

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PAPEL DA ANGIOTENSINA II E DAS  
PROSTAGLANDINAS NO MECANISMO DE REGULAÇÃO  
DA FUNÇÃO RENAL DE CÃES APÓS INGESTÃO DE UMA  
CARGA DE PROTEÍNA**

**GABRIELA JAYME COVIZZI**  
Médica Veterinária

**JABOTICABAL- SÃO PAULO- BRASIL**  
2007

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PAPEL DA ANGIOTENSINA II E DAS  
PROSTAGLANDINAS NO MECANISMO DE REGULAÇÃO  
DA FUNÇÃO RENAL DE CÃES APÓS INGESTÃO DE UMA  
CARGA DE PROTEÍNA**

**GABRIELA JAYME COVIZZI  
ORIENTADOR: Prof Dr WILTER RICARDO R. VICENTE**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias, Unesp – Jaboticabal –  
SP, como parte das exigências para obtenção  
do título de doutor em Medicina Veterinária,  
(área de concentração Clínica Médica)

**JABOTICABAL- SÃO PAULO- BRASIL SP**  
Janeiro de 2007

## **DADOS CURRICULARES**

Gabriela Jayme Covizzi, Médica Veterinária, brasileira, nascida na cidade de São Paulo, em três de junho de 1974, filha de Cristina Barude Jayme e Carlos Adroaldo Ramos Covizzi. Graduada na Universidade Federal da Bahia em 17 de fevereiro de 2000. Participou do Serviço de Nefrologia e Urologia do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, câmpus de Jaboticabal durante o ano de 2000. Mestre em Medicina Veterinária, área de concentração Clínica Médica, pela Universidade Estadual Paulista, faculdade de ciências agrárias e veterinárias, câmpus de Jaboticabal, título obtido em 26 de fevereiro de 2003.

*Dedico este trabalho*  
*À minha avó Lourdes, ao meu avô Antônio,*  
*presenças eternas em minha vida!*  
*À minha mãe, uma grande mulher!*  
*Ao meu pai, incentivador, exemplo e força!*  
*À Professora Marileida, mais que mestre, uma mãe!*

## AGRADECIMENTOS

Para que mais este sonho fosse realizado, muitas pessoas foram importantes, sem elas nada disso teria acontecido! Cada uma, de uma maneira ou outra tiveram papel essencial!

Agradeço à minha mãe, que além da oportunidade da vida me deu exemplo, incentivo e base para todas as horas! “Ô mulher arretada”!! Meu amor por você não tem tamanho!

Ao papai, querido, amado, prova de como a vida sempre nos trás grandes surpresas! Obrigada por existir e fazer parte da minha história, por sempre me incentivar e estar ao meu lado! Quem sabe você ainda terá uma filha erudita?!!!

À minha vizinha, amor da minha vida, o que te falar? Tenho que agradecer a Deus por ter me colocado perto de você! E ao vovô Anésio, por sempre ter feito parte de tudo, e ainda faz! Aonde quer que esteja, está perto do meu coração!

À Inara, minha *esfregueta*, você é presente dos céus!!!! Com você tudo se tornou mais fácil!

À minha tia Nilza, por seu exemplo forte de mulher e por estar sempre ao meu lado!

À Juju, minha irmã querida, a cumplicidade que nos une é para eternidade! E ao meu Thico, xodó da minha vida, um pouco meu filho, sobrinho, ser iluminado que sempre me dá inspiração para continuar!

Aos meus Tios Júlia e Fauzi, quantos momentos pude desfrutar com vocês!!!! Sempre me deram abrigo e conforto em todas as horas! Deus possa retribuir-lhes tudo o que fizeram por mim! Amo vocês!

À Tia Ignês, querida, você sabe o quanto é importante na minha vida! Nossas histórias levarei para sempre comigo!

Aos meus tios e primos Edu, Pry, Neno, Pati, Giovana, Fábio, Roxi, Sérgio, Mazé, Gu, Lídia, Ricardo, Rita, Caio, Tio Luiz, Tia Stela, Luiz Miguel, Joca e Rô, Leleco, Beto e Rafa, Carlito, Zé Mario, Tales e Maria, Andrei e Pri, João e Eliana. Paulo e Iara,

Gui e Clície, ufa! Eita família grande! Obrigada pelos momentos alegres, pelo convívio que sentirei tanta falta! O incentivo, e torcida de vocês foi muito importante para mim!

Aos primos Marcelo e Fernanda, vocês são muito especiais! O apoio e o carinho de vocês foram vitais para esta conquista. À Maroquinha, Ti e neném que ta chegando! Amo vocês!

À Geca, Drê e Lu, mais que primas, amigas, irmãs! Nossa amizade, cumplicidade, afeto, isso tudo não tem preço! Sou muito feliz por terem vocês do meu lado!

À Net minha amiga querida, por tantos momentos juntas, por seu carinho, sua presença!

À Poia, Vicolina e Van por compartilharmos momentos, emoções, experiências!! E muitas risadas! Adoro vocês

Ao Xé, por tantos anos fazendo parte da minha vida! Por sua amizade, carinho, risadas! Você é muito querido!

À Tati, Rafa, Glafira, Vanessa, Cassinha, Carol, amigas sotéropolitanas, a distâncias não nos separou! Me aguardem, to voltando!

A galera de Itápolis, Sérgio, Jotto, Ricardo, Nofrinho, Marinho, Marco Antônio, Juninho, Lilito, Luiz Mário, Gus, Deco, Gabi, Vi, Soketinho e Zé, pelas baladas, momentos de descontração, inesquecíveis! “Guidons” a parte!!! “Pipipipipi”!! “Vizzy”!!! Ig, não te esqueci não, você é minha amiguinha do peito, sua alegria me inspira! Amo amo amo! “18 vezes”!

Aos amigos de Jabuka, Loro, Homer, Lepra, Carol, Ri, Juan, Celina, Aninha, Carlinha, Erica, Nilson, Eli, Bitus, Ingrid, Marcão, Dani Bozo, Dani Girardi, Márcio, Andreinha e Lú cada um tomando seu rumo, mas nossa amizade vai estar comigo para sempre!

Ao Anderson, meu irmãzinho querido! O que teria sido de mim sem você? Te amo muito! Ainda mais por você se unir a uma amiga tão especial como a Má!

À Má, nossa amizade é tudo de bom nesta vida! Companheira, incentivadora, leal! Ter você como amiga é um privilégio! Sem falar como parceira de trabalho, tudo foi mais fácil com você por perto!

Às minhas irmãs Fê e Dê, nem sei como agradecer vocês! Essas pessoas foram tudo na minha vida! Momentos duros foram válidos por ter podido contar com vocês! Nosso amor é para sempre!

À Marcy, pela “Sort” de ter tido você como companheira de “AP”, por todos estes anos de companheirismo, amizade, fraternidade, amor! Acho que a “Sortuda” sou eu! Lembre-se sempre da Mãe Gaby!

À Arinha, por toda sua dedicação como companheira de trabalho, por tantos momentos agradáveis, baladinhas, viagens e tudo mais! Vai uma albumina aí? “Nuuu”!?!

Ao professor Wilter, pela oportunidade de realizar este sonho! Por sua paciência, amizade, carinho! Você é nosso Papis!

Ao professor Áureo, por sua atenção, proteção e sempre estar disposto a ajudar! Minha Gratidão eterna!

Aos colegas do Laboratório de Patologia Clínica, Geninho, Mateus e Aloísio, por sempre estarem dispostos a ajudar!

À professora Marileda, por me apresentar ao mundo fascinante da nefrologia e ter me dado à oportunidade de trabalhar na área. Que fique registrado, o êxito deste trabalho é obra incansável desta guerreira. Seu exemplo de ser humano, e suas lições de vida estarão sempre comigo! Devo muito a você! Agora mais do que mestre, uma mãe! Preciso falar mais?

À família Carvalho, por me aturar por tanto tempo, e ter aberto as portas deste lar, por tanto carinho. Sou-lhes muito grata!

