basófilo, rubricito policromatófilo e do metarrubricito com base nas características morfo-tintoriais destes quando corados pelo Giemsa. Para tanto foi feito a contagem diferencial dos precursores eritróides em dez espículas ósseas, e posteriormente calculado a média para cada animal (anexo 5 e 6).

5. Análise Estatística

Os resultados das alterações hematológicas dos animais dos grupos controle e doente foram comparadas pelo teste T de Student, enquanto as lesões renais foram comparadas entre os dois grupos pelo teste de Mann-Whitney. A relação entre as variáveis hematológicas e as alterações histopatológicas, bem como entre as variáveis da série eritróide e as alterações histopatológicas foi verificada pelo teste de correlação de Spearman. Para todas as determinações foi considerado um $\alpha = 0,05$ (TRIOLA, 1999).

RESULTADOS

3. RESULTADOS

1. ANÁLISE DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

A concentração de hemácias nos animais do grupo controle variou de $4,59 \times 10^6/\mu\text{L}$ a $7,97 \times 10^6/\mu\text{L}$, e a média foi de $6,2 \times 10^6/\mu\text{L}$. Já a concentração de hemoglobina neste mesmo grupo variou de 10,3 g/dL a 18,4 g/dL e a média do grupo foi de 14,35 g/dL, e o volume globular variou de 31 a 55%, tendo como a média do grupo 43,93%. Em relação aos parâmetros bioquímicos dos animais do grupo controle, a concentração plasmática de uréia variou de 21 a 45 mg/dL e a de creatinina de 0,5 a 1,2 mg/dL, sendo a média 33,65mg/dL e 0,89mg/dL respectivamente. Apesar de todos os animais do grupo controle estarem clinicamente hígidos e com a função renal dentro dos parâmetros normais, 13,33% (2 animais) mostraram anemia, do tipo normocítica normocrômica e o restante dos animais (13 animais), não exibiam nenhuma alteração hematológica, bioquímica bem como na função renal.

Nos animais do grupo com IRC a concentração de hemácias variou entre $0,3 \times 10^6/\mu\text{L}$ a $6,81 \times 10^6/\mu\text{L}$ e média do grupo foi de $3,5 \times 10^6/\mu\text{L}$, já a concentração de hemoglobina variou entre 3,3 g/dL a 17,1 g/dL, tendo como média 9,05 g/dL. Quanto ao volume globular, a variação do grupo ficou entre 11 a 48 % e a média foi de 26,25 %. Em relação à concentração plasmática de uréia, esta variou de 42,7 a 444,7 mg/dL, tendo como média 277,85 mg/dL, enquanto que, a concentração plasmática de creatinina variou de 0,6 a 21,5 mg/dL, tendo como média 7,03 mg/dL. Vale ressaltar que dois animais (13,33%), apesar de apresentaram IRC, a concentração de uréia e creatinina permaneceram dentro dos padrões de normalidade.

Dos quinze animais do grupo com IRC, 80% destes (12 animais) exibiam quadro de anemia, sendo 46,66% do tipo normocítica normocrômica, 20% macrocítica hipocrômica, 6,66% mostram anemia microcítica normocrômica e 6,66% do tipo macrocítica hipocrômica. Contudo 20% (3 animais), não exibiam quadro de anemia.

2. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO RIM

Quanto à caracterização do processo patológico nos animais com IRC, houve um predomínio da glomerulonefrite crônica, seguida da glomerulonefrite proliferativa mesangial, glomerulonefrite membranoproliferativa e da glomerulonefrite membranosa com 46,66%, 26,66%, 13,33% e 13,33% dos animais respectivamente. Vale ressaltar ainda que 73,33% dos animais exibiam nefrite intersticial crônica e 20% apresentavam nefrite intersticial focal.

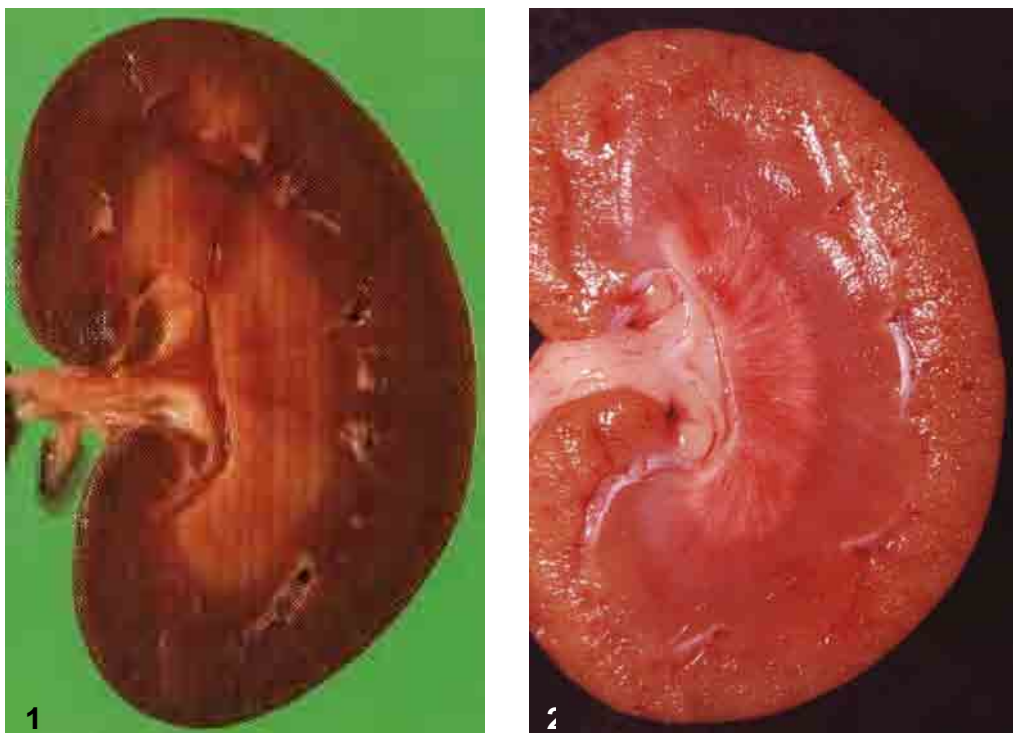


Figura 1 e 2 – Fig. 1. Rim de cão com aspecto normal, com distinção clara da zona cortical (camada vermelho escura) e medular (camada clara); Fig. 2. Rim canino com IRC, com córtex esbranquiçado e aspecto granular.

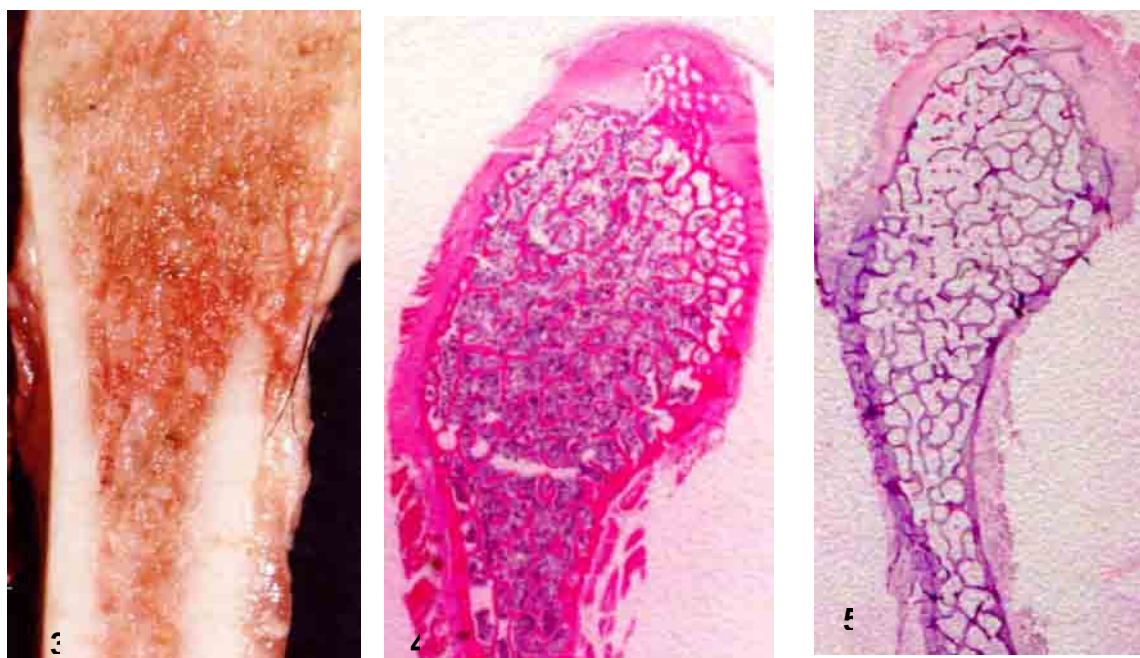


Figura 3 - 5. Fig. 3. Fragmento de medula óssea de cão adulto hígido; Fig. 4. Biopsia de medula óssea de cão adulto hígido (HxÉ) - digitalização – 1200; Fig. 5. Biopsia de medula óssea de cão adulto mostrando aplasia total (Giemsa) –digitalização – 1200 dpi.

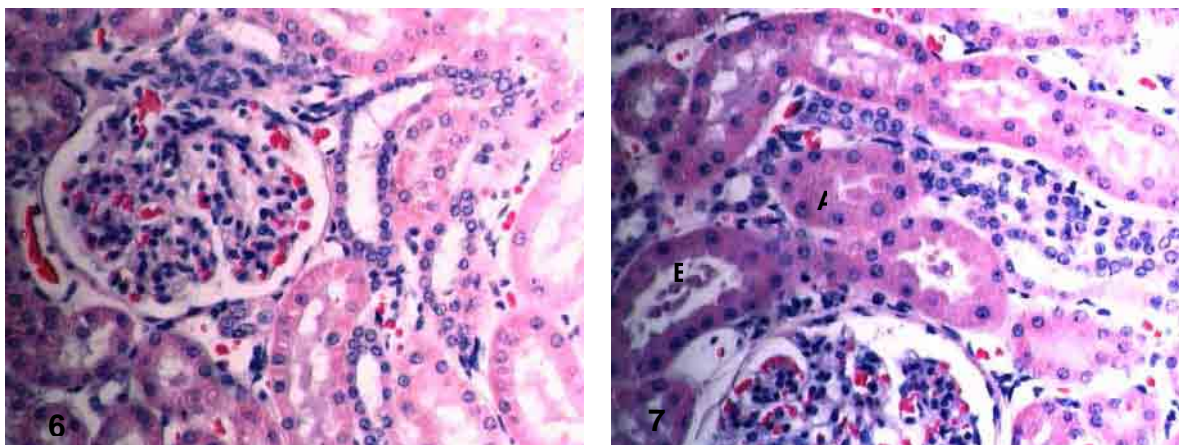


Figura 6 e 7– Aspecto microscópico dos rins dos animais do grupo controle. Fig. 6. Aspecto normal do glomérulo e ausência de reação inflamatória periglomerular, HxE (20X). Fig. 7. Túbulo contorcido proximal (A) e distal (B) dentro dos padrões de normalidade e com ausência de reação inflamatória intersticial. HxE (20X).

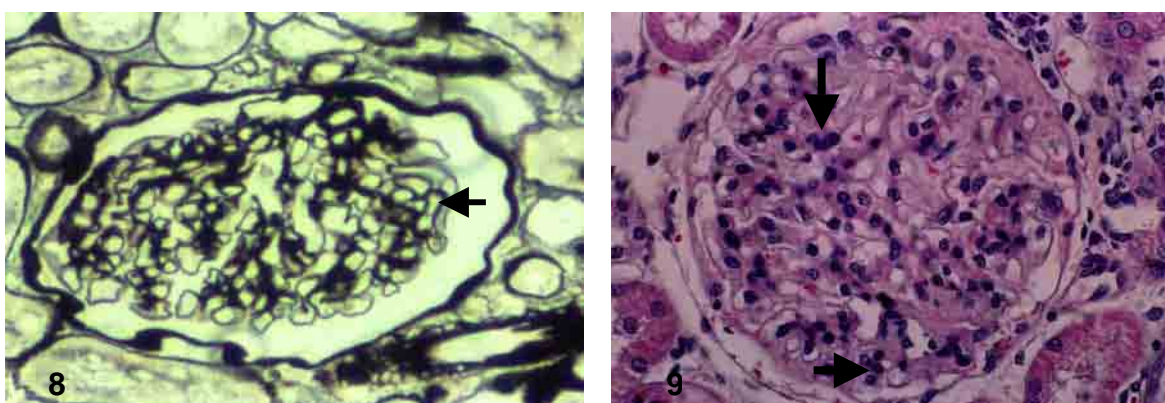


Figura 8 e 9 – Fig. 8. Glomerulonefrite membranosa, espessamento multifocal da parede capilar (seta), Prata metenamina (40X). Fig. 9. Espessamento da parede capilar e hiperplasia de células mesangiais (setas), HxE (40X).

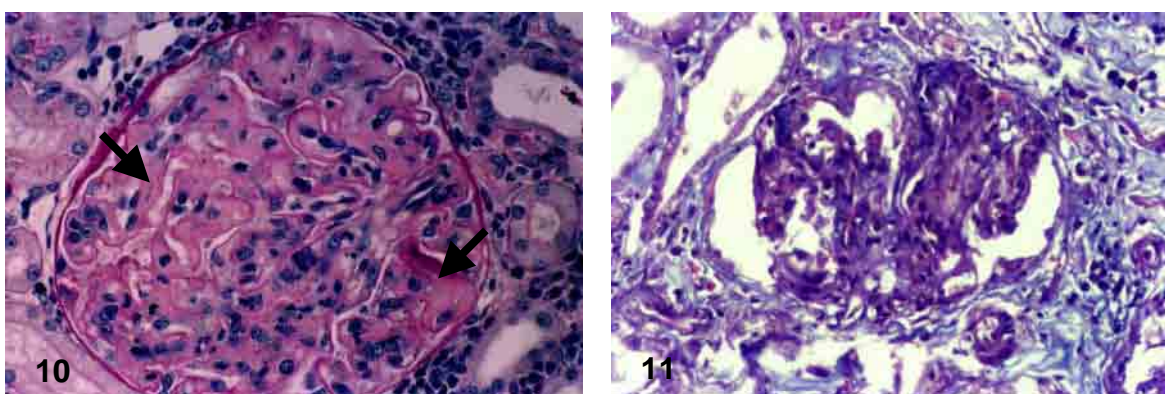


Figura 10 e 11 – Fig. 10. glomerulonefrite mesangial, proliferação difusa da matriz mesangial (setas), PAS (40X). Fig. 11. glomerulonefrite crônica, e esclerose glomerular, tricrômio de Masson (40X).