À Ana Paula, colega de nefrologia, prova viva que o mundo da voltas, que bom que tudo é assim! No final fomos cúmplices de término de curso! Mais um motivo de felicidade!

À Marilde, que chegou “na reta final”, mas foi um anjo que caiu do céu! Sua ajuda foi muito importante para a conclusão deste trabalho!

Aos funcionários do Hospital Veterinário de Jaboticabal, Carlos, Cacilda, Sílvia, Marcos, Lalá, Márcia, Marcão, Lidiane, Zezé, Ligia, Flávia, Luiza, Izilda, Isaías,

Bertanha, Cris, Arnildo, Laurinho, Nice, Bel e Shizuko pela ajuda, pelos cafezinhos, cada um de alguma forma fez parte deste trabalho.

Aos professores, residentes e colegas de pós-graduação, pela agradável convivência, troca de experiências e espírito de coletividade.

Ao Cnpq, pela bolsa concedida e pela taxa de bancada que financiou esta pesquisa.

Finalmente, aos animais, por nos darem à oportunidade de aprender, descobrir e por ser o sentido de toda esta jornada. Obrigada especialmente aos cães, Teka, Margot, Meg, Preto, Catatau, Rabisco e Mel, pela fidelidade, momentos de carinho, e pela contribuição à ciência! O papel de vocês neste mundo é muito importante!

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                            | páginas |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| LISTA DE ABREVIATURAS.....                                                                                                                 | ix      |
| LISTA DE TABELAS.....                                                                                                                      | xi      |
| LISTA DE FIGURAS.....                                                                                                                      | xii     |
| Resumo.....                                                                                                                                | xv      |
| Abstract.....                                                                                                                              | xvi     |
| CONSIDERAÇÕES GERAIS.....                                                                                                                  | 1       |
| CAPÍTULO 2 – EFEITO DA INGESTÃO DE UMA CARGA DE PROTEÍNA<br>SOBRE A FUNÇÃO GLOMERULAR DE CÃES SADIOS.....                                  | 7       |
| Resumo.....                                                                                                                                | 7       |
| Introdução.....                                                                                                                            | 8       |
| Material e Métodos.....                                                                                                                    | 9       |
| Análise estatística.....                                                                                                                   | 13      |
| Resultados.....                                                                                                                            | 13      |
| Discussão.....                                                                                                                             | 18      |
| CAPÍTULO 3 – PAPEL DAS PROSTAGLANDINAS NO MECANISMO DE<br>REGULAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL DE CÃES APÓS INGESTÃO DE UMA<br>CARGA DE PROTEÍNA..... | 20      |
| Resumo.....                                                                                                                                | 20      |
| Introdução.....                                                                                                                            | 21      |
| Material e Métodos.....                                                                                                                    | 22      |
| Análise estatística.....                                                                                                                   | 26      |
| Resultados.....                                                                                                                            | 26      |
| Discussão.....                                                                                                                             | 32      |
| CAPÍTULO 4 – PAPEL DA ANGIOTENSINA II NO MECANISMO DE<br>REGULAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL DE CÃES APÓS INGESTÃO DE UMA<br>CARGA DE PROTEÍNA.....  | 36      |
| Resumo.....                                                                                                                                | 36      |
| Introdução.....                                                                                                                            | 37      |
| Material e Métodos.....                                                                                                                    | 39      |
| Análise estatística.....                                                                                                                   | 43      |
| Resultados.....                                                                                                                            | 44      |
| Discussão.....                                                                                                                             | 50      |
| REFERÊNCIAS.....                                                                                                                           | 52      |

## LISTA DE ABREVIATURAS

AI – angiotensina I  
AII – angiotensina II  
AINES – antiinflamatório não esteroidal  
Ccr – *clearance* de creatinina  
COX - ciclooxigenase  
COX-1 – ciclooxigenase-1  
COX-2 – ciclooxigenase-2  
CP – carga de proteína  
ECA – enzima conversora de angiotensina  
EfK – excreção fracionada de potássio  
EfNa – excreção fracionada de sódio  
EM – energia metabolizável  
i-ECA – inibidor da enzima conversora de angiotensina  
Kcal – quilocaloria  
Kg – quilograma  
Mcal – megacaloria  
PAD – pressão arterial diastólica  
PAM – pressão arterial média  
PAS – pressão arterial sistólica  
PB – proteína bruta  
PG - prostaglandinas  
PGI<sub>2</sub> – prostaglandina I<sub>2</sub>  
Salb – albumina sérica  
Scr – creatinina sérica  
SK – potássio sérico  
SNa – sódio sérico  
SPT – proteína total sérica  
SRAA – sistema renina angiotensina aldosterona

Sur – uréia sérica

TFG – taxa de filtração glomerular

U-P/C – razão: proteína/creatinina da urina

U-U/C – razão: uréia/creatinina da urina

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | páginas |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Tabela 1 – Valores (média±desvio padrão) e resultados do Teste t pariado para concentrações séricas de creatinina, uréia, proteína total e albumina, <i>clearance</i> de creatinina, volume de urina, razão proteína:creatinina da urina (U-P/C), razão uréia:creatinina da urina (U-U/C) e pressão arterial de sete cães (três machos e quatro fêmeas), clinicamente normais, avaliados em jejum (basal) e após carga oral de proteína (CP). Unesp - Jaboticabal, 2007.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 14      |
| Tabela 2 – Valores (média±desvio padrão) e resultados do Teste t pariado para concentrações séricas de creatinina (Scr), uréia (Sur), proteína total (SPT), albumina (Salb), sódio (SNa) e potássio (SK), além de <i>clearance</i> de creatinina (Ccr), volume de urina (vol. de urina), razão proteína:creatinina da urina (U-P/C), razão uréia:creatinina da urina (U-U/C), excreções fracionadas de sódio (EfNa) e potássio (EfK), e pressões arteriais sistólica, média e diastólica de sete cães (três machos e quatro fêmeas), clinicamente normais, avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com antiinflamatório (AINES), associação de carga de proteína e antiinflamatório (CP+AINES). Unesp - Jaboticabal, 2007.....                                  | 28      |
| Tabela 3 – Valores (média±desvio padrão) e resultados do Teste t pariado das concentrações séricas de creatinina (Scr), uréia (Sur), proteína total (SPT), albumina (Salb), sódio (SNa) e potássio (SK), além de <i>clearances</i> de creatinina (Ccr), volume de urina (vol. de urina), razão proteína:creatinina da urina (U-P/C), razão uréia:creatinina da urina (U-U/C), excreções fracionadas de sódio (EfNa) e potássio (EfK), e pressões arteriais sistólica, média e diastólica de sete cães (três machos e quatro fêmeas), clinicamente normais, avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com inibidor da enzima conversora de angiotensina (i-ECA), associação de tratamento com i-ECA e carga de proteína (CP+i-ECA). Unesp - Jaboticabal, 2007..... | 45      |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Páginas |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| FIGURA 1. Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) <i>clearance</i> de creatinina, (B) volume de urina, (C) razão proteína:creatinina da urina (U-P/C), e (D) razão uréia:creatinina (U-U/C) de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal) e após carga oral de proteína (CP). Unesp - Jaboticabal, 2007.....                                                                   | 15      |
| FIGURA 2. Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) creatinina sérica, (B) uréia sérica, (C) proteína total sérica e (D) albumina sérica de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal) e após carga oral de proteína (CP). Unesp - Jaboticabal, 2007.....                                                                                                                        | 16      |
| FIGURA 3. Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) pressão arterial sistólica, (B) pressão arterial média, e (C) pressão arterial diastólica de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal) e após carga oral de proteína (CP). Unesp - Jaboticabal, 2007.....                                                                                                                   | 17      |
| FIGURA 4. Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) <i>clearance</i> de creatinina, (B) volume de urina, (C) razão proteína:creatinina da urina (U-P/C) e (D) razão uréia:creatinina (U-U/C) de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), aplicação de anti-inflamatório (AINES), e associação de CP e AINES. Unesp - Jaboticabal, 2007..... | 29      |
| FIGURA 5. Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) excreção fracionada de sódio (EfNa), (B) sódio sérico, (C) excreção fracionada de potássio (EfK) e (D) potássio sérico de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP) aplicação de anti-inflamatório (AINES), e associação de CP e AINES. Unesp - Jaboticabal, 2007.....                    | 30      |