3. ALTERAÇÕES GLOMERULARES

3.1 Animais do grupo controle

Nos animais do grupo controle as alterações glomerulares observadas foram: aumento da matriz mesangial, obliteração da luz capilar, espessamento da membrana basal, hiperplasia de células epiteliais (alteração restrita ao epitélio da cápsula de Bowman), hiperplasia de células mesangiais, presença de sinéquias e esclerose glomerular (associado a infarto renal). Dentre as alterações glomerulares, as que apresentaram maior frequência foi à hiperplasia das células mesangiais com 53,3 %, seguido do aumento da matriz mesangial com 40% e as sinéquias também com 40%. As alterações glomerulares observadas nos animais do grupo controle, bem como a frequência de distribuição destas estão representadas na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição das alterações glomerulares nos animais do grupo controle

ALTERAÇÕES GLOMERULARES	LEVE	MODERADA
	(+)	(++)
	Frequência (%)	Frequência (%)
Aumento da matriz mesangial	40	-
Obliteração da luz capilar	6,66	-
Espessamento da membrana basal	66,66	6,66
Hiperplasia de células epiteliais	13,3	-
Hiperplasia de células mesangiais	53,3	6,66
Sinéquias	40	13,3
Esclerose glomerular	6,66	-

3.2 Animais do grupo com IRC

Nos animais portadores de IRC as alterações glomerulares, variaram de leve a acentuada, contudo, houve um predomínio das lesões de caráter moderado a acentuado. Dentre as alterações glomerulares de caráter leve, as que mostraram maior frequência foi hiperplasia de células epiteliais (epitélio da cápsula de Bowman) e a formação de crescente com 20%, seguido do aumento da matriz mesangial e do espessamento de membrana basal com

13,33% de frequência. Nas alterações de caráter moderado e acentuado, 100% dos animais apresentaram sinéquias, 93,33% mostravam obliteração da luz capilar (sendo 60% de caráter moderado e 33,33% acentuado), 86,66% destes tinham hiperplasia de células mesangiais (33,33% com lesões moderadas e 53,33% com lesões acentuadas). O aumento da matriz mesangial foi vista em 80% dos animais (onde 20% destes apresentavam lesões moderadas e 60% mostravam lesões de caráter acentuado), foi encontrado ainda espessamento da membrana basal e esclerose glomerular em 79,99% dos animais (onde 26,66% apresentavam lesões de caráter moderado e 53,33% mostravam lesões acentuadas), como pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição das alterações glomerulares nos animais com IRC

ALTERAÇÕES GLOMERULARES	LEVE	MODERADA	ACENTUADA
	(+)	(++)	(+++)
	Frequência (%)	Frequência (%)	Frequência (%)
Espessamento difuso da parede capilar	6,66	46,66	33,33
Acentuação da arquitetura lobular	-	13,33	6,66
Simplificação da arquitetura lobular	6,66	26,66	26,66
Aumento de matriz mesangial	13,33	20	60
Obliteração da luz capilar	6,66	60	33,33
Espessamento de membrana basal	13,33	26,66	53,33
Hiperplasia de céls. Endoteliais	6,66	6,66	-
Hiperplasia de células epiteliais	20	33,33	13,33
Hiperplasia de células mesangiais	6,66	33,33	53,33
Formação de crescentes	20	26,66	20
Sinéquias	-	40	60
Esclerose glomerular	13,33	26,66	53,33

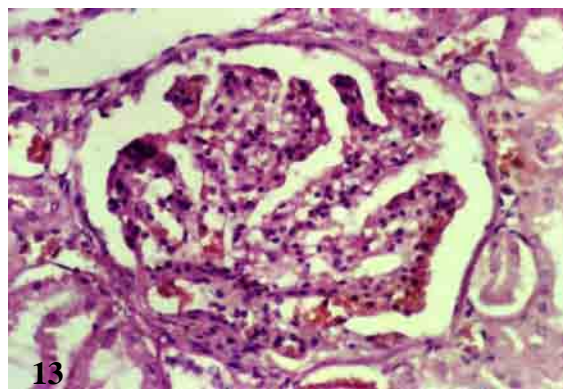
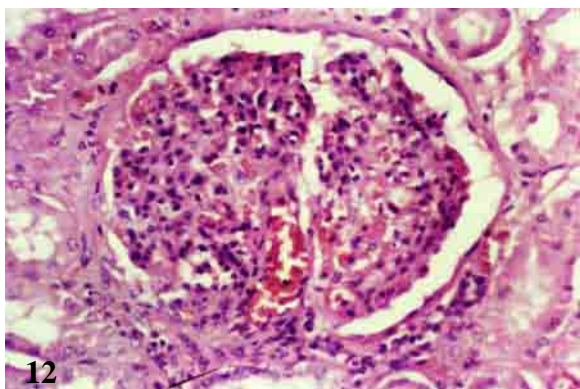


Figura 12 e 13 – Fig. 12. Glomérulo mostrando simplificação da arquitetura lobular, com diminuição do espaço de Bowman, HxE (40X). Fig. 13. Glomérulo exibindo acentuação da arquitetura lobular, HxE (40X).

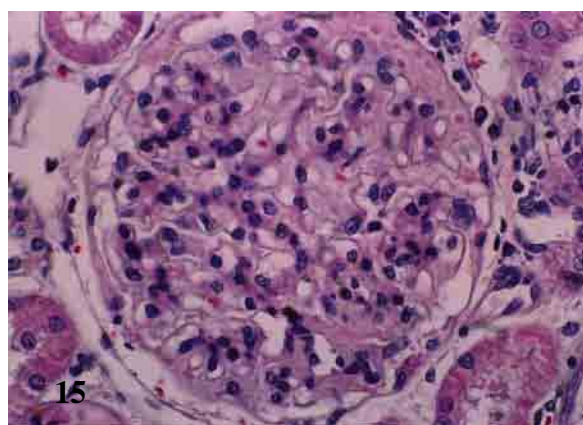
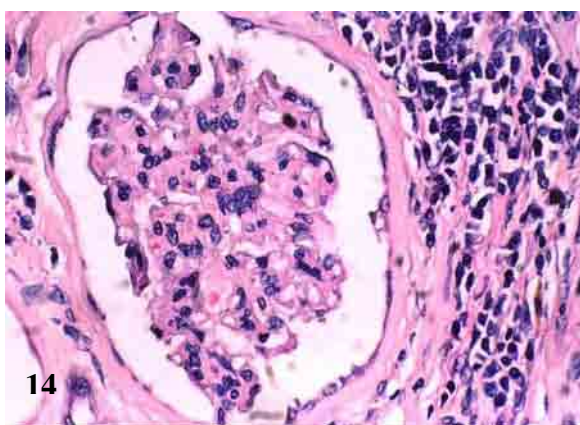


Figura. 14 e 15 – Fig. 14. Hiperplasia de células epiteliais da cápsula de Bowman e infiltrado inflamatório periglomerular, HxE (40X). Fig. 15. Hiperplasia de células mesangiais e espessamento da parede dos capilares glomerulares, HxE (40X).

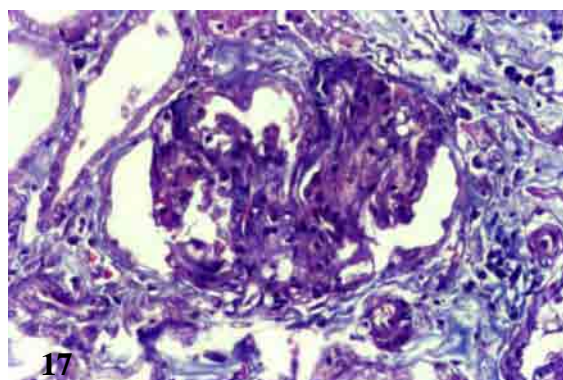
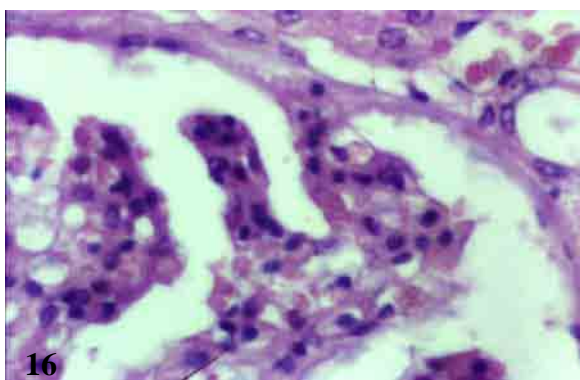


Figura. 16 e 17 – Fig. 16. Glomérulo mostrando sinéquia e espessamento da cápsula de Bowman, HxE (100X). Fig. 17. Esclerose glomerular, com proliferação de tecido conjuntivo no tufo glomerular e na região periglomerular, Tricrômio de Masson (40X).

4. ALTERAÇÕES TUBULARES E INTERSTICIAIS

4.1 Animais do grupo controle

Dentre as lesões tubulares e intersticiais nos animais do grupo controle, 33,33% mostraram, degeneração tubular de caráter leve, a necrose do epitélio tubular e a fibrose intersticial uma freqüência de 33,33% e 6,66% de caráter moderado, já a necrose do epitélio tubular apareceu em 6,66% dos animais, sendo de caráter moderado e a fibrose intersticial mesmo de caráter leve, ocorreu em 20% dos animais. Como visto nas alterações glomerulares, as lesões tubulares e intersticiais também mostraram predomínio de alterações de caráter leve, como mostra a tabela 3.

Tabela 3. Alterações tubulares e intersticiais nos animais do grupo controle.

ALTERAÇÕES TUBULARES E INTERSTICIAIS	LEVE (+)	MODERADA (++)
	Freqüência (%)	Freqüência (%)
Degeneração tubular	33,33	6,66
Necrose do epitélio tubular	-	6,66
Fibrose intersticial	20	-

4.2 Animais do grupo com IRC

A análise das alterações tubulares e intersticiais nos animais do grupo com IRC mostra que 99,99% destes apresentam necrose tubular, dilatação tubular e fibrose intersticial, independente da gravidade da lesão. Contudo, houve um predomínio das alterações de caráter acentuado. Foi visto ainda que 93,32% dos animais com IRC apresentavam tireoidização (onde 13,33% era tireoidização de caráter leve, 6,66% de caráter moderado e 73,33% dos animais mostraram tireoidização de caráter acentuado), e 79,99% destes apresentavam também degeneração tubular e atrofia do epitélio tubular. Vale ressaltar que 60,01% dos animais com IRC não mostraram regeneração do epitélio tubular. À frequência das outras alterações tubulares estão descritas na tabela 4.

Tabela 4. Alterações tubulares e intersticiais nos animais do grupo com IRC.

ALTERAÇÕES TUBULARES E INTERSTICIAIS	LEVE	MODERADA	ACENTUADA
	(+)	(++)	(+++)
	Frequência (%)	Frequência (%)	Frequência (%)
Regeneração do epitélio tubular	13,33	20	6,66
Degeneração tubular	20	46,66	13,33
Necrose tubular	6,66	66,66	26,66
Fibrose intersticial	6,66	33,33	60
Atrofia do epitélio tubular	13,33	60	6,66
Tireoidização	13,33	6,66	73,33
Dilatação tubular	20	6,66	73,33

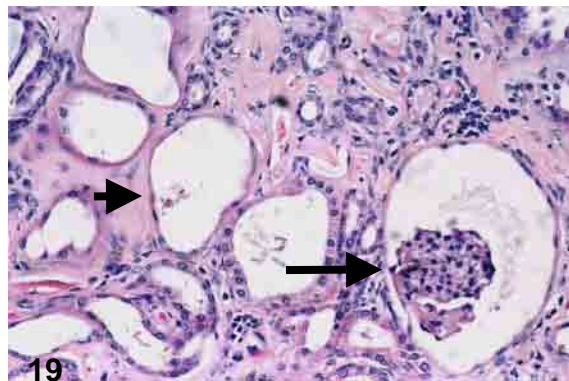


Figura 18 e 19 - Fig. 18. Fragmento de rim mostrando dilatação tubular, digitalização - HxÉ (1200 dpi). Fig 19. Fotomicrografia da imagem anterior mostrando dilatação tubular (seta curta) e atrofia glomerular (seta maior), HxÉ -20X.

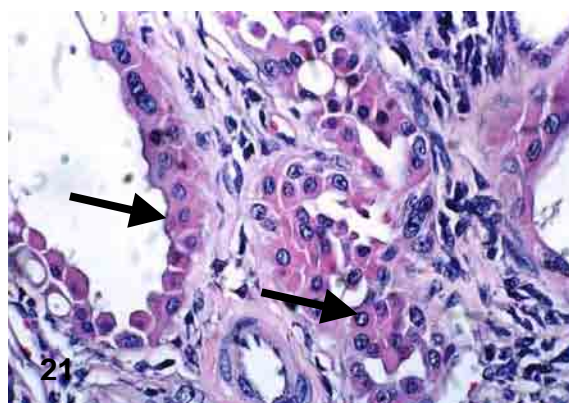
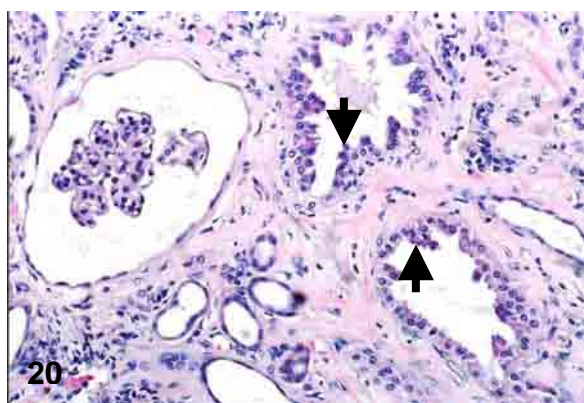


Figura 20 e 21 - Fig. 20. Corte de rim mostrando regeneração do epitélio tubular (setas curtas), fibrose intersticial e dilatação tubular, HxÉ -20X. Fig. 21. Regeneração do epitélio tubular (setas longas), HxÉ (40X).

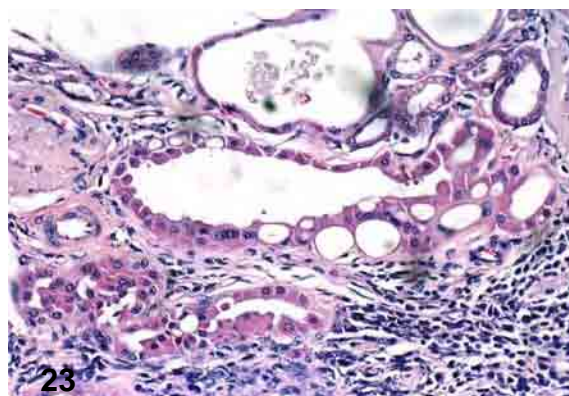
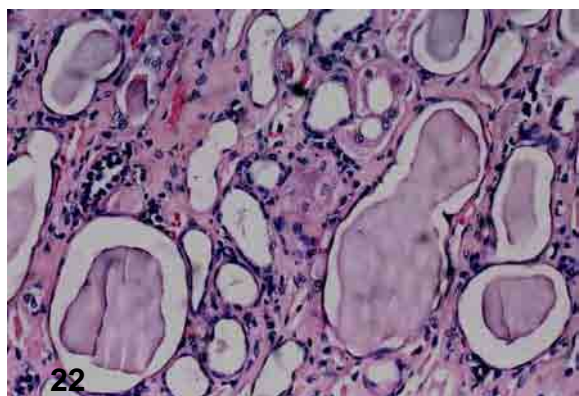


Figura 22 e 23 - Fig. 22. Túbulos renais apresentando tireoidização e atrofia do epitélio tubular, HxÉ (20X). Fig. 23. Fotomicrografia mostrando dilatação tubular e atrofia do epitélio (parte superior da imagem), regeneração do epitélio tubular (centro da imagem) e nefrite intersticial (parte inferior da imagem).

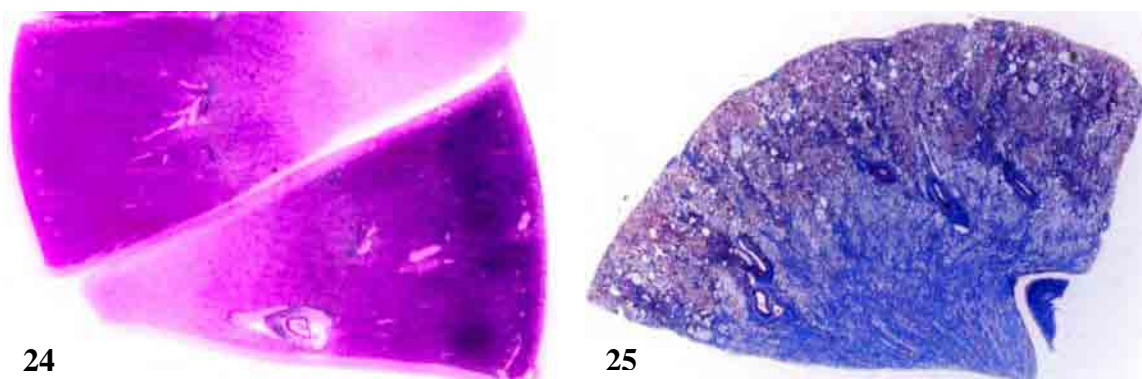


Figura 24 e 25 – Fig. 24. Fragmentos de rim corados pelo Tricrômio de Masson, mostrando padrão normal, digitalização (1200dpi). Fig. 25. Fragmento de rim corado pelo Tricrômio de Masson, mostrando fibrose acentuada, digitalização (1200dpi).