- FIGURA 6. Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) creatinina sérica, (B) uréia sérica, (C) proteína total sérica e (D) albumina sérica de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP) aplicação de anti-inflamatório (AINES), e associação de CP e AINES. Unesp - Jaboticabal, 2007..... 31
- FIGURA 7. Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) pressão arterial sistólica, (B) pressão arterial média, e (C) pressão arterial diastólica de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), aplicação de anti-inflamatório (AINES), e associação de CP e AINES. Unesp - Jaboticabal, 2007..... 32
- FIGURA 8. Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) clearance de creatinina, (B) volume de urina, (C) razão proteína:creatinina da urina (U-P/C) e (D) razão uréia:creatinina (U-U/C) de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com maleato de enalapril (i-ECA), e associação de CP e i-ECA. Unesp – Jaboticabal, 2007..... 46
- FIGURA 9. Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) excreção fracionada de sódio (EfNa), (B) sódio sérico, (C) excreção fracionada de potássio (EfK) e (D) potássio sérico de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com maleato de enalapril (i-ECA), e associação de CP e i-ECA. Unesp - Jaboticabal, 2007..... 47
- FIGURA 10. Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) creatinina sérica, (B) uréia sérica, (C) proteína total sérica e (D) albumina sérica de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com maleato de enalapril (i-ECA), e associação de CP e i-ECA. Unesp - Jaboticabal, 2007..... 48

FIGURA 11. Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) pressão arterial sistólica, (B) pressão arterial média e (C) pressão arterial distólica de sete cães clinicamente sadios avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com maleato de enalapril (i-ECA), e associação de CP e i-ECA. Unesp - Jaboticabal, 2007.....

## **PAPEL DA ANGIOTENSINA II E DAS PROSTAGLANDINAS NO MECANISMO DE REGULAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL DE CÃES APÓS A INGESTÃO DE UMA CARGA DE PROTEÍNA**

**RESUMO** - A ingestão de proteína promove modificações na função renal. O mecanismo que governa este evento ainda não é conhecido. O estudo foi composto por seis experimentos realizados com os mesmos animais. Inicialmente (capítulo 2) foi conduzida a avaliação basal e investigação das modificações da fisiologia renal determinadas pela carga de proteína (CP). No capítulo 3, foi estudada a participação das prostaglandinas na regulação das funções glomerular e tubular por meio do uso de antiinflamatório não-esteroidal, em condição basal e com CP. Do mesmo modo, o capítulo 4 destinou-se a estudar a relação do Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA) sobre a função renal e sua possível interação com a resposta dos rins à CP. Assim foram utilizados o inibidor da ECA (i-ECA), e a combinação de CP+i-ECA. Os experimentos permitiram concluir que cães saudáveis alimentados com uma carga de proteína equivalente à necessidade diária, respondem com aumento importante da taxa de filtração glomerular (TFG). As prostaglandinas participam do mecanismo de manutenção renal da homeostase de água, sódio e potássio continuamente e, atuam no mecanismo que aumenta a filtração glomerular após CP. Por outro lado, a angiotensina II (AII) pode ser responsável pela manutenção da TFG em situação basal, ou seja, quando o aumento da filtração não é requerido. Se fisiologicamente o cão apresenta aumento da TFG após ingestão de proteína, e este evento fica parcialmente restringido com a inibição da formação de AII, o aumento de liberação de renina pode desencadear diminuição não fisiológica da TFG. Assim, há indicativos de que o SRAA e as prostaglandinas trabalham de maneira contrabalanceada para manutenção da TFG, e a conservação destes mecanismos é essencial para a homeostase renal.

**Palavras-chave:** carga de proteína, função renal, prostaglandinas, antiinflamatório não esteroidal, sistema renina angiotensina aldosterona, inibidor da enzima conversora de angiotensina

## **ROLE OF ANGIOTENSIN II AND PROSTAGLANDIN IN THE REGULATION MECHANISM OF RENAL FUNCTION OF DOGS AFTER PROTEIN INGESTION**

**ABSTRACT** – The ingestion of protein promotes modifications in renal function but its mechanism is still unknown. The present study was based on six experimental essays using the same animals. Initially, there was a basal evaluation and also an investigation of modifications in renal physiology due to load protein (chapter 2). In chapter 3, it was studied the action of prostaglandin upon regulation of glomerular and tubular function through the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (basal and load protein). The relation of the renin angiotensin aldosterone system on renal function and its possible interaction with kidneys response to load protein was studied in chapter 4. For that purpose it was used ECA inhibitor (i-ECA), and the combination of load protein + i-ECA. The experiments allow us to conclude that healthy dogs fed with load protein equivalent to diary ingestion, presented a remarkable increase in GFR. Prostaglandins participate continuously of renal mechanism of water, sodium and potassium homeostasis and act in the mechanism that increases glomerular filtration after load protein. On the other hand, angiotensin II (All) may be responsible for the maintenance of GFR when the increase of filtration is not required (basal). If the dog presents increase in GFR after protein ingestion and this event remains partially restricted with the inhibition of All formation, the increase in renin release may promote a non-physiological diminution of GFR. Thus, there are indicatives that the renin angiotensin aldosterone system and the prostaglandins act in a counterbalanced way to maintain the GFR and the preservation of these mechanisms are essential for renal homeostasis.

**Keywords:** load protein, renal function, prostaglandin, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, renin angiotensin aldosterone system, ECA inhibitor

## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

O aparecimento de proteína na urina, em quantidade superior à normal, pode ser decorrente de fatores pré-renais, pós-renais ou renais intrínsecos. A proteinúria renal tem origem glomerular ou tubular. No caso da proteinúria tubular, a perda resulta de perturbação funcional das células tubulares e independe, portanto, da filtração glomerular. Quando a proteinúria é glomerular, a quantidade de proteínas presentes no filtrado supera a capacidade tubular de reabsorção (FINCO, 1995). Neste caso, pode ser subdividida em seletiva e não seletiva. A seletiva é decorrente de alterações brandas nos poros da parede dos capilares glomerulares, nas cargas negativas da membrana basal glomerular, que causam aumento da filtração de albumina. A proteinúria glomerular não seletiva decorre de danos mais severos da parede glomerular que causam transtorno no mecanismo de ultrafiltração, resultando em perda protéica por falha na restrição determinada por peso molecular e configuração espacial (LAPIN et al., 1989). Além das alterações glomerulares estruturais, aumentos de fluxo e pressão sangüínea glomerular também podem determinar proteinúria. Deste modo, os fatores que regulam a taxa de filtração glomerular (TFG) interferem na passagem de proteínas do plasma para o filtrado (HUTCHISON et al., 1990).

A detecção de proteinúria de origem glomerular, independentemente da causa, é relevante para fins diagnósticos e para acompanhamento de pacientes. As intervenções terapêuticas, nestes casos, são direcionadas não só para evitar ou controlar o distúrbio primário, como também prevenir a ocorrência de lesões adicionais resultantes do excesso de proteínas no filtrado glomerular. Os mecanismos que levam à progressão das doenças renais em consequência de lesões túbulo-intersticiais provocadas por proteinúria são bem caracterizados em revisão apresentada por REMUZZI et al. (1997). Foi demonstrado que a proteinúria desempenha papel direto na patogenia das lesões túbulo-intersticiais associadas à glomerulonefrite crônica, em estudos realizados em ratos (EDDY, 1989; ABBATE et al., 1998) e em seres humanos (JACKLE et al., 1988). Também em estudos clínicos com seres humanos, foi constatada correlação entre proteinúria marcante e declínio da TFG em nefropatas crônicos (CHIURCHIU et al., 2005).

Outra linha de raciocínio sobre a fisiopatologia da perpetuação e agravamento das doenças renais crônicas envolve a questão da hiperfiltração glomerular. As perdas extensas de néfrons são seguidas por mudanças, adaptações funcionais e estruturais das unidades remanescentes. Ocorre aumento da TFG e da função tubular, além do desenvolvimento de hiperplasia e hipertrofia de vários tipos celulares renais (HOSTETTER et al., 1981; BROWN et al., 1991). Inicialmente, acreditava-se que estas alterações fossem benéficas por aumentarem a capacidade funcional destes néfrons residuais. Porém, foi demonstrado que tais alterações constituem fatores de agressão (HOSTETTER et al., 1981; WHITE et al., 1991). A verificação de que incrementos na ingestão de proteína resultam em aumentos dos *clearances* de creatinina levantou a possibilidade de modificação de dieta para fins terapêuticos.

Na verdade, por outras razões, a relação entre a proteína na dieta e a função renal vem sendo estudada desde o começo do século passado (MARTIN et al., 2005). Desde então, a restrição do componente protéico na dieta de seres humanos com nefropatias vem sendo indicada (HOLM & SOLLING, 1996). O primeiro relato abrangeu proteína na dieta e a taxa de excreção de uréia. Logo depois, em estudo realizado em cães, foi estabelecido que o aumento da proteína na dieta elevava as excreções de creatinina e uréia. O mecanismo envolvido foi atribuído à mudança na taxa de filtração glomerular. Com o avanço dos estudos demonstrou-se que as modificações determinadas pelo aumento da ingestão de proteína sobre a taxa de filtração glomerular tiveram como determinante básico a resposta do fluxo sanguíneo renal (MARTIN et al., 2005).

Foi verificado que em seres humanos normais, incrementos na ingestão de proteína resultam em aumentos dos *clearances* de creatinina (BOSCH et al., 1984). Entretanto, quando HUTCHISON et al., em 1990, avaliaram ratos sob incremento de proteína na dieta, foi constatado não só aumento da TFG, como também da excreção urinária de albumina em indivíduos normais e em doentes renais. Os resultados destes estudos permitem a constatação da diferença entre as espécies no que tange à resposta renal. Outros, realizados em cães, revelaram que nesta espécie, o aumento de ingestão de proteína pode resultar em um terceiro tipo de resposta. Em estudo

desenvolvido por BROWN & FINCO (1992), a ingestão de proteína determinou apenas aumento da TFG em cães normais e, em indivíduos parcialmente nefrectomizados houve, adicionalmente, aumento da excreção urinária de proteínas.

Apesar dos efeitos da restrição de proteína sobre a TFG, estudos em seres humanos com doença renal crônica não confirmaram os benefícios esperados. A única certeza apresentada foi de que estas dietas podem amenizar ou até mesmo postergar o aparecimento de sintomas urêmicos (HOLM & SOLLING, 1996; KASISKE & LAKATUA, 1997). Tendo como foco os cães, a restrição de proteína foi estudada vislumbrando-se o possível efeito benéfico na preservação dos néfrons remanescentes após nefrectomia parcial (15/16). Contudo, tal hipótese não foi confirmada (BROWN et al., 1991; FINCO et al., 1992). Além disso, constatou-se que dietas hiperprotéicas, para cães com redução de massa renal, não foram fator de progressão de alterações existentes (BOVÉE, 1991; FINCO et al., 1992) e também não determinam perdas funcionais ou alterações anatômicas em idosos uninefrectomizados (FINCO et al., 1994).

Alguns autores levantaram a hipótese de que estas adaptações da função renal frente ao aumento da carga de proteína stressam os rins. Alguns estudos relacionaram a hiperfiltração e hipertrofia, induzida pelo aumento da ingestão de proteína, ao início ou à progressão de doença renal, entretanto tal hipótese não foi comprovada. Ainda, a maioria dos autores generaliza, de maneira inapropriada, dados obtidos por diferentes espécies e pacientes portadores de doença renal, estendendo informações para indivíduos com função renal normal. O fato é que outros estudos sugerem que a hiperfiltração em resposta a vários estímulos fisiológicos é um mecanismo adaptativo normal. Um exemplo é o incremento de 65% da TFG durante a gestação e os três meses após o parto, em mulheres sadias. Esta adaptação da função renal não é fator de risco para desenvolvimento de doença renal (MARTIN et al., 2005).

A habilidade de resposta dos rins frente à ingestão de proteína é proporcional à capacidade da função renal de cada indivíduo. Deste modo, alguns autores consideram estes aumentos da TFG como equivalentes à reserva funcional renal. Assim, cães com redução da capacidade funcional renal, quando sujeitos à ingestão de proteína,

apresentam aumento da TFG de menor magnitude. O mecanismo pelo qual ocorrem estes eventos não está totalmente esclarecido (BROWN & FINCO, 1992).

Além da quantidade de proteína ingerida, a origem vegetal ou animal do alimento pode modificar o efeito sobre a TFG. BOSCH et al. (1983), verificaram que em seres humanos voluntários normais, a ingestão de proteína determina um *clearance* de creatinina (Ccr) maior do que o observado em vegetarianos. Contudo, FINCO & COOPER (2000) compararam dietas à base de proteínas de origem animal e vegetal em cães e observaram que os efeitos de ambas, quanto à magnitude do aumento da TFG, foram similares, diferindo do constatado em humanos.

Várias pesquisas têm sido realizadas com o propósito de se determinarem os mecanismos pelos quais ocorre a elevação da filtração glomerular frente às dietas hiperprotéicas. WOODS et al. (1991) verificaram que este mecanismo é mediado por *feedback* túbulo-glomerular.

Um mecanismo importante relacionado com a regulação da função glomerular é o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), que exerce efeito destacado no controle da pressão glomerular, como também da pressão sanguínea sistêmica. A angiotensina II (AII), produto final deste sistema, é uma das substâncias endógenas com maior potencial vasoconstritor, atua na retenção de sódio e elevação da pressão arterial. Sua formação é dada pela conversão da angiotensina I (AI) em A II, sob atuação da enzima conversora de angiotensina (ECA), a qual, além de ser responsável pela formação da AII, ainda inativa a bradicinina, que tem ação vasodilatadora e natriurética (BOIM et al., 2002).

Alguns autores, estudando a relevância do aumento da pressão sanguínea nos capilares glomerulares, sugeriram que a administração de inibidores da ECA poderia preservar a estrutura glomerular, diminuindo a pressão destes capilares e o tamanho do glomérulo (ANDERSON et al., 1986; BIDANI et al., 1990 e HOSTETTER et al., 1981). Os inibidores da ECA, em pacientes com glomerulopatia primária, reduzem a proteinúria e pressão arterial sistêmica e, além disso, podem ter efeito protetor sobre os glomérulos (BROWN et al., 2003; HUTCHISON et al., 1990).

HUTCHISON et al., (1990) verificaram que ratos normais ou nefropatas submetidos às dietas com concentrações baixas ou altas de proteínas, quando tratados com enalapril (inibidor da ECA) apresentam diminuição da magnitude da proteinúria, mas não há interferência desta medicação na TFG. Esses resultados levaram à conclusão de que os aumentos da TFG e da proteinúria frente a dietas hiperprotéicas ocorrem, paralelamente, por processos independentes.

Outro mecanismo importante para a regulação das funções glomerular e tubular é desempenhado pelas prostaglandinas (PG). A  $PGI_2$  e a  $PGE_2$  são os prostanóides com maior atuação nos rins. A  $PGE_2$  diminui a reabsorção de sódio, portanto sua inibição promove retenção deste eletrólito. Em consequência, pode ocorrer edema periférico, aumento da pressão sangüínea, ganho de peso (WHELTON, 1999) e, em alguns casos, até mesmo agravamento de insuficiência cardíaca preexistente. Já a  $PGI_2$  aumenta a secreção de potássio, principalmente por ativação do SRAA e, portanto, sua inibição pode resultar em hipercalemia, particularmente nos pacientes com insuficiência renal. A  $PGI_2$  é também um potente vasodilatador que ajuda na manutenção da perfusão renal em situações onde haja redução no volume efetivo circulante e, desta maneira, sua inibição pode resultar em insuficiência renal aguda (BRADTER et al., 2001 e HARRIS, 2002). Em ensaio desenvolvido em ratos, KEIJZER & PROVOOST (1992) comprovaram a participação de eicosanóides vasoativos na manutenção da hiperfiltração induzida por sobrecarga de proteína.