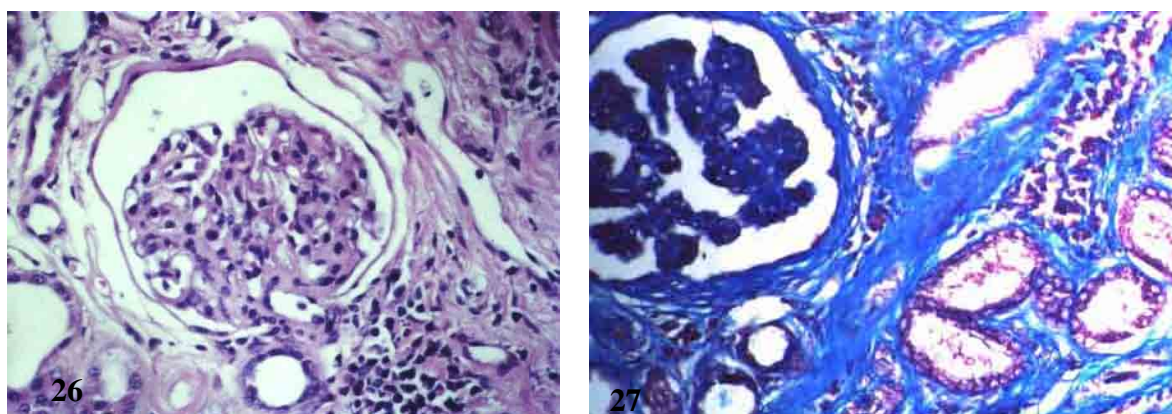


Figura 26 e 27 – Fig. 26. Fotomicrografia mostrando esclerose glomerular, fibrose intersticial e infiltrado inflamatório periglomerular, HxE (20X). Fig. 27. Fotomicrografia mostrando fibrose peritubular acentuada e esclerose glomerular, Tricrômio de Masson (20X).

5. INFILTRADO INFLAMATÓRIO

5.1 Animais do grupo controle

Quanto à distribuição do infiltrado inflamatório, 46% dos animais do grupo controle apresentaram alterações focais de caráter leve, 20% exibiram alterações multifocais de caráter leve e 6,66% destes mostraram alterações multifocais de caráter moderado. Vale ressaltar que 26,68% dos animais não apresentaram alterações inflamatórias. Com relação à localização, houve um predomínio do infiltrado inflamatório na região peritubular (53,33% dos animais) seguida da região periglomerular com 46,66% dos animais. Apesar da elevada frequência no número de animais do grupo controle com infiltrado inflamatório de localização peritubular e periglomerular, este achado morfológico foi de caráter leve. Dos animais que mostraram a presença de infiltrado inflamatório, 40% destes apresentavam também células inflamatórias com localização intersticial. Quanto ao tipo celular que compunha o infiltrado inflamatório, houve um predomínio do infiltrado linfoplasmocitário com 46,66% dos animais, e 26,66% destes mostravam infiltrado plasmocitário, como pode ser visto na tabela 5.

Tabela 5. Caracterização do infiltrado inflamatório nos animais controle

INFILTRADO INFLAMATÓRIO	LEVE	MODERADA
	(+)	(++)
	Frequência (%)	Frequência (%)
Quanto à distribuição		
Focal	46,6	-
Multifocal	20	6,66
Difuso	-	-
Quanto à localização		
Intersticial	40	-
Periglomerular	46,66	-
Peritubular	53,33	-
Quanto ao tipo celular		
Linfocitário	-	-
Plasmocitário	26,66	-
Linfoplasmocitário	46,66	-
Neutrofilico	-	-

5.2 Animais do grupo com IRC

Quanto à distribuição do infiltrado inflamatório 26,66% dos animais apresentaram alterações focais (sendo que 13,33% destes eram de caráter leve e 13,33% eram alterações focais de caráter moderado), 6,66% exibiam alterações multifocais de caráter leve, 26,66% dos animais mostraram alterações multifocais de caráter acentuado e 33,33% dos animais mostraram alterações difusas de caráter acentuado. Com relação à localização, não houve predomínio do infiltrado inflamatório na região peritubular, periglomerular e ou intersticial, pois os animais apresentavam o infiltrado inflamatório em todas as localizações analisadas, mas o infiltrado inflamatório de caráter moderado a acentuado predominou. Quanto ao tipo celular 46,66% dos animais apresentavam infiltrado inflamatório plasmocitário (sendo que destes 33,33% também possuíam áreas focais com infiltrado inflamatório linfocitário). Foi verificado ainda nos animais com inflamatório plasmocitário que 20% destes eram de caráter moderado e 26,66% exibiam de caráter acentuado. Já o infiltrado inflamatório linfoplasmocitário apareceu em 46,65% dos animais, onde 6,66% destes eram de caráter leve, 6,66% eram de caráter moderado e 33,33% exibiam caráter acentuado. Nenhum dos animais do grupo com IRC apresentou infiltrado inflamatório neutrofílico e 6,66% dos animais não exibiam qualquer processo inflamatório Tabela 6.

Tabela 6. Alterações do infiltrado inflamatório nos animais com IRC

INFILTRADO INFLAMATÓRIO	LEVE	MODERADA	ACENTUADA
	(+)	(++)	(+++)
	Frequência (%)	Frequência (%)	Frequência (%)
Quanto à distribuição			
Focal	13,33	13,33	-
Multifocal	6,66		26,66
Difuso	-	-	33,33
Quanto à localização			
Intersticial	6,66	26,66	33,33
Periglomerular	20	33,33	33,33
Peritubular	33,33	40	13,33
Quanto ao tipo celular			
Linfocitário	-	-	-
Plasmocitário	-	20	26,66
Linfoplasmocitário	6,66	6,66	33,33
Neutrofilico	-	-	-

6. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DA MEDULA ÓSSEA

Nos animais do grupo controle a contagem dos precursores eritróides, mostrou homogeneidade celular dentro das espículas, onde era possível visualizar todos os componentes do ambiente medular. A média dos precursores eritróides foi de 6,83 (\pm 4,03) para o eritroblasto, 18,73 (\pm 8,64) para o rubricito basófilo, 7,78 (\pm 1,98) para o rubricito policromatófilo e 4,28 (\pm 2,83) para o metarubricito.

Já a contagem dos precursores eritróides nos animais do grupo com IRC, não obedeceu a um padrão homogêneo, com depleção e produção celular multifocal, logo o número dos precursores eritróides variou grandemente entre as espículas ósseas, e em alguns animais houve dificuldade em observar todos os componentes do ambiente medular. A contagem dos precursores eritróides no grupo de animais com IRC variou de 2 a 23,6 eritroblastos, com média de 6,72 células; nos rubricitos basófilos a contagem variou de 1,7 a 68,7, com

média de 16,7 células; já nos rubríctos policromatófilos a variação foi de 1,9 a 22,3, com média de 8,09 células e nos metarubríctos a contagem variou de 2 a 221,5, com média de 20,56 células nas 10 espículas óssea avaliadas.

No caso particular do animal N113/01, observou-se proliferação acentuada de metarubríctos, enquanto que, o animal P22/04 mostra aplasia total.

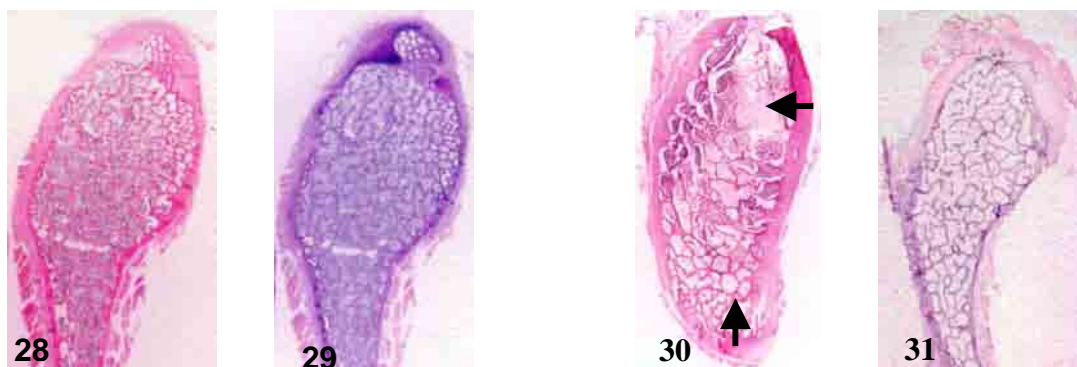


Figura 28 a 31 – Digitalização (1200dpi) – Fig. 28. Fragmento de medula óssea dos animais controle mostrando trabéculas ósseas preenchidas por células, HxE. Fig. 29. Imagem anterior corada por Giemsa. Fig. 30. Fragmento de medula óssea de cão com IRC, mostrando aplasia hematopoiética multifocal (setas), HxE. Fig. 31. Fragmento de medula óssea de cão com IRC, mostrando aplasia total do tecido hematopoiético, Giemsa.

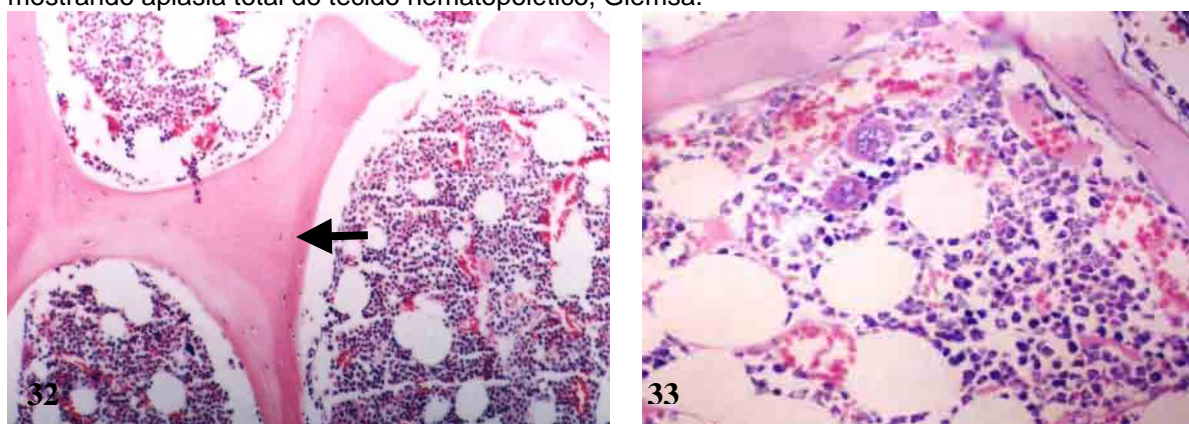


Figura 32 e 33 – Fig. 32. Fotomicrografia de medula óssea de animal hígido, mostrando o ambiente hematopoiético, tecido gorduroso e o osso trabecular (seta), HxE - (10X). Fig. 33. Fotomicrografia de animal controle, mostrando população hematopoiética e clara distinção das diferenças tintoriais entre as linhagens celulares, Giemsa - (20X).

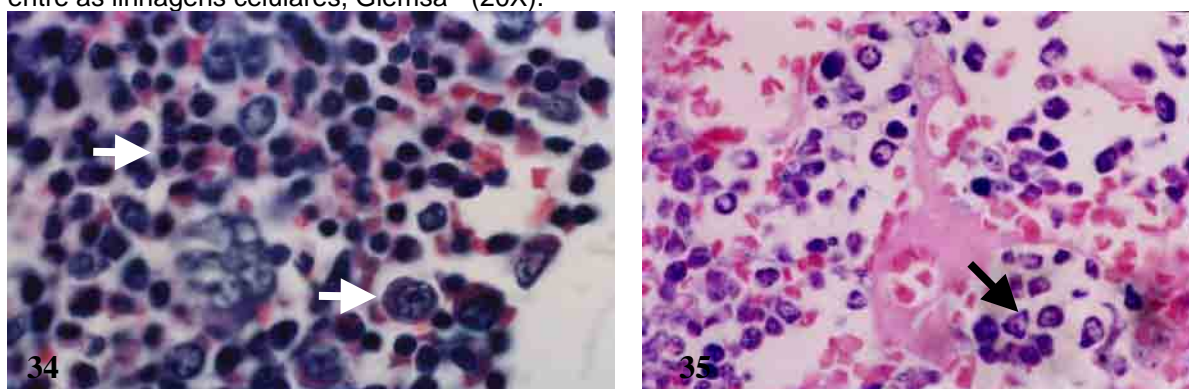


Figura 34 e 35 – Fotomicrografia aproximada da fig. 32 onde é possível visualizar os precursores eritróides (setas), contudo sem distinção do tipo celular, HxE - (100X). Fig. 35. Fotomicrografia aproximada da Fig. 33 onde é possível fazer a distinção do precursor eritróide – eritroblastos (seta), Giemsa - (40X).

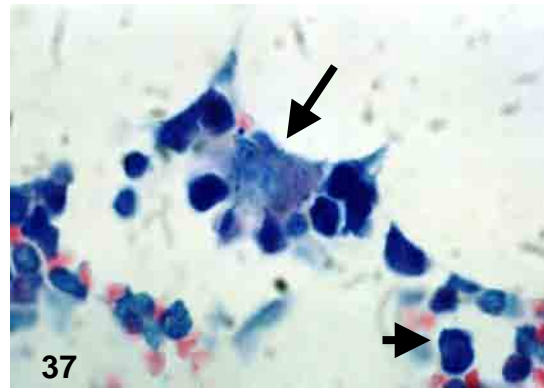
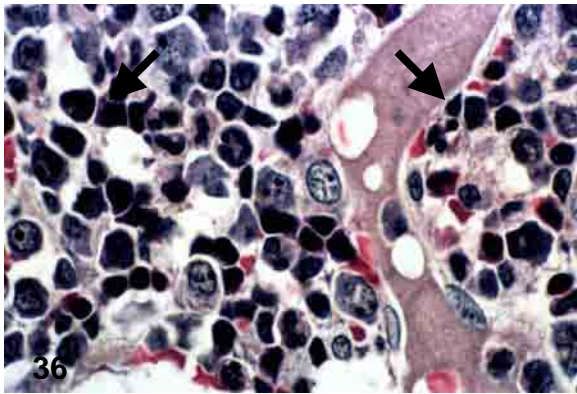


Figura 36 e 37 – Fig. 36. Fotomicrografia de medula óssea mostrando ilha eritróide (setas), contudo não é possível distinguir os tipos celulares, HxE (40X). Fig. 37. Ilha eritróide individualizada (seta longa), mostrando um macrófago central e vários rubricitos basófilo ao redor, eritroblasto no canto inferior direito (seta curta), Giemsa (100X).

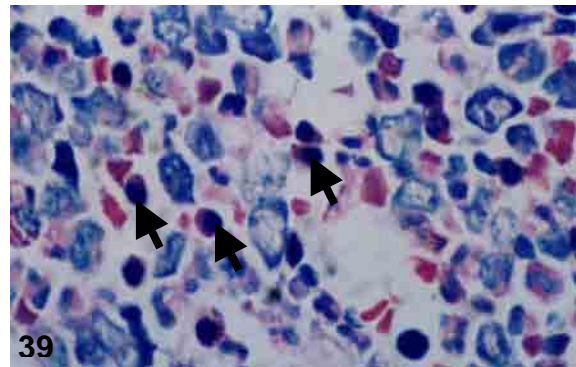
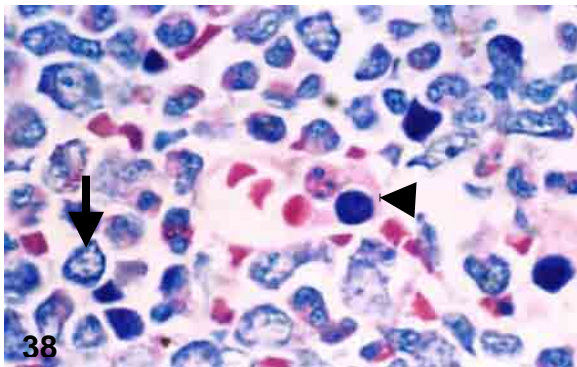


Figura 38 e 39 – Fig. 38. Mostra eritroblasto (seta menor), com citoplasma basofílico e escasso, núcleo claro com nucléolo visível e um rubricito basófilo (seta maior), com citoplasma escasso e basofilia discreta, núcleo claro sem nucléolo, Giemsa (100X). Fig. 39. Mostra vários rubricitos policromatófilos (setas), observar que o citoplasma apresenta tanto coloração basofílica como eosinofílica, característica deste precursor eritróide, Giemsa (100X).

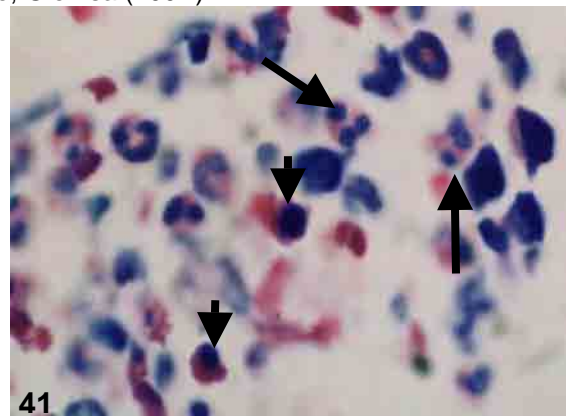
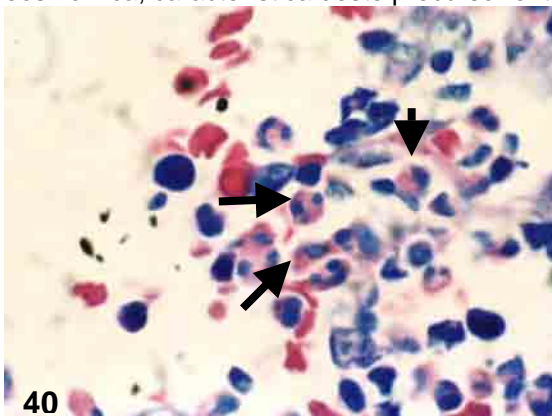


Figura 40 e 41 – Fig. 40. Mostra vários metarubricitos com citoplasma totalmente eosinofílico (setas). Fig. 41. Mostra metarubricitos (seta longa) e dois rubricitos policromatófilos (setas curtas).

7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste T de Student aplicado nas variáveis hematológicas e bioquímicas dos animais do grupo controle e do grupo com IRC, mostra que as médias da contagem de hemácias, da concentração de hemoglobina e do volume globular nos animais do grupo controle foram maiores que nos animais com IRC, já as médias da concentração de uréia e creatinina nos animais com IRC foram maiores que nos animais do grupo controle (Anexo 7). Para a análise estatística das alterações histopatológicas nos animais do grupo controle e dos com IRC, foi utilizado o teste de Mann-Whitney, o qual mostrou predomínio das lesões moderadas à acentuadas nos animais com IRC (Anexo 8).

7.1 Animais do grupo controle

A análise de correlação entre as variáveis hematológicas e as alterações histopatológicas nos animais do grupo controle, revela que somente a hiperplasia de células epiteliais, a fibrose intersticial e o infiltrado inflamatório linfoplasmocitário mostraram correlação. A hiperplasia de células epiteliais apresentou correlação positiva em relação à contagem de hemácias, ao volume globular e com a concentração de hemoglobina, enquanto que, a fibrose intersticial mostrou correlação positiva somente para com o volume globular, e o infiltrado inflamatório linfoplasmocitário mostrou correlação negativa com a concentração de hemoglobina. Não houve correlação estatística entre as alterações histopatológicas e as variáveis bioquímicas. Vale ressaltar que a análise de correlação entre as alterações histopatológicas e as variáveis hematológicas e bioquímicas, mostraram tendência à significância entre a fibrose intersticial e a concentração de hemoglobina, entre o infiltrado inflamatório peritubular e a concentração de uréia e entre o infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e o volume globular, como mostra a tabela 7.

Tabela 7. Análise de correlação entre as variáveis hematológicas e as alterações histopatológicas animais controle.

	Hemácias		Volume Globular		Hemoglobina		Uréia		Creatinina	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Número de glomérulos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Espessamento difuso da parede glomerular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acentuação da arquitetura glomerular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Simplificação da arquitetura glomerular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aumento da matriz mesangial	0,0473	0,8671	0,001	0,999	0,1576	0,9555	0,2206	0,4293	0,0950	0,7360
Obliteração da luz capilar	-0,1722	0,5561	-0,2413	0,4059	-0,2411	0,4063	-0,3099	0,2880	-0,4501	0,1062
Espessamento da membrana basal	0,2414	0,3860	0,2726	0,3257	0,2414	0,3860	0,0334	0,9059	0,3836	0,1581
Hiperplasia de células endoteliais	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hiperplasia de células epiteliais	0,5679	0,0272	0,5927	0,0199	0,5679	0,0271	0,2044	0,4648	0,2969	0,2825
Hiperplasia de células mesangiais	0,2538	0,3614	0,3254	0,2366	0,4511	0,0914	-0,0322	0,9092	-0,3270	0,2341
Formação de crescentes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sinéquias	-0,0694	0,8058	0,0765	0,7863	0,1495	0,5947	-0,3294	0,2305	-0,1857	0,5074
Esclerose glomerular	-0,1857	0,5075	-0,2485	0,3117	-0,2476	0,3734	-0,3096	0,2615	-0,4357	0,1044
Regeneração do epitélio tubular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Degeneração tubular	-0,1816	0,5171	-0,2817	0,3090	-0,3384	0,2172	-0,1630	0,5615	-0,2033	0,4673
Necrose tubular	-0,1857	0,5075	-0,2485	0,3717	-0,2476	0,3734	-0,3095	0,2615	-0,4357	0,1044
Fibrose intersticial	0,4054	0,1338	0,5231	0,0453	0,4826	0,0684	0,2317	0,4061	-	-
Atrofia tubular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vasos sanguíneos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tireoidização	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dilatação tubular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado focal	-0,1419	0,6284	-0,1247	0,6709	-0,1064	0,7172	-0,2483	0,3919	0,1245	0,6713
Infiltrado multifocal	-0,0859	0,7702	-0,2311	0,4266	-0,3382	0,2369	-0,1054	0,7197	0,2944	0,3069
Infiltrado difuso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado discreto	-0,2364	0,3962	-0,3322	0,2263	-0,3625	0,1842	-0,3941	0,1461	-0,0317	0,9107
Infiltrado moderado	-0,3096	0,2814	-0,3109	0,2792	-0,3096	0,2814	0,2411	0,4064	-0,1385	0,6367
Infiltrado acentuado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado intersticial	0,1432	0,6252	0,0359	0,9028	-0,1074	0,7147	-	-	-0,4145	0,1405
Infiltrado peritubular	0,1703	0,5441	-	-	-0,0155	0,9563	-0,4953	0,0605	-0,1556	0,5796
Infiltrado periglomerular	-0,0774	0,7840	-0,2019	0,4704	-0,2941	0,2873	-0,0464	0,8694	-0,2178	0,4353
Infiltrado linfocitário	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado plasmocitário	0,1222	0,6643	0,1577	0,5745	0,2270	0,4158	0,1746	0,5336	-	-
Infiltrado linfoplasmocitário	-0,3715	0,1728	-0,4816	0,0691	-0,6191	0,0138	-0,1083	0,7007	-0,1867	0,5051
Infiltrado neutrofílico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Outros	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Estatística: Valores de p em vermelho indicam correlações significativas entre os pares de variáveis, enquanto que valores de p em azul indicam tendência para correlações significativas entre as variáveis, pelo teste de correlação de Spearman, considerando-se $\alpha=0,05$.

A análise de correlação entre as variáveis da série eritróide e as alterações histopatológicas nos animais do grupo controle (tabela 8), mostrou correlação positiva entre a hiperplasia de células epiteliais e a contagem de eritroblasto e metarrubricito, já entre o infiltrado inflamatório peritubular e a contagem de metarrubricitos a correlação foi negativa. A análise de correlação permite ainda visualizar uma tendência de correlação positiva entre o infiltrado inflamatório plasmocitário e a contagem de rubricito policromatófilo.

Tabela 8. Análise de correlação entre as variáveis da série eritróide e as alterações histopatológicas nos animais controle.

	Eritroblasto		Rubricito basófilo		Rubricito policromatófilo		Metarubricito	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Número de glomerulos	-	-	-	-	-	-	-	-
Espessamento difuso da parede glomerular	-	-	-	-	-	-	-	-
Acentuação da arquitetura glomerular	-	-	-	-	-	-	-	-
Simplificação da arquitetura glomerular	-	-	-	-	-	-	-	-
Aumento da matriz mesangial	0,0157	0,9555	0,0473	0,8689	-0,0944	0,7376	0,1265	0,6531
Obliteração da luz capilar	-0,1720	0,5565	-0,1379	0,6382	-0,3096	0,2814	-0,4492	0,1071
Espessamento da membrana basal	0,2114	0,3860	0,0625	0,8246	-0,0689	0,8071	0,1038	0,7126
Hiperplasia de células endoteliais	-	-	-	-	-	-	-	-
Hiperplasia de células epiteliais	0,5451	0,0355	0,3183	0,2475	0,3177	0,2484	0,5243	0,0448
Hiperplasia de células mesangiais	-0,1843	0,5108	-0,2399	0,3891	-0,3240	0,2387	-0,0495	0,8609
Formação de crescentes	-	-	-	-	-	-	-	-
Sinéquias	-0,2483	0,3722	-0,4119	0,1271	-0,3692	0,1756	-0,0529	0,8512
Esclerose glomerular	-0,1238	0,6601	-0,0929	0,7417	-0,2474	0,3739	-0,4349	0,1051
Regeneração do epitélio tubular	-	-	-	-	-	-	-	-
Degeneração tubular	-0,2270	0,4158	0,1260	0,6545	-0,0206	0,9418	-0,2319	0,4054
Necrose tubular	-0,1238	0,6601	-0,0929	0,7417	-0,2474	0,3739	-0,4349	0,1051
Fibrose intersticial	0,2702	0,3299	0,2318	0,4056	-0,0385	0,8914	0,1549	0,5812
Atrofia tubular	-	-	-	-	-	-	-	-
Vasos sanguíneos	-	-	-	-	-	-	-	-
Tireoidização	-	-	-	-	-	-	-	-
Dilatação tubular	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado focal	-0,2838	0,3254	-0,1241	0,6723	0,0531	0,8567	-0,1423	0,6272
Infiltrado multifocal	0,1332	0,6498	0,2417	0,4051	0,2522	0,3842	-0,1962	0,5012
Infiltrado difuso	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado discreto	-0,3625	0,1841	-0,0946	0,7371	0,1259	0,6545	-0,2056	0,4621
Infiltrado moderado	0,3788	0,1816	0,3792	0,1811	0,4472	0,1088	0,2418	0,4047
Infiltrado acentuado	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado intersticial	-0,2688	0,3526	-0,1794	0,5393	-	-	-0,3236	0,2589
Infiltrado peritubular	-0,2786	0,3146	-0,2323	0,4046	-0,0927	0,7422	-0,5282	0,0429
Infiltrado periglomerular	-0,3250	0,2371	-0,0464	0,8693	0,0309	0,9128	-0,2485	0,3717
Infiltrado linfocitário	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado plasmocitário	0,2793	0,3132	0,4019	0,1374	0,4885	0,0646	0,1051	0,7091
Infiltrado linfoplasmocitário	-0,4179	0,1211	-0,3563	0,1923	-0,2474	0,3739	-0,3475	0,2124
Infiltrado neutrofílico	-	-	-	-	-	-	-	-
Outros	-	-	-	-	-	-	-	-

Estatística: Valores de p em vermelho indicam correlações significativas entre os pares de variáveis, enquanto que valores de p em azul indicam tendência para correlações significativas entre as variáveis, pelo teste de correlação de Spearman, considerando-se $\alpha=0,05$.

Quando aplicado o teste de correlação entre as variáveis da série eritróide e os valores de uréia e creatinina nos animais do grupo controle (tabela 9), pôde-se verificar correlação positiva entre a contagem de metarrubricito e a concentração de uréia e creatinina. A análise mostrou ainda tendência para correlações positivas entre a contagem de eritroblasto e de rubricito basófilo e a concentração de uréia e creatinina.

Tabela 9. Análise de correlação entre as variáveis da série eritróide e os valores de uréia e creatinina (**animais controle**).

	Uréia		Creatinina	
	r	p	r	p
Eritroblasto	0,4866	0,0659	0,4892	0,0642
Rubricito basófilo	0,4763	0,0727	0,4744	0,0740
Rubricito policromatófilo	0,3324	0,2260	0,4367	0,1036
Metarubricito	0,5431	0,0364	0,6164	0,0144

Estatística: Valores de p em vermelho indicam correlações significativas entre os pares de variáveis, enquanto que valores de p em azul indicam tendência para correlações significativas entre as variáveis, pelo teste de correlação de Spearman, considerando-se $\alpha=0,05$.

7.2 Animais do grupo com IRC

Nos animais do grupo com IRC a análise de correlação entre as variáveis hematológicas e as alterações histopatológicas mostrou correlação positiva entre o espessamento difuso da parede glomerular com a concentração de uréia e creatinina, Já esclerose glomerular mostrou correlação positiva somente com a concentração de uréia. A regeneração do epitélio tubular, a atrofia tubular e a dilatação tubular também mostraram correlação positiva somente com a concentração de uréia. Entretanto, a fibrose intersticial e a tireoidização, apresentaram correlação positiva com a concentração de uréia e creatinina. Quanto ao infiltrado inflamatório, houve correlação positiva entre o infiltrado intersticial, de localização periglomerular do tipo linfoplasmocitário com a concentração de creatinina. Entretanto, em relação à concentração de uréia só houve correlação positiva com o infiltrado inflamatório periglomerular. Vale ressaltar que a análise de correlação indica tendência à significância entre a hiperplasia de células mesangiais e a tireoidização com a contagem de hemácias e com a concentração de hemoglobina. A análise indica ainda, tendência à significância entre o infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e a concentração de hemoglobina, como mostra a Tabela 10.

Tabela 10. Análise de correlação entre as variáveis hematológicas e as alterações histopatológicas nos animais com IRC.

	Hemácias		Volume Globular		Hemoglobina		Uréia		Creatinina	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Número de glomérulos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Espessamento difuso da parede glomerular	0,0282	0,9239	-0,0364	0,9016	-0,0141	0,9619	0,6525	0,0114	0,6320	0,0153
Acentuação da arquitetura glomerular	-0,3494	0,2208	-0,3988	0,1578	-0,3984	0,1583	0,5087	0,0632	0,0920	0,7543
Simplificação da arquitetura glomerular	0,2187	0,4525	0,2399	0,4087	0,2024	0,4877	-0,2862	0,3212	-0,0186	0,9496
Aumento da matriz mesangial	0,4008	0,1556	0,3253	0,2564	0,4008	0,1556	-0,2800	0,3322	0,2160	0,4582
Obliteração da luz capilar	0,3904	0,1676	0,3557	0,2120	0,4004	0,1560	0,4554	0,1018	0,4396	0,1157
Espessamento da membrana basal	-0,0857	0,7709	-0,1084	0,7122	-0,0857	0,7709	0,3213	0,2627	0,2847	0,3238
Hiperplasia de células endoteliais	-0,0685	0,8160	-0,2509	0,3869	-0,1154	0,6944	0,2849	0,3235	0,1913	0,5123
Hiperplasia de células epiteliais	0,2928	0,3097	0,3859	0,1730	0,3569	0,2104	0,0160	0,9567	-0,0573	0,8459
Hiperplasia de células mesangiais	0,5083	0,0635	0,3680	0,1954	0,4959	0,0713	-0,1160	0,6930	0,1655	0,5718
Formação de crescentes	0,1573	0,5913	0,2944	0,3070	0,1846	0,5275	0,1071	0,7155	0,1438	0,6239
Sinéquias	0,4253	0,1295	0,4442	0,1115	0,4253	0,1295	-0,2774	0,3370	0,1666	0,5692
Esclerose glomerular	0,3039	0,2909	0,2870	0,3198	0,2794	0,3334	0,5857	0,0278	0,4551	0,1020
Regeneração do epitélio tubular	-0,1470	0,6160	-0,1288	0,6608	-0,1470	0,6160	0,6322	0,0153	0,1913	0,5123
Degeneração tubular	0,1896	0,5351	0,3344	0,2641	0,2071	0,4973	-0,4520	0,1209	-0,0993	0,7469
Necrose tubular	0,2522	0,3843	0,2525	0,3838	0,1924	0,5098	0,2783	0,3354	0,4985	0,0696
Fibrose intersticial	0,2704	0,3497	0,1979	0,4978	0,2236	0,4421	0,7099	0,0044	0,6261	0,0166
Atrofia tubular	-0,0245	0,9337	0,1043	0,7228	-0,0368	0,9007	0,5587	0,0378	0,4489	0,1073
Vasos sanguíneos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tireoidização	0,5212	0,0560	0,4528	0,1040	0,4743	0,0866	0,5736	0,0320	0,7054	0,0048
Dilatação tubular	0,1109	0,7059	-0,0028	0,9925	0,0277	0,9251	0,7318	0,0029	0,4981	0,0699
Infiltrado focal	-0,2873	0,3193	-0,1881	0,5197	-0,2099	0,4713	-0,4641	0,0946	-0,3097	0,2812
Infiltrado multifocal	0,3771	0,1838	0,3124	0,2768	0,3511	0,2184	0,0520	0,8598	-0,1106	0,7065
Infiltrado difuso	-0,0891	0,7723	0,0000	1,0000	-0,0891	0,7723	0,5345	0,0598	0,4684	0,1065
Infiltrado discreto	-0,2165	0,4774	-0,1355	0,6589	-0,1353	0,6593	-0,4466	0,1261	-0,2033	0,5054
Infiltrado moderado	0,2375	0,4136	0,2162	0,4580	0,1943	0,5056	0,0648	0,8259	0,0216	0,9415
Infiltrado acentuado	0,1432	0,6252	0,1613	0,5817	0,1432	0,6252	0,4297	0,1252	0,3943	0,1630
Infiltrado intersticial	0,0902	0,7591	0,1158	0,6935	0,0624	0,8321	0,4972	0,0705	0,6251	0,0168
Infiltrado peritubular	0,0761	0,7959	0,1593	0,5863	0,0923	0,7537	0,0715	0,8081	0,3337	0,2436
Infiltrado periglomerular	0,1739	0,5522	0,2989	0,2993	0,1578	0,5899	0,5696	0,0335	0,5359	0,0483
Infiltrado linfocitário	0,0925	0,7533	0,1851	0,5264	0,0925	0,7533	0,0925	0,7533	-0,2406	0,4073
Infiltrado plasmocitário	-0,3608	0,2051	-0,1866	0,5231	-0,3608	0,2051	-0,0645	0,8266	-0,3444	0,2278
Infiltrado linfoplasmocitário	0,4565	0,1009	0,3755	0,1859	0,4836	0,0798	0,1061	0,7181	0,5558	0,0391
Infiltrado neutrofílico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Outros	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Estatística: Valores de p em vermelho indicam correlações significativas entre os pares de variáveis, enquanto que valores de p em azul indicam tendência para correlações significativas entre as variáveis, pelo teste de correlação de Spearman, considerando-se $\alpha=0,05$.