Os antiinflamatórios não esteroidais (AINES) agem interferindo na síntese de prostaglandinas por meio da inibição das ciclooxigenases (COX). Os AINES convencionais inibem a COX-1 e COX-2, reduzindo as prostaglandinas e outras substâncias relacionadas aos mecanismos de proteção de alguns órgãos (HENNAM, 2001).

A COX-1 é responsável pela produção de prostaglandinas envolvendo mediadores prostanóides nas funções fisiológicas de citoproteção gástrica, manutenção da homeostase renal e da função plaquetária (HARRIS, 2002). WOLF et al. (2000) afirmaram que esta enzima é a principal responsável pela produção de prostaglandina em um rim normal.

A COX-2 foi identificada nos sítios inflamatórios e de estímulo mitogênico, sendo associada a estas condições (CHAN et al., 1999; HENNAN, 2001 e EMERY, 2001). Apesar da COX-2 ser ativada principalmente na inflamação, existe atividade basal desta isoforma no cérebro e nos rins, em ausência de estímulos inflamatórios. Isso deve-se ao fato de que a COX-2 tem ação constituinte nestes órgãos no que se refere à formação de prostaglandinas para as funções fisiológicas normais (WALLACE, 1999; FORSYTH et al., 2000 e SUN et al., 2001). A depleção crônica de sal promove aumento da imunorreatividade da COX-2 nas células da mácula densa e do ramo ascendente da alça de Henle, sugerindo um papel desta enzima na liberação de renina (FITZGERALD & PATRONO, 2001).

A literatura consultada revela algumas controvérsias com relação ao papel da ingestão de proteínas sobre a TFG e proteinúria. Parte das discordâncias decorre de possíveis diferenças entre as espécies estudadas. Outros aspectos questionáveis resultam do fato que os mecanismos envolvidos com a regulação da função glomerular parecem não ser os mesmos quando se compara indivíduo normal com nefropata. Ademais, os desenhos experimentais empregados diferem muito entre si, dificultando as comparações e conclusões. Assim, embora o tema seja de grande importância para a nefrologia clínica, ainda existem lacunas.

Considerando a hipótese de que, em cães saudáveis, a ingestão de proteína pode incitar um tipo específico de ação dos prostanóides renais e do SRAA, foi realizado este estudo. Para tanto, os objetivos compreendem a avaliação dos (1) efeitos da ingestão de uma carga de proteína sobre a função glomerular e tubular de cães clinicamente saudáveis, contemplando os papéis das (2) prostaglandinas renais e da (3) angiotensina II, por meio de inibição farmacológica, no mecanismo envolvido.

## **CAPÍTULO 2 – EFEITO DA INGESTÃO DE UMA CARGA DE PROTEÍNA SOBRE A FUNÇÃO GLOMERULAR DE CÃES SADIOS**

**RESUMO** – A ingestão de proteína promove modificações na função renal, especialmente aumento da TFG e do fluxo plasmático glomerular. A existência de controvérsias, especialmente no que tange a resposta renal apresentada após ingestão protéica, muitas vezes são decorrentes de diferenças de métodos ou de variação da fisiologia ou fisiopatologia dentre as espécies estudadas, dificultando a elucidação da questão. O objetivo do presente estudo foi caracterizar aspectos das funções glomerular de cães sadios alimentados com uma carga de proteína. Foi avaliada a função glomerular de sete cães adultos clinicamente saudáveis em duas situações, jejum e após a ingestão de uma carga de proteína (CP). A quantidade de proteína foi estabelecida de acordo com as recomendações de uma dieta de manutenção para atender à necessidade diária de cada animal estudado. O total calculado foi fornecido em uma única refeição, que foi ingerida dentro de 15 minutos. O estudo realizado permite concluir que cães sadios alimentados com carga de proteína equivalente à necessidade diária (1) respondem com aumento importante da TFG acompanhada por (2) duplicação do volume de urina (3) sem, contudo, haver proteinúria.

**Palavras-chave** – ingestão de proteína, carga de proteína, taxa de filtração glomerular, função renal

## Introdução

A relação entre proteína na dieta e função renal vem sendo estudada desde o começo do século passado (MARTIN et al., 2005). Desde então, a restrição do componente protéico na dieta de seres humanos com nefropatias tem sido indicada (HOLM & SOLLING, 1996). Na verdade, existem experimentos feitos em ratos acerca da implicação da proteína da dieta sobre o desenvolvimento de insuficiência renal, mas os estudos em seres humanos e em cães ainda não foram suficientemente esclarecedores. Alterações hemodinâmicas glomerulares e proteinúria são implicadas como causa e conseqüência do desencadeamento, perpetuação e agravamento de lesões renais.

Os mecanismos que levam à progressão das doenças renais em conseqüência de lesões túbulo-intersticiais provocadas por proteinúria são bem caracterizados na glomerulonefrite crônica em ratos (EDDY, 1989; ABBATE et al., 1998) e em seres humanos (JACKLE et al., 1988). Em estudos clínicos com seres humanos nefropatas crônicos, foi constatada a correlação entre proteinúria marcante e declínio da TFG (CHIURCHIU et al., 2005).

A hiperfiltração glomerular e o aumento da função tubular, além do desenvolvimento de hiperplasia e hipertrofia de vários tipos celulares renais que ocorre como mecanismo adaptativo após perda de néfrons (HOSTETTER et al., 1981; BROWN et al., 1991), constituem fatores de agressão (HOSTETTER et al., 1981; WHITE et al., 1991). Foi verificado em seres humanos normais que incrementos na ingestão de proteína resultam em aumentos dos *clearances* de creatinina (BOSCH et al., 1984). Entretanto, quando HUTCHISON et al., em 1990, avaliaram ratos normais ou nefropatas, sob incremento de proteína na dieta, foi constatado não só aumento da TFG, como também da excreção urinária de albumina. Em cães, BROWN & FINCO (1992) verificaram que a ingestão de proteína determinou aumento da TFG nos indivíduos normais, tendo havido, adicionalmente, aumento da excreção urinária de proteínas nos parcialmente nefrectomizados.

A restrição de proteína na dieta de humanos nefropatas pode amenizar ou até mesmo postergar o aparecimento de sintomas urêmicos, mas não foram confirmados os

benefícios sobre a taxa de progressão da doença (HOLM & SOLLING, 1996; KASISKE & LAKATUA, 1997). Tendo como foco os cães, a restrição de proteína foi estudada vislumbrando-se o possível efeito benéfico na preservação dos néfrons remanescentes após nefrectomia parcial (15/16). Contudo, tal hipótese também não foi confirmada (BROWN et al., 1991 e FINCO et al., 1992). Além disso, constatou-se que dietas hiperprotéicas para cães com redução de massa renal não foram fatores de progressão de alterações existentes (BOVÉE, 1991 e FINCO et al., 1992) e nem determinaram perdas funcionais ou alterações anatômicas em idosos uninefrectomizados (FINCO et al., 1994).

A existência de controvérsias entre as conclusões de alguns estudos, muitas vezes decorrentes de diferenças de métodos ou de variação da fisiologia ou fisiopatologia dentre as espécies estudadas, dificulta a elucidação da questão. O objetivo do presente estudo foi caracterizar aspectos da função glomerular de cães saudáveis alimentados com uma carga de proteína.

## **Material e Métodos**

### **Animais**

Foram utilizados sete cães adultos (três machos e quatro fêmeas, sendo que estas estavam em anestro), com peso entre 10 e 20kg, clinicamente saudáveis, sem raça definida, mantidos no Hospital Veterinário (HV) "Governador Laudo Natel" da FCAV/Unesp - Jaboticabal para fins de ensino e pesquisa.