A análise de correlação entre as variáveis da série eritróide e as alterações histopatológicas nos animais com IRC (Tabela 11), mostra que dentre as alterações glomerulares somente a formação de crescentes tem correlação positiva com todos os precursores eritróides, porém, a obliteração da luz capilar tem correlação positiva com a contagem de rubrícito policromatófilo, e a esclerose glomerular apresenta correlação positiva com a contagem de eritroblasto. Em relação às alterações nos túbulos e no interstício, a atrofia tubular mostra correlação positiva com a contagem de todos os precursores eritróides, enquanto que, a fibrose intersticial mostra correlação positiva somente em relação com a contagem do eritroblasto e do rubrícito basófilo. Quanto à distribuição do infiltrado inflamatório, este mostra correlação negativa quando se apresenta com distribuição focal, e correlação positiva quando a distribuição é difusa, com a contagem de todos os precursores eritróides. Em relação à gravidade do processo inflamatório, a análise de correlação com os precursores eritróides, indica correlação negativa entre o infiltrado inflamatório discreto e correlação positiva quando acentuado, com a contagem de eritroblasto, rubrícito basófilo, rubrícito policromatófilo e com o metarrubrícito. A análise mostra ainda, que a localização do infiltrado inflamatório tem correlação positiva com a contagem de todos os precursores eritróides, independentemente se é de localização intersticial, peritubular e periglomerular.

Tabela 11. Análise de correlação entre as variáveis da série eritróide e as alterações histopatológicas nos animais com IRC.

	Eritroblasto		Rubricito basófilo		Rubricito policromatófilo		Metarubricito	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Número de glomerulos	-	-	-	-	-	-	-	-
Espessamento difuso da parede glomerular	0,4116	0,1437	0,4111	0,1442	0,3851	0,1739	0,3717	0,1907
Acentuação da arquitetura glomerular	0,0963	0,7433	0,0254	0,9313	0,0254	0,9313	0,0254	0,9314
Simplificação da arquitetura glomerular	0,2876	0,3188	0,3093	0,2820	0,2838	0,3255	0,3217	0,2621
Aumento da matriz mesangial	0,1769	0,5453	0,1896	0,5161	0,1585	0,5884	0,1427	0,6264
Obliteração da luz capilar	0,5220	0,0555	0,5151	0,0594	0,5479	0,0425	0,4982	0,0698
Espessamento da membrana basal	0,1151	0,6951	0,1629	0,5779	0,1629	0,5779	0,1627	0,5783
Hiperplasia de células endoteliais	0,1654	0,5721	0,1652	0,5725	0,2196	0,4506	0,1378	0,6385
Hiperplasia de células epiteliais	0,1302	0,6573	0,1138	0,6985	0,1951	0,5040	0,1380	0,6380
Hiperplasia de células mesangiais	-0,3506	0,2191	-0,4073	0,1483	-0,4372	0,1180	-0,4516	0,1051
Formação de crescentes	0,5927	0,0255	0,6241	0,0171	0,6104	0,0204	0,6303	0,0157
Sinéquias	0,2050	0,4821	0,2420	0,4046	0,2047	0,4826	0,1859	0,5245
Esclerose glomerular	0,5732	0,0321	0,5319	0,0503	0,5055	0,0652	0,4918	0,0741
Regeneração do epitélio tubular	0,0155	0,9580	-0,0233	0,9370	-0,0233	0,9370	0,0232	0,9371
Degeneração tubular	0,1958	0,5214	0,1823	0,5511	0,0941	0,7598	0,1791	0,5582
Necrose tubular	0,4206	0,1342	0,3691	0,1940	0,3010	0,2956	0,3347	0,2421
Fibrose intersticial	0,5939	0,0251	0,5454	0,0437	0,5126	0,0609	0,4957	0,0715
Atrofia tubular	0,7582	0,0017	0,7326	0,0029	0,6956	0,0057	0,7503	0,0020
Tireoidização	0,5183	0,0576	0,4789	0,0832	0,4789	0,0832	0,4783	0,0836
Dilatação tubular	0,4582	0,0994	0,4158	0,1392	0,4158	0,1392	0,4153	0,1397
Infiltrado focal	-0,5791	0,0300	-0,6007	0,0231	-0,6007	0,0231	-0,6000	0,0233
Infiltrado multifocal	0,1090	0,7108	0,1298	0,6584	0,1102	0,7076	0,0780	0,7908
Infiltrado difuso	0,7081	0,0046	0,7073	0,0047	0,7445	0,0023	0,7623	0,0015
Infiltrado discreto	-0,5739	0,0403	-0,6141	0,0256	-0,6141	0,0256	-0,6132	0,0258
Infiltrado moderado	-0,0255	0,9310	0,0000	1,0000	-0,1019	0,7287	-0,0509	0,8628
Infiltrado acentuado	0,8358	0,0002	0,8348	0,0002	0,8917	0,0000	0,8450	0,0001
Infiltrado intersticial	0,7644	0,0015	0,7426	0,0023	0,7053	0,0048	0,7232	0,0035
Infiltrado peritubular	0,7415	0,0024	0,7850	0,0009	0,7850	0,0009	0,7842	0,0009
Infiltrado periglomerular	0,9221	0,0000	0,9050	0,0000	0,8889	0,0000	0,9120	0,0000
Infiltrado linfocitário	0,2372	0,4143	0,1974	0,4987	0,1974	0,4987	0,1972	0,4992
Infiltrado plasmocitário	0,2988	0,2994	0,3134	0,2752	0,3134	0,2752	0,3130	0,2758
Infiltrado linfoplasmocitário	0,1893	0,5169	0,1891	0,5174	0,1891	0,5174	0,1889	0,5178
Infiltração neutrofilica	-	-	-	-	-	-	-	-

Estatística: Valores de p em vermelho indicam correlações significativas entre os pares de variáveis, enquanto que valores de p em azul indicam tendência para correlações significativas entre as variáveis, pelo teste de correlação de Spearman, considerando-se $\alpha=0,05$.

Não houve correlação entre os precursores eritróides e a concentração de uréia e creatinina, conforme observado na Tabela 12, que resume a análise entre as variáveis.

Tabela 12. Análise de correlação entre as variáveis da série eritróide e os valores de uréia e creatinina nos animais com IRC.

	Uréia		Creatinina	
	r	p	r	p
Eritroblasto	0,1540	0,5990	0,2070	0,4756
Rubricito basófilo	-0,0110	0,9702	0,1012	0,7306
Rubricito policromatófilo	-0,3758	0,1854	-0,0374	0,8989
Metarubricito	-0,4620	0,0962	-0,1035	0,7247

Estatística: Valores de p em vermelho indicam correlações significativas entre os pares de variáveis, enquanto que valores de p em azul indicam tendência para correlações significativas entre as variáveis, pelo teste de correlação de Spearman, considerando-se $\alpha=0,05$.

DISCUSSÃO

4. DISCUSSÃO

4.1 Parâmetros hematológicos e bioquímicos

Em experimento realizado por PECHEREAU et al (1997), fica claro que a integridade dos rins é fundamental para a manutenção dos parâmetros hematológicos dos cães. No presente estudo foi possível verificar correlação positiva entre a IRC e a anemia, pois 80% dos animais com IRC também mostraram quadro de anemia. PETRITES-MURPHY et al (1989), corroboram esta informação, pois cães com IRC experimental, exibiam 30% de diminuição na concentração de eritropoetina plasmática, o que era traduzido em anemia. Se usarmos a mesma classificação de KING et al (1992) para anemia, na qual os cães com concentração de hemoglobina abaixo de 12 g/dL e volume globular abaixo de 35%, no presente estudo 80% dos cães são anêmicos, o que vem corroborar os achados hematológicos encontrados. Apesar dos animais do grupo controle não exibirem alterações na função renal, como foi demonstrado pelos resultados dos exames bioquímicos, nem lesão renal crônica, 13,33% (2 animais) mostravam quadro de anemia, que provavelmente não tinha relação com lesão crônica dos rins.

Sendo a anemia um distúrbio comum em animais portadores de IRC (JAIN,1993), os dados de literatura relatam que esta é do tipo normocítica e normocrômica, todavia, no presente estudo 46,66% (7 animais) apresentavam anemia normocítica normocrômica, 20% (3 animais) exibiam anemia macrocítica hipocrômica, 6,66% (1 animal) mostrava anemia macrocítica normocrômica e 6,66% (1 animal) tinha anemia microcítica normocrômica. Na anemia normocítica normocrômica ocorre uma depressão seletiva da

eritropoiese e está associada com doenças crônicas, que no caso dos cães com IRC pode está associado com a elevada concentração dos metabólitos urêmicos; a anemia macrocítica hipocrômica ocorre com a perda pequena, porém constante de sangue, o que acontece nos animais com IRC associado a úlceras estomacais e enterites; já a deficiência de vitamina B₁₂ e ácido fólico determinam a anemia macrocítica normocrômica, devido a diminuição na síntese da molécula de heme e por conseqüência da hemoglobina, e a anemia microcítica normocrômica está associada à deficiência progressiva de ferro (JAIN, 1993; COWGILL, 1992; JUBB et al., 1993; COWGILL, 1995; POLZIN et al., 1997).

Fazendo correlação entre a anemia e a concentração dos solutos urêmicos, verifica-se que 83,33% dos animais anêmicos exibem concentração elevada de uréia e creatinina. Uma explicação para os 16,66% de animais anêmicos com IRC exibirem concentração de uréia e creatinina dentro dos padrões de normalidade é a quantidade diminuída de proteína ingerida na alimentação, pois segundo BARTGES et al (1995) a concentração de creatinina eliminada é proporcional à quantidade de proteína na dieta alimentar.

No presente estudo a média da concentração de uréia e creatinina nos animais controle foi de 33,65mg/dL e 0,89mg/dL respectivamente. Já as médias para os animais com IRC foi 277,85 mg/dL para a concentração de uréia e 7,03 mg/dL para a creatinina, valores estes mais elevados que os apresentados por JAIN (1993), a média de concentração em animais com doença renal crônica e uremia era de 192mg/dL para a uréia e de 4,9 mg/dL para a creatinina.

Quando aplicado o teste de correlação de Spearman entre as alterações histopatológicas e as variáveis hematológicas dos animais do grupo controle, houve correlação positiva somente nos animais que mostraram quadro anêmico.

4.2 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DO RIM

Os autores que estudaram as alterações eritróides relacionadas à IRC nos cães, não indicam a origem das lesões renais (glomerular e túbulo-intersticial), nem a natureza do infiltrado inflamatório. Contudo, no presente estudo as alterações histopatológicas tanto dos animais do grupo controle, bem como nos animais do grupo com IRC, foram classificadas em alterações glomerulares, alterações túbulo-intersticiais e o infiltrado inflamatório foi classificado quanto ao tipo celular.

Os animais do grupo controle apesar de estarem clinicamente hígidos, mostraram alterações glomerulares, túbulo-intersticiais e presença de infiltrado inflamatório. Quanto à gravidade da lesão, houve um predomínio das alterações de caráter leve, todavia, estas não refletiram de forma significativa nos parâmetros bioquímicos de uréia e creatinina, os quais permaneceram dentro dos padrões de normalidade.

Segundo POLZIN e OSBORNE (1995), as alterações histopatológicas encontradas nos rins com falência renal em estágio terminal incluem: a esclerose glomerular, fibrose intersticial, infiltrado inflamatório mononuclear túbulo-intersticial, dilatação tubular e atrofia do epitélio tubular.

No presente estudo os animais com IRC mostraram predomínio das alterações histopatológicas de caráter moderado a acentuado. Dentre as alterações glomerulares, 100% dos animais exibiam sinéquias, 93,33% apresentavam obliteração da luz capilar, 86,66% mostravam hiperplasia de células mesangiais, 80% tinham aumento da matriz mesangial e o espessamento da membrana basal e a esclerose glomerular apareceu em 79,99% dos animais.

Quando aplicado o teste de correlação de Spearman entre as alterações glomerulares e as variáveis hematológicas nos animais do grupo controle, somente a hiperplasia de células epiteliais mostrou correlação significativa com a concentração de hemácias, com a concentração de hemoglobina e com o volume globular, todavia, não apresentaram correlação com as variáveis bioquímicas. Vale ressaltar que estas alterações provavelmente estão relacionadas com os dois animais do grupo que apresentaram quadro de anemia. Já nos animais do grupo com IRC, as alterações glomerulares, mostraram correlação positiva entre o espessamento da parede glomerular e a concentração de uréia e creatinina, e entre a esclerose glomerular e a concentração de uréia, o que vem corroborar as informações de POLZIN e OSBORNE (1995) e MASHITA et al (1997). Portanto, o espessamento da parede glomerular, leva a diminuição da taxa de filtração glomerular, que por sua vez diminui a perfusão renal e desencadeia o processo de esclerose glomerular e com isso os rins perdem a capacidade de excreção dos metabólitos urêmicos.

Já as alterações tubulares e intersticiais nos animais do grupo controle foram predominantemente de caráter leve, predominando a degeneração tubular e a fibrose intersticial. Entretanto nos animais com IRC predominaram as alterações de caráter acentuado, pois 99,99% dos animais apresentaram necrose tubular, dilatação tubular e fibrose intersticial, independente da gravidade da lesão. A degeneração e a atrofia tubular foram encontradas em 79,99% dos animais.

A célula intersticial peritubular do córtex renal é a responsável pela produção de eritropoetina (KOURY et al, 1988; LACOMBE et al, 1988; LEHIR

et al, 1989; BACHMANN et al, 1993), podendo o epitélio tubular também desempenhar este papel (MAXWELL et al, 1990). Sendo assim as lesões extensas e de caráter crônico que comprometam os túbulos e o interstício renal podem levar a alterações nos parâmetros hematológicos. No presente trabalho houve correlação positiva entre a fibrose intersticial e o volume globular nos animais do grupo controle. Já nos animais com IRC a fibrose intersticial e a tireoidização mostraram correlação positiva com a concentração de uréia e creatinina, contudo a atrofia e a dilatação tubular apresentaram correlação positiva somente com a uréia. Contudo o teste de correlação entre as alterações histopatológicas e as variáveis da série eritróide mostra que a atrofia tubular possui correlação positiva com todos os precursores da série eritróide, já a fibrose intersticial apresenta correlação positiva somente com a contagem de eritroblastos e com a contagem de rubricito basófilo.