Para certificação do estado de saúde dos animais, foram realizados exame físico e avaliações complementares (hemograma, urinálise, perfil bioquímico sérico, além de testes da função renal).

### **Instalação e Alimentação**

Os animais foram instalados em boxes individuais do canil do HV e alimentados com ração comercial seca, na quantidade recomendada para a manutenção de cão saudável adulto, e água *ad libitum*. Para os procedimentos do estudo, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas.

### **Delineamento Experimental**

O estudo foi composto por dois experimentos realizados com os mesmos animais. Entre os experimentos observaram-se intervalos de sete dias, durante os quais os cães foram avaliados diariamente para certificação da condição de saúde.

Inicialmente foi conduzida a avaliação basal. Objetivando-se investigar as modificações da fisiologia renal determinadas pela ingestão de proteína de origem animal, foi administrada a carga de proteína (CP).

Em cada um dos experimentos foram realizadas mensurações dos valores séricos de creatinina, uréia, proteína total e albumina, *clearance* de creatinina (Ccr), volume de urina, razão proteína:creatinina da urina (U-P/C), razão uréia:creatinina da urina (U-U/C) e pressão arterial sistêmica.

### **Protocolo Experimental**

BASAL – Antes de serem instalados nas gaiolas metabólicas, eles eram conduzidos ao passeio para esvaziamento da vesícula urinária. Dez horas da manhã, completadas 16 horas de jejum, os cães eram colocados nas gaiolas metabólicas e lá permaneciam por período de quatro horas. Concluído este tempo, eram efetuadas as coletas de urina total eliminada no período e, por meio de cateterismo vesical, obtinha-se o restante de urina ainda armazenada na bexiga. Após homogeneização, o volume total da urina produzida era mensurado e reservado para as análises laboratoriais. Imediatamente após o esvaziamento vesical, uma amostra de sangue (5mL) era coletada por meio de venipuntura jugular para obtenção de soro destinado às dosagens bioquímicas.

CP – Nesta etapa, os cães eram submetidos aos mesmos procedimentos descritos para o basal, no entanto, às 7 da manhã era oferecida a carga de proteína. Assim, houve 13 horas de jejum.

### **Carga de Proteína**

Considerando as recomendações para dieta de manutenção de cães adultos, foram estabelecidas as quantidades de proteína para atender à necessidade diária de cada cão estudado. A quantidade de proteína foi calculada com base na recomendação de fornecimento de 132kcal EM/kg de peso corpóreo<sup>0,75</sup>, por meio de dieta com 380kcal de EM/100g contendo 63g de PB/Mcal de EM (HUMBERT et al., 2001). Assim, foram fornecidos 4,7g de PB/kg de peso corpóreo. Como fonte de proteína foi utilizada clara de ovo pasteurizada e desidratada (Albumina Salto's)<sup>1</sup>destinada ao consumo humano (cada 14g do produto contêm 11g de proteína, 8,7mg de cálcio, 0,02mg de ferro e 179mg de sódio). O total calculado foi fornecido em uma única refeição, quebrando o jejum de 13 horas. A clara de ovo foi misturada com água até que atingisse consistência pastosa, transferida para bisnagas plásticas e oferecida aos cães diretamente na boca. Os animais ingeriam a papa de proteína de maneira forçada no máximo em 15 minutos.

A clara de ovo contém 54% de ovoalbumina, 13% de ovotransferrina, 11% de ovomucoides, 3,5% lisozima, 1,5% de ovomucina, os 17% restantes são constituídos por ovoglicoproteína, ovoinibidores, ovomacroglobulina, outras globulinas, flavoproteína e avidina (ROBINSON, 1991).

### **Avaliação da Proteinúria**

A proteinúria foi avaliada por meio da determinação da razão proteína:creatinina urinárias (U-P/C), a partir dos valores de concentração de creatinina e de proteína obtidos na mesma amostra de urina. As determinações dos valores de proteínas totais urinárias foram feitas com auxílio do conjunto de reagentes Sensiprot<sup>2</sup> (método do vermelho de pirogalol). Para a determinação da creatinina urinária foram utilizados

---

<sup>1</sup> Salto's Alimentos Ltda – Salto, SP

<sup>2</sup> Kit - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

reagentes<sup>2</sup> Creatinina K (método Jaffé modificado). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro<sup>3</sup>.

### **Provas de Função Renal**

A análise da função renal foi feita por meio da mensuração do *clearance* de creatinina de quatro horas para estimar a Taxa de Filtração Glomerular (FINCO *et al.*, 1992).

### **Bioquímica Sérica e Urinária**

Foram coletados 5mL de sangue, por punção da veia jugular externa e após coagulação, as amostras foram processadas a 1000G em centrífuga durante 5 minutos.

Após a sinérese, e utilizando o sistema Labtest<sup>4</sup> para diagnóstico, alíquotas das amostras de soro foram processadas para determinação de creatinina (método Jaffé modificado); uréia (método urease), proteína total (método biureto); e albumina (método Verde de bromocresol), Nas amostras de urina foram determinadas as concentrações de creatinina.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro<sup>5</sup>, considerando-se a faixa visível para as respectivas provas bioquímicas.

### **Pressão Arterial**

Para determinação das pressões arteriais sistólica, diastólica e média, foi utilizado monitor multiparamétrico<sup>6</sup>, dotado de módulo de coleta não-invasivo, tipo oscilométrico, cujo manguito de tamanho adequado para o porte do animal foi adaptado ao membro torácico esquerdo acima da articulação úmero-rádio-ulnar. Foram realizadas 5 aferições e utilizou-se a média obtida.

---

<sup>3</sup> LABQUEST - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

<sup>4</sup> LABTEST - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

<sup>5</sup> LABQUEST-LABTEST - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

<sup>6</sup> Monitor Dixtal DX 2010 LCD

### **Análise Estatística**

Os dados foram devidamente tabelados e representados graficamente. Para a comparação dos valores dos parâmetros estudados utilizou-se o programa de estatística MINITAB® Statistical Software, com o teste t pareado para comparação de médias, com nível de confiança de 95%.

## Resultados

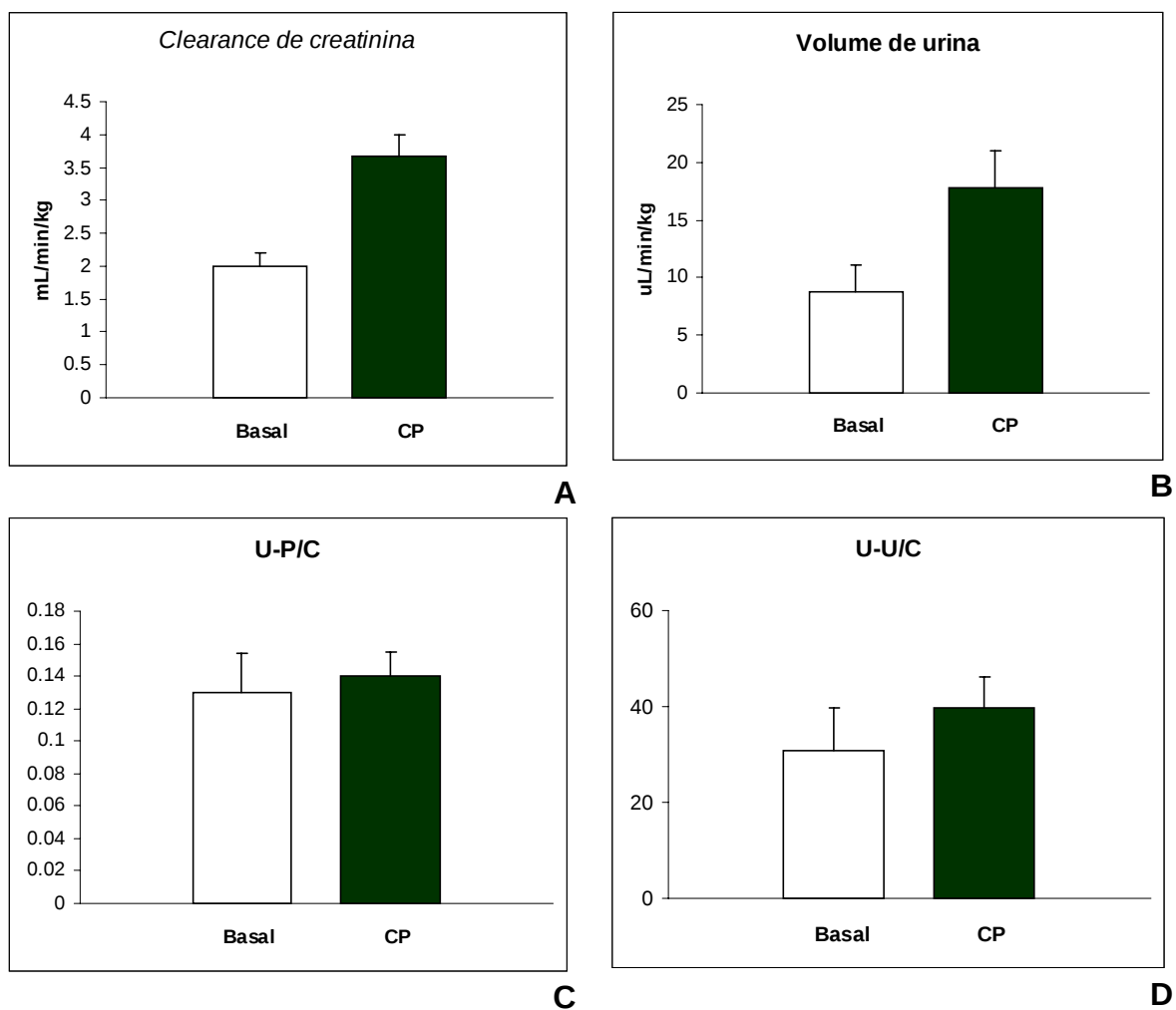
A ingestão de carga de proteína resultou em aumento do Ccr (85%) e do volume urinário (103%). Durante o período de mensuração do clearance, foram constatadas diminuições das concentrações séricas de creatinina, proteína total e albumina. A concentração sérica e a excreção urinária de uréia não variaram significativamente. Do mesmo modo, a excreção urinária de proteína expressada como U-P/C não variou. Também não houve diferença da pressão arterial sistêmica (Tabela 1; Figuras 1, 2 e 3).

Embora tenha havido variações, significativas ou não, todos os parâmetros avaliados permaneceram dentro dos valores de referência para a espécie estudada.

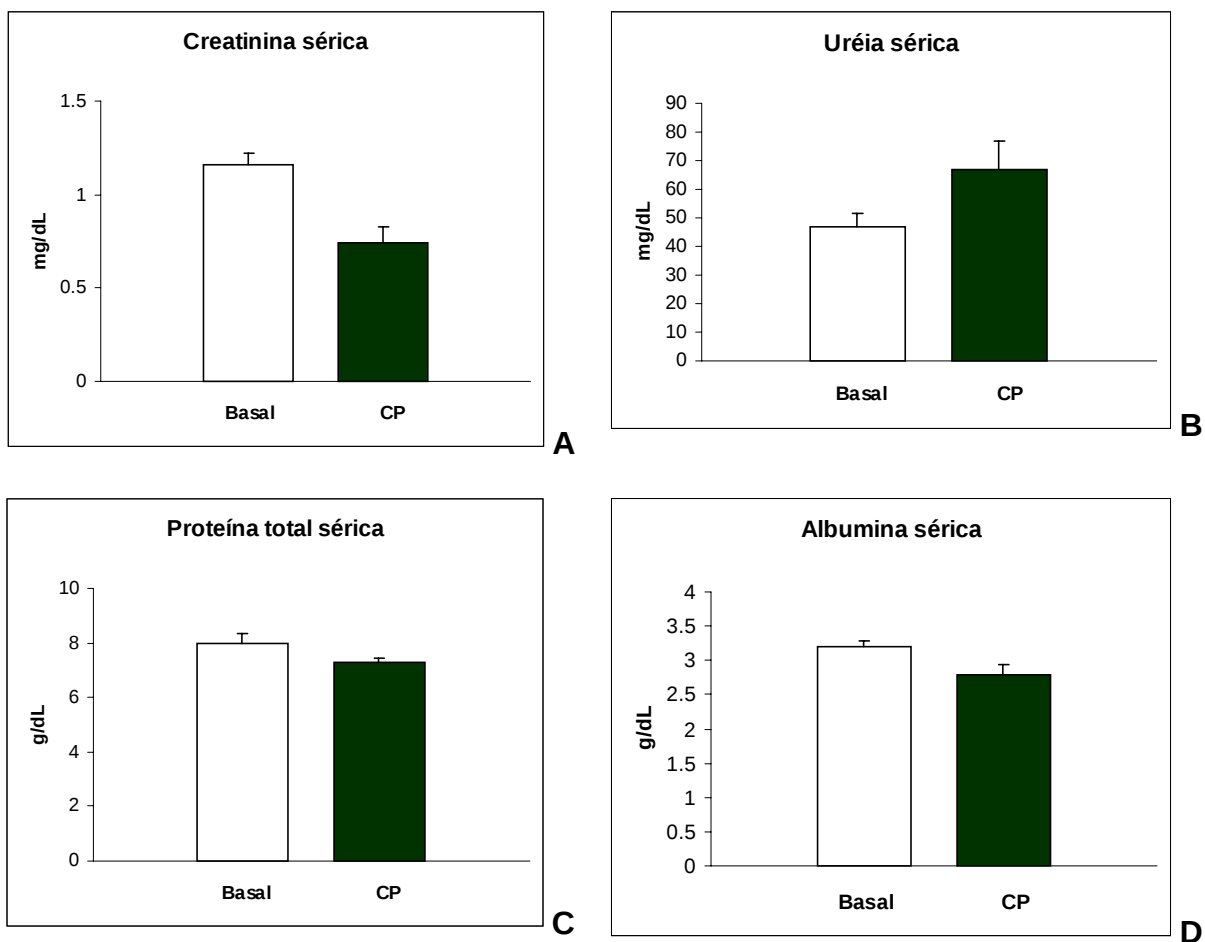
**TABELA 1** – Valores (média±desvio padrão) e resultados do Teste t pareado para concentrações séricas de creatinina, uréia, proteína total e albumina, *clearance* de creatinina, volume de urina, razão proteína:creatinina da urina (U-P/C), razão uréia:creatinina da urina (U-U/C) e pressão arterial de sete cães (três machos e quatro fêmeas), clinicamente normais, avaliados em jejum (basal) e após carga oral de proteína (CP). Unesp - Jaboticabal, 2007.

| Parâmetros                                 | Basal       | CP          | Valores de P        |
|--------------------------------------------|-------------|-------------|---------------------|
| <i>Clearance</i> de creatinina (mL/min/kg) | 1,99 ± 0,57 | 3,68 ± 0,81 | 0,002*              |
| Volume de urina (μL/min/kg)                | 8,8 ± 6,3   | 17,8 ± 8,3  | 0,024*              |
| U-P/C                                      | 0,13 ± 0,06 | 0,14 ± 0,04 | 0,663 <sup>NS</sup> |
| U-U/C                                      | 30,7 ± 23,5 | 39,6 ± 17,5 | 0,352 <sup>NS</sup> |
| Creatinina sérica (mg/dL)                  | 1,16± 0,15  | 0,74± 0,23  | 0,002*              |
| Uréia sérica (mg/dL)                       | 46,8± 13,2  | 66,7± 26,8  | 0,102 <sup>NS</sup> |
| Proteína total (g/dL)                      | 8,0 ± 0,9   | 7,3 ± 0,4   | 0,054*              |
| Albumina (g/dL)                            | 3,2 ± 0,2   | 2,8 ± 0,4   | 0,026*              |
| Pressão arterial sistólica (mmHg)          | 138 ± 8     | 142 ± 7     | 0,569 <sup>NS</sup> |
| Pressão arterial média (mmHg)              | 105 ± 13    | 110 ± 11    | 0,549 <sup>NS</sup> |
| Pressão arterial diastólica (mmHg)         | 92 ± 9      | 93 ± 13     | 0,927 <sup>NS</sup> |