Segundo D' AMICO (1998), o mecanismo de instalação da lesão glomerular crônica, envolve vários fatores de crescimento e citocinas que tem ação quimiotática sob as células inflamatórias mononucleares, atraindo-as para o local da injúria tecidual, daí a importância de caracterizar o infiltrado inflamatório presente nas lesões renais dos cães. JONES et al (1997), comenta que a moléstia túbulo-intersticial pode ser secundária a lesão glomerular, e que dependendo da gravidade do insulto e de sua duração, a lesão pode progredir para nefrite intersticial crônica associada a marcante fibrose intersticial e dilatação tubular. No presente estudo 93,33% dos animais mostraram nefrite intersticial, sendo 73,33% de nefrite intersticial crônica e 20% de nefrite intersticial focal. FIGUEIREDO et al (1994) estudando 73 cães com lesão renal, observou que 82,19% destes apresentavam glomerulonefrite e que a

houve predomínio da glomerulonefrite membranoproliferativa, entretanto no presente estudo a glomerulonefrite crônica predominou.

Na literatura consultada não foram encontrados dados sobre a correlação entre o tipo e a localização do infiltrado inflamatório com as alterações hematológicas, bioquímicas e com a contagem dos precursores eritróides na medula óssea. Quanto ao tipo celular, no presente estudo houve o predomínio do infiltrado inflamatório constituído por plasmócitos (46,66% dos animais). O infiltrado inflamatório linfoplasmocitário foi visto em 46,65% dos animais, que segundo CONFER e PANCIEIRA (1998) é o infiltrado inflamatório tradicional das nefrites intersticiais.

O teste de correlação de Spearman aplicado entre as alterações histopatológicas (infiltrado inflamatório) e as variáveis hematológicas e bioquímicas nos animais controle, mostrou correlação negativa entre o infiltrado inflamatório linfoplasmocitário e a concentração de hemoglobina, e mostrou ainda correlação negativa entre a localização peritubular do infiltrado inflamatório e a contagem de metarrubricitos.

Já nos animais com IRC, a localização do infiltrado inflamatório tem correlação positiva quando intersticial com a concentração de creatinina, e quando periglomerular com a concentração de uréia e creatinina. Em relação ao tipo celular do infiltrado inflamatório, houve correlação positiva entre o infiltrado linfoplasmocitário e a concentração de creatinina. Quando o teste de correlação é aplicado entre as variáveis da série eritróide e as alterações histopatológicas (infiltrado inflamatório), a correlação é significativa com a contagem de todos os precursores, quanto à distribuição, e quanto à localização do infiltrado inflamatório, porém o tipo celular do infiltrado

inflamatório não mostra correlação com a contagem dos precursores eritróides. As alterações nas contagens dos precursores eritróides podem ser explicadas pela destruição das células intersticiais peritubulares produtoras de eritropoetina (KOURY et al, 1988; LACOMBE et al, 1988; LEHIR et al, 1989; BACHMANN et al, 1993) e/ou pela necrose e atrofia do epitélio tubular, que de acordo com MAXWELL et al (1990) é também um dos sítios produtores de eritropoetina. Quanto ao tipo celular do infiltrado inflamatório

4.3 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DA MEDULA ÓSSEA

Na literatura consultada não foram encontrados valores de referência para a contagem dos precursores eritróides nas biopsias de medula óssea. Os valores aplicados para os precursores eritróide são avaliados através do exame citológico (JAIN, 1993; HARVEY, 2001).

De acordo com JAIN (1993), Os valores dos precursores eritóides considerados normais para o aspirado de medula óssea do cão são: 0,2% de eritroblasto; 3,9% de prorubricitos; 27% de rubricitos e 15% de metarrubricitos. Vale ressaltar que esta percentagem é referente à contagem de 500 células, e que ocorre um aumento progressivo na contagem dos precursores conforme estes avançam no estágio de maturação. Já HARVEY (2001), relata que a contagem diferencial para precursores eritróides em animais hígidos varia de 0,2 a 1,1% para eritroblastos; 0,9 a 2,2% para prorubricito; 3,7 a 10% para o rubricito basófilo; 15,5 a 25,1% para rubricito policromatófilo e de 9,2 a 16,4% para os metarubricitos.

No presente estudo a média dos precursores nos animais do grupo controle foi de 6,83 eritroblastos; 18,73 rubricito basófilos; 7,78 rubricito policromatófilos e 4,28 metarubricitos. A média foi determinada através da contagem de todos os precursores em 10 espículas ósseas.

Já nos animais com IRC a média do grupo foi de 6,72 eritroblastos; 16,7 rubricitos basófilos; 8,09 rubricitos policromatófilos e 20,56 metarubricitos respectivamente. Contudo JAIN (1993) comenta que animais com doença renal em estágio terminal apresentam 0,2% de eritroblastos, 5,2% de prorubricitos, 3,0% de rubricitos e 1% de metarubricitos, todavia esta avaliação foi feita com base o exame citológico.

Apesar da análise estatística, teste de correlação de Spearman, não mostrar correlação significativa entre a concentração de uréia e creatinina e a contagem de precursores eritróides nos animais do grupo com IRC, observa-se que a maioria dos animais que apresentaram média de precursores eritróides baixa, possuíam concentração elevada de uréia e creatinina. Como exemplo podemos citar em particular o animal N113/01, que mostrou concentração de 25,16 mg/dL de uréia e 0,6 mg/dL de creatinina, e apresentou resposta na produção dos precursores eritróides acima da média do grupo, e com marcante produção de metarubricitos. Já o animal P22/04, exibiu concentração de 415 mg/dL de uréia e 9,3 mg/dL de creatinina, mostrando aplasia total da medula óssea. Corroborando o que afirmam WALLNER et al (1981); FREEDMAN et al (1983); ERSLEV e BESARAB (1997), que os metabólitos urêmicos interferem na proliferação e maturação dos precursores eritróides.

CONCLUSÃO

5. CONCLUSÃO

Os animais do grupo controle apesar de estarem clinicamente sadios, apresentaram alterações morfológicas nos rins, contudo estas não foram capazes de provocar alterações nos perfis hematológicos e bioquímicos.

Todos os animais do grupo com I.R.C. apresentaram alterações glomerulares, predominando a glomerulonefrite crônica, e a nefrite intersticial apareceu em 93,33% dos animais.

Houve correlação positiva entre as alterações histopatológicas renais e as alterações na contagem dos precursores eritróides na medula óssea.

As alterações histopatológicas túbulo-intersticiais mostraram maior correlação com a contagem dos precursores eritóides.

Apesar da análise estatística não mostrar correlação positiva entre a concentração de uréia e creatinina e a contagem dos precursores eritróides, tudo nos leva a crer que esta relação existe, pois à maioria dos animais com anemia apresentavam concentração elevada de uréia e creatinina no sangue.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, T. A.; JAENKE, R. S. e FETTMAN, M. J. A technique for estimating progression of chronic renal failure in the dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190: 866-868, 1987.
- BACHMANN, S.; LEHIR, M.; ECKARDT, K. U. Co-localization of erythropoietin mRNA and ecto-5' - nucleotidase immunoreactivity in peritubular cells of rat renal cortex indicates that fibroblasts produce erythropoietin. *J. Histochem. Cytochem.* 41, p. 335 – 341, 1993.
- BARSANTI, J. A. E FINCO, D. R. Protein concentration in urine of normal dogs. *Am. J. Vet. Res.* 40: 1583-1588, 1979.
- BARTGES, J. W.; OSBORNE, C. A.; FELICE, L. J. et al. Diet effect on activity product ratios of uric acid, sodium urate, and ammonium urate in urine formed by healthy Beagles. *Am. J. Vet. Res.* 56: 329-333, 1995.
- BARTGES, J. W.; OSBORNE, C. A.; FELICE, L. J.; UNGER, L. K. E CHEN, M. Influence of allopurinol and two diets on 24-hour urinary excretions of uric acid, xanthine, and ammonia by healthy dogs. *Am J. Vet. Res.* 56: 595-599, 1995.
- BAUDOUIIN-LEGROS, M.; ASDRAM, L.; TONDELIER, D. PAULAIS, M. e ANAGNOSTOPOULOS, T. Extracellular urea concentration modulates cAMP production in the mouse MTAL. *Kidney Int.* 50: 26-33, 1996.
- BOHLE, A.; MULLER, G. A. e WEHRMANN et al. Pathogenesis of chronic renal failure in primary glomerulopathies, renal vasculopathies, and chronic interstitial nephritides. *Kidney Int.* 54(Suppl): S2-S9, 1996.
- BONOMINI, M. e SIROLLI, V. Uremic toxicity and anemia. *J Nephrol* 2003; 16: 21-28.

- BRAUN, J. P.; LEFEBVRE, H. P.; WATSON, A. D. J. Creatinine in the dog: A review. *Veterinary Clinical Pathology*. 32: 4, p.162-179, 2003.
- BROULET, V.; FAYOLLE, P.; BRAUN, J. P.; THOUVENOT, J. P. e RICO, A. G. Influence du sexe et de l'âge sur les valeurs usuelles de l'hématologie et de la biochimie sérique de chiens "tout-venant" [Effects of sex and age on the usual values for hematology and serum biochemistry of unselected dogs]. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.* 21:221-225, 1986.
- BUNN, H. F. e POYTON, R. O. Oxygen sensing and molecular adaptation to hypoxia. *Am. Physiol. Rev.* 76,839-885, 1996.
- CAR, B. D. Erythropoiesis and erythrokinetics. *In: FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN N. C. Schalm's Veterinary Hematology, 5 ed., Philadelphia: Williams & Wilkins, 2000, cap. 18, p. 105-109.*
- CAMERON, J. S. Tubular and interstitial factors in the progression of glomerulonephritis. *Pediatr. Nephrol.*6:292-303, 1992.
- CARO, J; BROWN, S; MILLER, O; MURRAY, T; ERSLEV, A.J. Erythropoietin levels in uremic nephric and anephric patients. *J Lab Clin Med* 1979; 93: 449-58.
- CENTER, S. A.; WILKINSON, E.; SMITH, C.A. E LEWIS, R.M. 24-hour urine protein/creatinine ratio in dogs with protein-losing nephropathies. *J. Am. Ve.t. Med. Assoc.* 187: 820-824, 1985.
- CONFER, A. W. e PANCIEIRA, R. J. Sistema urinário. *In: CARLTON, W. W. e McGAVIN, M. D. Patologia veterinária especial de Thomson. 2ª ed., Artmed, Porto Alegre, p. 250, 1998.*

- COOK, S. M. e LOTHROP, C. D. Serum erythropoietin concentrations measured by radioimmunoassay in normal, polycythemic, and anaemic dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 8, p. 18-25, 1994.
- COWGILL, L. D. Pathophysiology and management of anemia in chronic progressive renal failure. *Semin. Vet. Med. Surg.* 7, 175, 1992.
- COWGILL, L. D. Medical management of the Anemia of Chronic Renal Failure. *In: OSBORNE, C.A. e FINCO, D. R. Canine and Feline Nephrology and Urology*. Philadelphia. Williams & Wilkins, 1995, p. 539 – 554.
- COWGILL, L. D. e SPANGLER, W.L. Renal insufficiency in geriatric dogs. *Vet. Clin. North. Am.*, 11:727, 1981.
- D' AMICO, G. Tubulo-interstitial damage in glomerular diseases: Its role in the progression of the renal damage. *Nephrol. Dial Transplant*. 13 (suppl), p. 80-85, 1998.
- DUCROCQ, L. e BOURGE, V. (1998), *In: GUÉRIOS, S. D. e SPREA, G. Transplante renal em cães e gatos*. Revista do Cons. Fed. Med.Vet. Suplemento técnico, Nº 30, 2003, p. 39-48.
- ECKHARDT, K. U. Erythropoietin: Oxygen-dependent Control de Erythropoiesis and its Failure in Renal Disease. *Nephron*. 67, p. 7- 23, 1994.
- EMERSON, S.G.; THOMAS, S.; FERRARA, J. L.; GREENSTEIN, J. *Blood*. 74:1, p. 49-55, 1989.

- ENGLISH, P. B.; FILIPPICH, L. J.; THOMPSON, H. L. Clinical assessment of renal function in the dog with a reduction in nephron number. *Aust. Vet. J.* 56: 305-312, 1980.
- ERSLEY, A. J.; CARO, J.; KANSER, E.; SILVER, R. Renal and Extrarenal Erythropoietin Production in Anemic Rats. *Br. J. Haemat.* 45, p. 65-72, 1980.
- ERSLEV, A. J. e BESARAB, A. Erythropoietin in the pathogenesis and treatment of the anemia of chronic renal failure. *Kidney International.* 51:3, p. 622-630, 1997.
- ESCHBACH, J.W.; ADAMSON, J.W. e COOK, J.D. Disorders of red blood cell production in uremia. *Arch Intern Med* 1970; 126: 812-5.
- FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN N. C. Schalm's Veterinary Hematology, 5 ed., Philadelphia: Willians & Wilkins, 2000, p. 63-128.
- FIGUEIREDO, L. M. A.; IAMAGUTI, P.; BANDARRA, E. e SEQUEIRA, J. L. Estudo anátomo-imuno-histopatológico e ultra-estrutural das glomerulonefrites em cães. *Vet. e Zoot.*, São Paulo, 6: 65-76, 1994.
- FINCH, C. A.; HARKER, L. A. e COOK, J. D. *Apud*: GASPER, P. W. The Hemopoietic System *In*: FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN N. C. Schalm's Veterinary Hematology, 5 ed., Philadelphia: Willians & Wilkins, 2000, p. 63-78.
- FISHER, J.W.; HATCH, F.E.; ROH, B.L.; ALLEN, R.C. E KELLEY, B.J. Erythropoietin inhibitor in kidney extracts and plasma from anemic uremic human subjects. *Blood* 1968; 31: 440-52.
- FINCO, D. R. Kidney function. *In*: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W. e BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animals. 5^a ed. Academic Press. California. Cap. 17, p. 441-484, 1997.

- FINCO, D.R.; BROWN, S. A.; CROWELL, W.A.; BARSANTI, J. A. Exogenous creatinine clearance as a measure of glomerular filtration rate in dogs with reduced renal mass. *Am. J. Vet. Res.* 52:1029-1132, 1991.
- FINCO, D. R.; BROWN, S. A.; BROWN, C. A.; CROWELL, W. A.; COOPER, T. A. e BARSANTI, J. A. Progression of chronic renal disease in the dog. *J. Vet. Intern. Med.* 13: 516- 528, 1999.
- FORRESTER, S. D. e LESS, G. E. Nefropatias e ureteropatias. *In: BIRCHARD, S. J. e SHERING, R. G. Manual Saunders – Clínica de Pequenos Animais. Seção 8, Cap. 1. São Paulo, Roca, 1998, p. 906-910.*
- FREEDMAN, M. H.; CATTRAN, D. C. e SAUNDERS, E. F. Anemia of chronic renal failure: inhibition of erythropoiesis by uremic serum. *Nephron.* 35: 15-19, 1983.
- FUKUDA, S.; KAWASIHIMA, N.; IIDA, H.; AOKI, J. e TOKITA, K. Age dependency of hematological values and concentrations of serum biochemical constituents in normal Beagles from 1 to 14 years of age. *Jpn. J. Vet. Sci.* 51: 636-641, 1989.
- GASPER, P. W. The Hemopoietic System *In: FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN N. C. Schalm's Veterinary Hematology, 5 ed., Philadelphia: Williams & Wilkins, 2000, p. 63-78.*
- GIGER, U. Erythropoietin and its clinical use. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.* 14, p. 25 – 35, 1992.
- GREENBERG, J.; SCHWARTZ, I. L.; SPINNER, M.; SILVER, L.; STARR, N. Apparent volumes of distribution of p-aminohippurate and creatinine in the dog. *Am. J. Physiol.* 168:86-92, 1952.

- HARDY, R. M. E OSBORNE, C. A. Water deprivation test in the dog: maximal normal values. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 174:479-483, 1979.
- HARVEY, J. W. Erythrocyte metabolism. *In*: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G. e JAIN, N. C. *Schalm's Veterinary Hematology*, 5 ed., Philadelphia, 2000, p. 63-128.
- HARVEY, J. W. *Atlas of veterinary hematology - Blood and bone marrow of domestic animals*. Saunders, Philadelphia, 2001, p. 93-123.
- HOCHACHKA, P. W., BUCK, L.T., DOLL, C. J. e LAND, S.C. Unifying theory of hypoxia tolerance: molecular/metabolic defense and rescue mechanisms for surviving oxygen. *Lack. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93: 9493-9498, 1996.
- HOSTETTER, T. H. Progression of renal disease and renal hypertrophy. *Annu. Rev. Physiol.* 57: 263 - 278, 1995.
- JACOBSON, L. O.; GOLDWASSER, E.; FRIED, W. e PLZAK, L. apud KRANTZ, 91 Role of the Kidney in erythropoiesis. *Nature*, 179, p. 633-634, 1957.
- JAIN, N. C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, p. 73-81, 133-158, 219.
- JELKMANN, W. Biology of Erythropoetin. *Clin. Invest. Med.* 72, p. 53-510, 1994.
- JELKMANN, W. Erythropoetin: Structure, Control of Production and Function. *Physiological Reviews.* 72:2, p. 449-489, 1992.
- JERGENS, A. E.; McCAW, D. L. e HEWETT, J. E. Effects of collection time and food consumption on the urine protein/creatinine ratio in the dog. *Am. J. Vet. Res.* 48: 1106-1109, 1987.

- JONES, C. J., HUNT, R. D., KING, N. W. *Veterinary Pathology*, 6 ed., Philadelphia: Williams & Wilkins, 1997, p. 1009-1020.
- JONES, C. L.; ALLISON, A. E. Tubulointerstitial nephritis. *Pediatr. Nephrol.* 6:572-586, 1992.
- KAYE, M. The anemia associated with renal disease. *J Lab Clin Med.* 52: 83-100, 1957.
- KING, L. G.; GIGER, U; DISERENS, D. e NAGODE, L. A. Anemia of chronic renal failure in dogs. *J. Vet. Internal Medicine.* 6: 264-270, 1992.
- KOURY, S. T.; BONDURANT, M. C. e KOURY, M. J. Localization of Erythropoietin Synthesizing Cells in Murine Kidneys by in situ Hybridization. *Blood*, 71, p. 524-527, 1988.
- KOURY, S. T.; KOURY, M. J.; BONDURANT, M. C.; CARO, J.; GRABER, S. E. Quantitation of erythropoietin-producing cells in kidneys of mice by in situ hybridization: correlation with hematocrit, renal erythropoietin mRNA, and serum erythropoietin concentration. *Blood.* 74, p. 645-, 1989.
- KRAFT, W.; HARTMAN, K. e DERESER, R. Altersabhängigkeit von Laborwerten bei hund und Katze. Teil III. Bilirubin, kreatinin und protein im Blutserum [Age dependency of laboratory values in dogs and cats. Part III. Bilirubin, creatinine and protein in serum]. *Tierärztl Prax.* 24: 610-615, 1996.
- KRANTZ, S. B. Erythropoietin. *Blood.* 77:3, p. 419-434, 1991.
- KUHL, S.; MISCHKE, R.; LUND, C. e GÜNZEL-APEL, A.R. Referenzwerte klinisch-chemischer Blutparameter bei hundewelpen in den ersten acht Lebenswochen [Reference values of chemical blood parameters for

puppies during the first eight weeks of life]. *Dtsch Tierärztl Mschr.* 107: 438-443, 2000.

LABATO, M.A., ROSS. L.A. Plasma disappearance of creatinine as a renal function test in the dog. *Res. Vet. Sci.* 50:253-258, 1991.

LACOMBE, C., DA SILVA, J., BRUNEVALL, P.; FOUTNIER, N., WENDLING, N.; CASADEVALL, J.; CAMILLERI, J., BARIETY, B., VARET, B. e TAMBOURIN, P. Peritubular Cells are the Site of Erythropoietin Synthesis in the Murine Hypoxic Kidney. *J. Clin. Invest.* 81, p. 620-623, 1988.

LAUFER, R. Estudo da correlação diagnóstica entre citologia, biópsia “de janela” e exame “post-mortem” em rins de cães. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

LEFEBVRE, H. P.; LAROUTE, V. e TOUTAIN, P. L. Effects of renal impairment on the disposition of orally administered enalapril, benazepril, and their active metabolites. *J. Vet. Intern. Med.* 13: 21-27, 1999.

LEHIR, M.; KAISLING, B.; GANDHI, R.; DUBACH, U.C. Fibroblasts may represent the main site of production of interstitial adenosine in the kidney. *Kidney International.* 36, p. 319 – 320, 1989.

LINDEMANN, R. Erythropoiesis inhibitory factor (EIF). I. Fractionation and demonstration of urinary EIF. *Br J Haematol* 1971; 21: 623-31.

LOGE, J.P., LANGE, R.D. e MOORE, C.V. Characterization of the anemia associated with chronic renal insufficiency. *Am J Med.* 24: 4-18, 1958.

LOWSETH, L. A.; GILLETT, N. A.; GERLACH, R. F. e MUGGENBURG, B. A. The effects of aging on hematology and serum chemistry values in the Beagle dog. *Vet. Clin. Pathol.* 19: 13-19, 1990.

- MASHITA, T.; YASUDA, J.; IJIMA, M.; TAKIGUCHI, M.; YAMAZAKI, T. e HASHIMOTO, A. Short term hemodialysis treatment in dogs and cats with total uretric obstruction. *Jpn. J. Vet. Res.* 45: 59-65, 1997.
- MATSUZAWA, T.; NOMURA, M. e UNNO, T. Clinical pathology reference ranges of laboratory animals. *J. Vet. Med. Sci.* 55: 351-362, 1993.
- MAXWELL, A. P.; LAPPIN, T. R. J.; JOHNSTON, C. F.; BRIDGES, J. M. e McGEOWN, M. G. Erythropoietin production in kidney tubular cells. *British journal of Haematology.* 74, 535 – 339, 1990.
- MCCAW, D.L.; KNAPP, D.W. e HEWETT, J.E. Effect of collection time and exercise restriction on the prediction of urine protein excretion, using urine protein/creatinine ratio in dogs. *Am J. Vet Res.* 46: 1665-1669, 1985.
- MCGONIGLE, R.J.; HUSSERL, F; WALLIN, J.D. e FISHER, J.W. Hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis effect on erythropoiesis in renal failure. *Kidney Int* 1984; 25: 430-6.
- MONTI, J. P.; BRUNET, P. J.; BERLAND, Y. F; VANUXEM, D. C.; VANUXEM, P. A. e CREVAT, A. D. Opposite effects of urea on hemoglobin-oxygen affinity in anemia of chronic renal failure. *Kidney Int.* 48: 827-831, 1995.
- MORIYAMA, Y.; SAITO, H. e KINOSHITA, Y. Erythropoietin inhibitor in plasma from patients with chronic renal failure. *Haematologia* 1970; 4: 15-20.
- MORIYANA, Y. e FISHER, J.W. Effects of erythropoietin on erythroid colony formation in uremic rabbit bone marrow cultures. *Blood* 1975; 45: 659-64.
- MORITZ, K.M.; GAIK, B. L. e WINTROUR, E. M. Developmental regulation of erythropoetin and erythropoiesis. *Am. Physiol. Society*, 273, R1829-R1844, 1997.

- MORRISON, S. J.; UCHIDA, N.; WEISSMAN, I. L. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 11, p. 35-71, 1995.
- NAP, R. C.; HAZEWINCKEL, H. A. W.; VOORHOUT, G. VAN DER BROM, W. E.; GOEDEGEBUURE, S. A. E VAN 'T KLOOSTER, A. T. Growth and skeletal development in Great Dane pups fed different levels of protein intake. *J. Nutr.* 121: 5107-5113, 1991.
- NATH, K. A. Tubulointerstitial changes as a major determinam in the progression of renal damage. *Am. J. Kidney Dis.* 20:1-17, 1992.
- NATH, K. A. The tubulointerstitium in progressive renal disease. *Kidney Int.* 54:992-994, 1998.
- O'CONNELL, J.M.B., ROMEO, J. A., MUDGE, G. H. Renal tubular secretion of creatinine in the dog. *Amer. J. Physiol.* 203:985-990, 1962.
- ONG, A. C. M.; JOWETT, T. P.; FIRTH, J. D.; BURTON, S.; KITAMURA, M. E FINE, L. G. A new paracrine loop implicated in human tubulo-interstitial fibrosis: Tubular-derived endothelins modulate renal interstitial fibroblast function. *J. Am. Soc. Nephrol.* 4, p. 473, 1993.
- ORISIO, S.; BENIGNI, A.; BRUZZI, I.; CORNA, D.; PERICO, N.; ZOJA, C.; BENATTI, L. E REMUZZI, G. Renal endothelin gene expression is increased in remnant Kidney and correlates with disese progression. *Kidney Int.* 43, p. 354-358, 1993.
- ORKIN, S.H. Transcription factors and hematopoietic development. *J. Biol. Chem.* 1995, 270, p. 4955-4958. *apud* CAR, B. D. Erythropoiesis and erythrokinetics. *In: FELDMAN, B. F., ZINKL, J. G., JAIN N. C. Schalm's Veterinary Hematology*, 5 ed., Philadelphia: Willians & Wilkins, 2000, cap. 18, p. 105-109.

- PASSING, H. e BRUNK, R. Statistische Untersuchungen auf altersund geschlechtsspezifische Unterschiede von Blutparametern an englischen Beagle-hunden. II. Klinische Chemie. Statistical examination of age and sex-specific differences in blood parameters of English Beagle dogs. II. Clinical chemistry. Berl. Münch Tierärztl Wschr. 94: 432-436, 1981.
- PECHEREAU, D.; MARTEL, P.; BRAUN, J. P. Plasma erythropoietin concentrations in dogs and cats: reference values and changes with anaemia and/ or chronic renal failure. Research in Veterinary Science. 62, p. 185-188,1997.
- PETRITES-MURPHY, M. B.; PIERCE, K. R.; LOWRY, S. R. e FISCHER, J. W. Role of parathyroid hormone in the anaemia of chronic renal dysfunction in dogs. American Journal of Veterinary Research. 50, p. 1988-1905, 1989.
- POLZIN, D.J.; OSBORNE, C. A. Pathophysiology of renal failure and uremia. *In*: OSBORNE, C. A. e FINCO, D. R. Canine and feline nephrology and urology. Philadelphia: Willians & Wilkins, 1995, p. 335-367.
- POLZIN, D.J.; OSBORNE, C. A.; BARTGES, J. W.; JAMES, K. M. e CHURCHILL, J. A. Insuficiência renal crônica. *In*: ETTINGER, S. J. e FELDMAN, E. C. Tratado de medicina interna veterinária. 4ª ed., São Paulo, Manole; 1997, vol. 2, p. 2394 – 2431.
- PORTER, D. L. e GOLDBERG, M. A. Physiology of erythropoietin production. Seminars in Haematology. 31, p. 112-121, 1994.
- RADTKE, H.W.; FREI, U; ERBES, P.M.; SCHOEPPE, W e KOCH, K.M. Improving anemia by hemodialysis: Effect on serum erythropoietin. Kidney Int 1980; 17: 382-7.

- RATCLIFFE, P. J. Molecular biology of erythropoietin. *Kidney International*. 44, p. 887 – 904, 1993.
- ROBINSON, T.; HARBISON, M.; BOVÉE, K.C. Influence of reduced renal mass on tubular secretion of creatinine in the dog. *Am. J. Vet. Res.* 35: 487-491, 1974.
- RODGERS, G. M.; FISCHER, J. W. e GEORGE, W. J. Increase in hematocrit, hemoglobin and red cell mass in normal mice after treatment with cyclic AMP. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 148: 380, 1975.
- RODGERS, G. M.; FISCHER, J. W. e GEORGE, W. J. The role of renal adenosine 3', 5' – monophosphate in the control of erythropoietin production. *Am. J. Med.* 58:31, 1975.
- SAMIY, A.H. Renal disease in the elderly. *Med. Clin. North Am.* 67:463,1983.
- SAPIRSTEIN, L.A.; VIDT, D.G.; MANDEL, M.J.; HANUSEK, G. Volume of distribution of intravenously injected creatinine in the dog. *Am. J. Physiol.* 181:330-336, 1955.
- SCHLOERB, P.R. Total body water distribution of creatinine and urea in nephrectomized dogs. *Am. J. Physiol.* 199:661-665, 1960.
- SHANNON, J. A.; JOLLIFFE, N.; SMITH, H. W. The excretion of urine in the dog. VI. The filtration and secretion of creatinine. *Am. J. Physiol.* 102:534-550, 1932.
- STRASSER, A.; HOCHLEITHNER, M. e BUBNA-LITTITZ, H. Zur Belastung von Gebrauchshunden bei der Suchtgiftsuche [Stress in dogs searching for drugs]. *Wien Tierärztl Mschr.* 80: 352-355, 1993.
- STRASSER, A.; SEISER, M.; SIMUNEK, M.; HEIZMANN, V. E NIEDERMULER, H. Physiologische Altersveränderungen beim Hund

(longitudinalstudie in einer Beagle-Kolonie) [physiologic changes with age in the dog (longitudinal study in a Beagle dog colony)]. Wien Tierärztl Mschr. 84: 189-198, 1997.

STRUTZ, F. e MULLER, G. A. On the progression of chronic renal disease. Semin Renal Physiol. 69:371-379, 1995.

SWANSON, R.E., HAKIM, A. A. Stop-flow analysis of creatinine excretion in the dog. AM. J. Physiol. 203:980-984, 1962.

TESKE, R. H.; BISHOP, S. P.; RIGHTER, H. F. e DETWEILER, D. K. Subacute digoxin toxicosis in the Beagle dog. Toxicol. Appl. Pharmacol. 35: 283-301, 1976.

TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A. e NETO, A. G. F. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. 2ª ed. São Paulo. 331p.

TRIOLA, M. F. Introdução à estatística. 7ª ed. Rio de Janeiro. 410p, 1999.

UECHI, M.; TERUI, H.; NAKAYAMA, T.; MISHINA, M.; WAKAO, M. E TAKAHASHI, M. Circadian variation of urinary enzymes in the dog. *J Vet Med. Sci.* 56: 849-854, 1994.

UECHI, M.; UECHI, H.; NAKAYAMA, T.; WAKAO, Y. E TAKAHASHI, M. The variation of excretory urinary glycyl-prolyl dipeptidyl aminopeptidase in dogs. *Res. Vet. Sci.* 63: 97-99, 1997.

VAJDOVICH, P.; GAAL, T.; SZILAGYI, A. E HARNOS, A. Changes in some red blood cell and clinical laboratory parameters in young and old Beagle dogs. *Vet. Res. Comm.* 21: 463-470, 1997.

VAN DER BROM, W. E. e BIENWEGA, W. J. Assessment of glomerular filtration rate in normal dogs: analysis of the ⁵¹Cr-EDTA clearance and its

relation to several endogenous parameters of glomerular filtration rate.

Res. Vet. Sci. 30: 152-157, 1981.

VANHOLDER, R. e SMET, R. Pathophysiologic effects of uremic retention solutes. J. Am. Soc. Nephrol. 10: 1815-1823, 1999.

ZANJANI, E.D.; ASCENSAO, J.L.; McGLAVE, P.B.; BANISADRE, M. e ASH, R.C. Studies on the liver to kidney switch of erythropoietin production. J. Clin. Investigation. 67, p. 1183-1188, 1981.

ZON, L. Developmental Biology of Hematopoiesis. Blood. 86, p. 2876-2981, 1995.

WALLNER, S.F.; KURNICK, J.E.; WARD, H.P.; VAUTRIN, R. e ALFREY A.C. The anemia of chronic renal failure and chronic diseases: In vitro studies of erythropoiesis. Blood 1976; 47: 561-9.

WALLNER, S.F.; VAUTRIN, R.M.; KURNICK, J.E. e WARD, H.P. The effect of serum from patients with chronic renal failure on erythroid colony growth in vitro. J Lab Clin Med 1978; 92: 370-5.

WALLNER, S.F. e VAUTRIN, R.M. Evidence that inhibition of erythropoiesis is important in the anemia of chronic renal failure. J Lab Clin Med 1981; 97: 170-8.

WATSON, A.D.J., LEFEBVRE, H. P., CONCORDET, D, et al. Plasma exogenous creatinine clearance test in dogs: comparison with other methods and proposed limited sampling strategy. J. Vet intern. Med.16: 22-33, 2002.

WOLFORD, S. T.; SCHROER, R. A.; GOHS, F. X.; GALLO, P. P.; FALK, H. B. e DENTE, A. R. Effect of age on serum chemistry profile, electrophoresis

and thyroid hormones in Beagle dogs two weeks to one year of age. *Vet. Clin. Pathol.* 17: 35-42, 1988.

YAWATA, Y. Atlas de doenças hematológicas – Citologia e histologia. 1ª ed. Manole. São Paulo. 207p. 1998.

YEE, J.; KUNCIO, C. S. e NEILSON, E. G. Tubulointerstitial injury following glomerulonephritis. *Semin. Nephrol.* 11:361-366, 1991.

Anexo 1. Parâmetros hematológicos e bioquímicos dos animais do grupo controle

Número	HEMATIMETRIA			BIOQUÍMICO		Idade	Sexo
	Hemáceas (μ l)	Hemoglobina (g/dl)	Vol. Globular (%)	Uréia (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)		
P 10/02	4,59 x 106	10,3	33	45	1,2	10a	F
P 20/02	6,56 x 106	15,5	46	28,2	0,9	9a	M
N215/02	6,35 x 106	14,4	44	30,3	0,6	17a	F
N216/02	5,93 x 106	14,3	44	28,4	0,6	3a 2m	F
N307/02	7,48 x 106	16,9	52	33,9	1	8a	M
P 55/03	6,73 x 106	15,2	45	23,3	0,9	3a	M
P 56/03	5,4 x 106	13	38	23,8	0,5	3a	F
P 62/03	5,26x106	14,6	43	44,8	1,11	?	M
P 63/03	4,66 x 106	10,4	31	21	1,18	?	F
P 89/03	7,48 x 106	16,9	53	30	1	11a	M
P 90/03	7,97 x 106	18,4	55	45	1,1	8a	M
P 93/03	5,12x 106	12,3	37	41	0,8	13a	F
P137/03	6,14 x 106	14,2	42	38	0,7	8a	M
P 50/04	6,8 x 106	13,6	44	39	0,9	5a 7m	F
P 52/04	7,1 x 106	15,3	52	33	0,8	4a 8 m	M

Anexo 2. Parâmetros hematológicos e bioquímicos dos animais do grupo com IRC

Número	HEMATIMETRIA			BIOQUÍMICO		Idade	Sexo
	Hemáceas (μ l)	Hemoglobina (g/dl)	Vol. Globular (%)	Uréia (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)		
N 111/01	$4,77 \times 10^6$	11,6	32	348,7	6,7	10a	F
N 113/01	$0,3 \times 10^6$	3,3	12	25,16	0,6	5a 3m	M
N 117/01	$6,36 \times 10^6$	15,3	42	231,3	11	10a	F
N 266/02	$6,81 \times 10^6$	17,1	47	212,72	6,9	15a 10m	F
N 302/01	$1,68 \times 10^6$	5,34	11,7	42,7	1,1	5a 6m	F
N 304/01	$2,2 \times 10^6$	5,1	11	328	5,3	6a	M
N 352/01	$4,61 \times 10^6$	11,2	34	240	6,1	11a 7m	F
N231/01	$2,57 \times 10^6$	5,6	17	92,4	3,1	13a 8m	F
P 136/03	$4,33 \times 10^6$	11,1	33	225	6,1	5a	F
P 17/03	$0,99 \times 10^6$	2,6	8	422,1	8,9	5a	M
P 21/02	$5,92 \times 10^6$	15,6	48	444,7	21,5	8a	M
P 22/04	$2,42 \times 10^6$	6,8	18	415	9,3	7a	M
P 30/04	$3,9 \times 10^6$	9,5	32	354	6,4	6a 8m	F
P 31/04	$2,8 \times 10^6$	7,2	19	412	7,3	7a	F
P 32/04	$3,2 \times 10^6$	8,4	29	374	5,2	5a 6m	M

Anexo 3. Análise histopatológica renal dos animais do grupo controle

	P	P	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
	10/03	20/03	215/02	216/02	307/02	55/03	56/03	62/03	63/03	89/03	90/03	93/03	137/03	50/04	52/04
Alterações Glomerulares															
Número De Glomérulos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Espessamento Difuso Da Parede Capilar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acentuação Da Arquitetura Lobular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Simplificação Da Arquitetura Lobular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aumento De Matriz Mesangial	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-
Obliteração Da Luiz Capilar	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Espessamento De Membrana Basal	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	++	-	-	+	+
Hiperplasia De Cél. Endoteliais	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hiperplasia De Células Epiteliais	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Hiperplasia De Células Mesangiais	-	+	++	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-
Formação De Crescentes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sinéquias	-	+	++	++	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Esclerose Glomerular	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Alterações Tubulares E Intersticiais															
Regeneração Do Epitélio Tubular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Degeneração Tubular	+	+	-	-	-	+	++	-	-	-	-	-	+	+	-
Necrose Tubular	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-
Fibrose Intersticial	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
Atrofia Do Epitélio Tubular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vasos Sangüíneos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tireoidização	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dilatação Tubular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infiltrado Inflamatório															
Focal	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	
Multifocal	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	++	-	+	-	
Difuso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Discreto	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	
Moderado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
Acentuado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Intersticial	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	
Peritubular	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	
Periglomerular	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	
Linfocitário	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Plasmocitário	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	
Linfoplasmocitário	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	
Neutrófilico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Diagnóstico															

	N 1110	N 113/0	N 117/0	N 302/0	N 304/0	N 321/0	N 352/0	N 266/0	P 21/0	P 17/0	P 136/0	P 22/04	P 30/0	P 31/0	P 32/0
	1	1	1	1	1	1	1	2	2	3	3	4	4	4	4
Alterações Glomerulares															
Número De Glomérulos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Espessamento Difuso Da Parede Capilar	+++	++	+++	+	++	++	++	-	+++	+++	-	+++	++	++	++
Acentuação Da Arquitetura Lobular	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	++	++
Simplificação Da Arquitetura Lobular	-	-	++	++	+	++	+++	++	-	-	+++	+++	+++	-	-
Aumento De Matriz Mesangial	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+	+	-
Obliteração Da Luz Capilar	+++	+	++	++	++	++	++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	++
Espessamento De Membrana Basal	+++	+++	+++	++	++	+++	+	++	+++	+++	-	+++	++	+	+++
Hiperplasia De Cél. Endoteliais	++	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Hiperplasia De Células Epiteliais	+++	++	-	-	+	++	++	+	+++	-	++	-	-	++	+
Hiperplasia De Células Mesangiais	+++	+	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	++	-	++	+++	++
Formação De Crescentes	+	++	++	-	+	++	+	-	+++	-	+++	+++	-	-	++
Sinéquias	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++
Esclerose Glomerular	+++	+	+++	+	++	++	++	-	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
Alterações Tubulares E Intersticiais															
Regeneração Do Epitélio Tubular	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+++	++	++	++
Degeneração Tubular	-	++	+++	++	-	++	+++	++	+	+	++		+	++	++
Necrose Tubular	++	++	+++	+	++	++	+++	++	++	++	++	+++	++	+++	++
Fibrose Intersticial	+++	+	+++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Atrofia Do Epitélio Tubular	-	+	++	+	-	++	++	-	++	++	++	+++	++	++	++
Vasos Sangüíneos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tireoidização	+++	+	+++	-	+	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Dilatação Tubular	+++	+	+++	+	+++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Infiltrado Inflamatório															
Focal	-	++	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	++	-
Multifocal	+++	-	++	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	+++	-	+++
Difuso	-	-	-	-	-	+++	-	-	+++	+++	+++	+++	-	-	
Discreto	-	+		+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+++	-
Moderado	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	++
Acentuado	+++	-	-	-	-	++	+++	-	+++	+++	+++	+++	-	-	-
Intersticial	++	+	+++	-	-	++	-	-	+++	+++	+++	+++	-	++	++
Peritubular	++	++	++	+	-	++	+	+	++	++	+++	+++	+	-	+
Periglomerular	+	+	++	-	-	++	+++	+	+++	+++	+++	+++	++	++	++
Linfocitário	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+
Plasmocitário	-	+++	-	-	-	-	+++	-	-	+++	+++	-	++	++	++
Linfoplasmocitário	+++	-	+++	++	-	+++	-	+	+++	-	-	+++	-	-	-
Neutrófilico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-
Diagnóstico	GMP NI	GM NIF	GNC NIC	GPM NIF	GPM	GMP NIC	GPM NIC	GPM NIF	GNC NI	GM NIC	GNC NIC	GNC NI	GNC NI	GNC NI	GNC NI

Anexo 5. Contagem dos precursores eritróides nos animais do grupo controle

	Eritroblasto					Rubricito basófilo					Rubricito policromatófilo					Metarubricito				
N 215/02	1	4	6	4	3	7	10	8	9	8	2	10	3	4	3	1	4	2	3	2
	2	3	1	4	1	6	5	3	7	6	2	11	3	9	3	0	1	3	2	3
N 216/02	2	3	1	1	4	6	7	5	6	4	13	4	3	12	11	1	2	3	3	4
	3	2	2	5	6	11	19	13	5	7	6	5	7	3	2	2	2	1	3	1
N 307/02	2	3	1	4	1	16	15	13	5	12	2	11	8	5	9	0	1	3	2	3
	1	4	3	4	3	7	19	8	6	8	9	8	3	4	3	1	4	2	3	2
P 55/03	3	5	4	7	2	8	16	11	9	7	3	5	6	9	4	1	0	3	2	4
	6	7	2	8	4	9	10	14	15	13	2	4	12	3	11	1	2	2	0	3
P 56/03	3	4	5	2	3	17	16	5	18	16	3	7	6	9	10	3	2	1	2	3
	6	4	5	3	2	19	17	8	16	15	6	11	13	3	4	3	2	1	0	1
P 62/03	3	4	5	5	2	28	12	15	4	8	9	3	11	9	3	3	1	0	1	0
	6	5	4	5	3	9	26	14	25	6	3	6	5	4	8	3	2	1	1	4
P 63/03	6	5	4	3	5	16	18	15	17	19	6	4	5	7	5	3	2	3	2	5
	5	4	4	2	6	28	19	7	16	18	3	5	4	6	9	2	3	2	4	2
P 89/03	5	6	3	5	3	9	6	14	5	11	13	6	9	7	8	3	2	1	1	4
	3	4	5	2	3	7	6	5	8	12	10	4	8	7	3	3	2	1	2	3
P 90/03	12	16	14	17	11	25	26	24	21	19	7	9	11	6	7	7	12	13	11	14
	11	14	9	5	4	36	29	26	33	35	4	7	9	12	14	6	7	9	11	6
P 93/03	13	15	19	17	16	32	33	34	29	27	11	13	14	10	9	6	11	9	10	8
	11	15	14	13	12	25	22	19	17	16	9	7	6	11	13	9	7	5	4	6
P 137/03	16	15	11	17	10	31	29	27	23	24	12	15	16	12	9	11	6	9	7	5
	12	10	9	13	15	27	23	31	29	33	9	12	11	16	8	6	7	4	3	5
P 10/02	9	11	14	12	8	23	24	26	27	21	7	9	3	11	13	4	5	7	3	6
	7	11	14	16	9	22	26	27	29	31	8	13	9	7	12	6	4	3	5	4
P 20/02	18	3	14	9	6	42	34	31	28	32	5	8	11	13	9	7	15	12	10	9
	11	13	8	5	4	36	29	27	33	37	4	6	9	12	14	6	8	9	13	7
P 50/04	9	11	15	10	8	26	28	32	27	31	11	9	7	6	10	5	4	8	3	2
	8	6	4	7	10	23	26	29	31	20	9	5	11	13	8	3	5	6	9	7
P 52 /04	7	5	6	4	8	17	14	19	22	25	7	6	9	11	8	4	3	5	2	6
	5	7	6	3	4	23	26	27	23	28	9	12	8	7	10	3	5	7	8	4

Anexo 6. Contagem dos precursores eritróides nos animais com IRC

	Eritroblasto					Rubricito basófilo					Rubricito policromatófilo					Metarubricito				
N 111/01	5	4	6	6	9	5	8	3	4	8	6	7	2	5	5	4	0	2	3	4
	4	3	5	4	2	9	6	5	4	4	2	3	5	3	4	2	3	1	2	3
N 113/01	10	9	9	8	11	33	38	46	32	35	26	29	22	18	20	310	260	73	156	220
	8	7	6	9	11	33	35	34	38	41	21	26	28	17	16	220	253	261	183	279
N 117/01	7	10	9	9	10	10	15	13	19	7	7	13	14	12	11	9	12	8	11	5
	3	2	5	4	3	8	10	13	9	10	17	20	14	12	9	21	16	12	17	11
N302/01	3	1	2	1	0	3	2	4	6	5	9	8	7	3	4	11	6	8	9	12
	2	3	1	3	4	3	5	4	3	2	8	6	5	4	7	9	7	5	6	4
N 304/01	4	3	2	3	2	5	6	4	3	5	14	11	9	8	10	11	9	7	6	8
	3	2	0	2	4	5	4	3	2	3	8	6	5	4	6	6	7	4	3	2
N 321/01	3	5	3	1	2	6	3	4	1	3	6	7	9	4	5	5	6	4	2	1
	2	1	1	3	4	5	4	2	3	1	5	9	7	4	3	4	6	5	3	2
N352/01	7	10	9	9	10	10	15	13	19	7	7	13	14	12	11	9	12	8	11	5
	8	9	11	13	6	7	11	14	16	9	11	9	10	8	12	8	11	6	5	7
N 266/02	6	7	9	5	3	12	9	6	12	8	21	19	17	14	11	26	14	16	13	16
	3	2	5	4	3	8	10	13	9	10	17	20	14	12	9	21	16	12	17	11
P 21/02	23	33	19	21	15	84	77	63	72	67	8	13	17	11	10	5	7	11	9	10
	21	29	17	26	32	66	61	71	69	57	11	9	15	8	13	3	7	8	12	14
P 17/03	17	32	45	8	8	56	78	156	65	56	13	9	14	5	8	8	5	10	11	9
	22	18	33	15	13	51	29	82	43	64	19	5	12	3	4	2	6	7	13	5
P 136/03	9	11	13	8	10	26	29	35	21	17	9	13	17	5	9	4	8	11	4	3
	8	7	5	3	8	18	15	11	19	23	4	6	7	9	11	6	9	11	5	7
P 22/04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P 30/04	3	5	4	1	3	3	4	2	1	3	2	3	1	2	3	4	1	3	4	3
	1	2	2	3	4	1	3	1	1	2	2	3	2	1	3	2	1	3	1	2
P31/04	1	2	2	3	4	1	3	1	1	2	2	3	2	1	3	2	1	3	1	2
	2	1	1	3	4	2	3	1	1	2	3	1	1	2	1	1	3	3	2	2
P 32/04	3	2	1	1	3	6	4	2	1	1	2	3	0	1	2	4	3	1	5	2
	3	4	2	2	1	3	2	2	1	2	3	4	3	1	1	1	2	4	3	2

Anexo 7. Análise estatística (teste T de Student) entre as variáveis hematológicas e bioquímicas nos animais do grupo controle e dos animais com IRC.

		HEMATIMETRIA			BIOQUÍMICO	
		HEMÁCEAS (μ l)	HEMOGLOBINA (g/dl)	VOL. GLOBULAR (%)	URÉIA (mg/dl)	CREATININA (mg/dl)
DOENTES	Média	3524000,00	9,05	26,25	277,85	7,03
	DP	1942589,58	4,53	13,41	139,44	4,89
CONTROLE	Média	6231333,33	14,35	43,93	33,65	0,89
	DP	1071053,33	2,25	7,15	8,15	0,22
	Teste utilizado	T de Student	T de Student	T de Student	T de Student	T de Student
	Estatística	4,727	4,061	4,508	6,771	4,867
	valor de P	< 0,0001	0,0004	0,0001	< 0,0001	< 0,0001
	interpretação	C > D	C > D	C > D	C < D	C < D