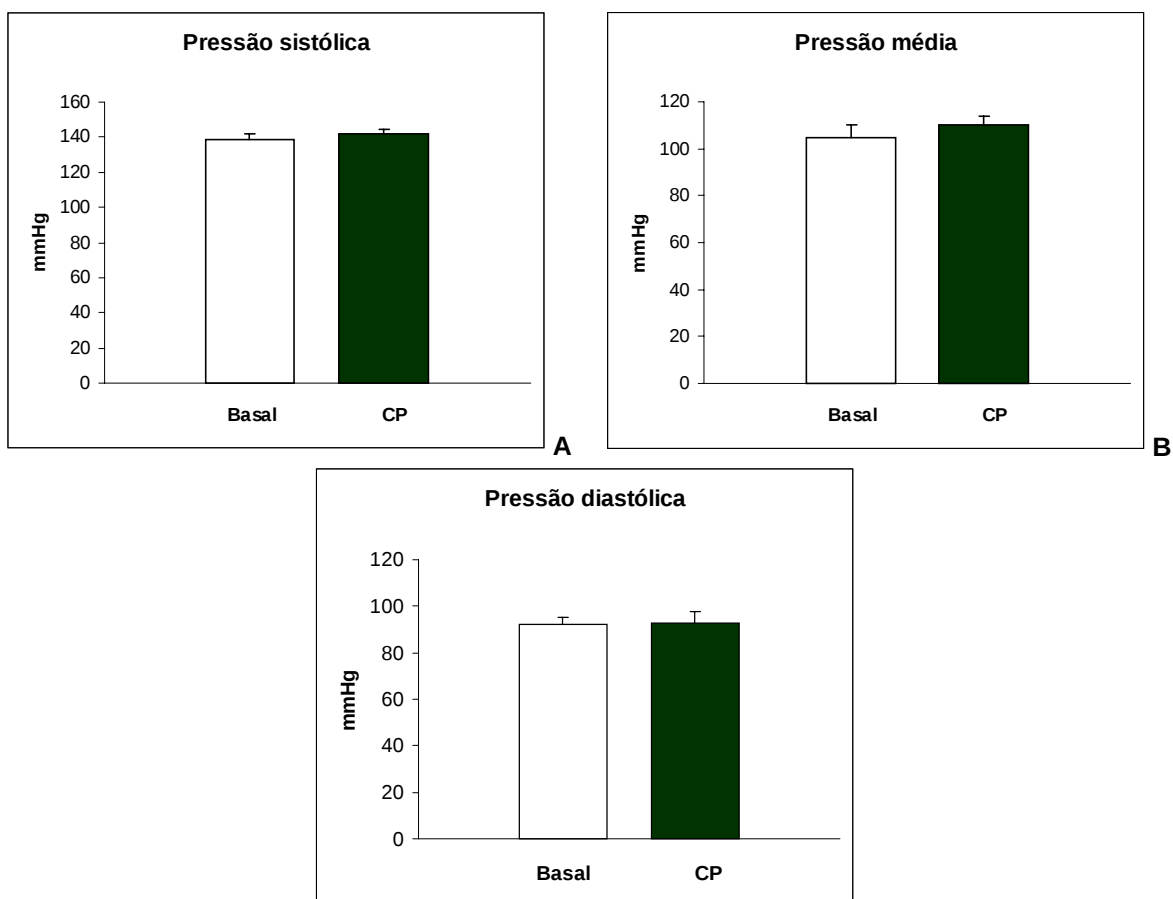
CP – 4,7g de proteína por quilograma de peso corporal.



**FIGURA 1.** Representações gráficas das médias (colunas) e dos erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) *clearance* de creatinina, (B) volume de urina, (C) razão proteína:creatinina da urina (U-P/C), e (D) razão uréia:creatinina (U-U/C) de sete cães clinicamente sadios avaliados em jejum (basal) e após carga oral de proteína (CP). Unesp - Jaboticabal, 2007.



**FIGURA 2.** Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) creatinina sérica, (B) uréia sérica, (C) proteína total sérica e (D) albumina sérica de sete cães clinicamente sadios avaliados em jejum (basal) e após carga oral de proteína (CP). Unesp - Jaboticabal, 2007.



**FIGURA 3.** Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) pressão arterial sistólica, (B) pressão arterial média, e (C) pressão arterial diastólica de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal) e após carga oral de proteína (CP). Unesp – Jaboticabal, 2007.

## Discussão

Os cães estudados receberam, em uma única refeição, a quantidade de proteína necessária para um período de 24 horas e, três horas após, foram iniciadas as mensurações do *clearance* de creatinina com duração de quatro horas. Em seres humanos, BOSCH et al. (1983) constataram que após a ingestão de carga de proteína houve modificação de função renal com duração de duas a três horas. Em estudo realizado em cães, BROWN & FINCO (1992) verificaram que a filtração glomerular aumentou gradativamente até o estabelecimento de um platô entre quatro e oito horas após a ingestão de proteína.

O aumento máximo da taxa de filtração glomerular em crianças saudáveis, após ingestão de carne, foi próximo dos 34% (De SANTO et al., 1990), percentual semelhante ao descrito para indivíduos adultos normais (BOSCH, et al., 1984). Em cães alimentados com caseína, BROWN & FINCO (1992) observaram aumento de 47% da TFG. No presente experimento, a ingestão de carga de proteína de clara de ovo, após 13 horas de jejum, determinou aumento de 85% do *clearance* de creatinina de cães saudáveis, acompanhado de diminuição da concentração sérica de proteína. É sabido que a configuração molecular da proteína pode influenciar a magnitude do aumento da taxa de filtração. A infusão intravenosa de aminoácidos de cadeia ramificada determinou menor aumento da TFG quando comparado à de aminoácidos essenciais e não essenciais (CLARIS-APIANE et al., 1988). Assim, as diferenças entre os tipos e a fonte das proteínas empregadas em cada estudo podem explicar as discrepâncias dos resultados do presente estudo e aqueles obtidos por BROWN & FINCO (1992). O mesmo argumento pode justificar a diferença de aumento da TFG dos cães em relação à das crianças. Contudo, possíveis diferenças fisiológicas quanto aos mecanismos do controle hemodinâmico renal entre onívoros e carnívoros não devem ser ignoradas.

Ainda, deve-se considerar que o incremento da taxa de filtração glomerular é dependente diretamente da quantidade de reserva funcional dos rins (BROWN & FINCO, 1992).

Os mecanismos que determinam a adaptação da filtração glomerular frente à ingestão de proteína ainda não são bem conhecidos. KEIJZER & PROVOOST (1992)

verificaram o aumento da excreção urinária de eicosanóides em ratos que foram alimentados com dieta com alto teor protéico. O envolvimento das prostaglandinas no processo também foi evidenciado pelo aumento da expressão cortical de COX-2 mediado por óxido nítrico produzido a partir de estímulo neuronal (YAO et al., 2006).

Ratos normais ou nefrectomizados, quando receberam dieta com alto teor de proteína, apresentaram aumento da proteinúria quando comparado à dieta com menor índice protéico, sendo que nos sadios a excreção de proteína urinária foi menor (KEIJEZER & PROVOOST, 1992). Contudo, BROWN & FINCO (1992) verificaram que cães saudáveis não apresentaram aumento na excreção de proteína urinária após a ingestão de caseína. Este dado corrobora os achados do presente estudo. O fato de ter havido ausência de proteinúria nos dois estudos realizados em cães é sugestivo de que o aumento de proteína no ultrafiltrado glomerular não é dependente da magnitude do aumento da TFG. No presente estudo, o aumento foi de 85%, enquanto BROWN & FINCO (1992) obtiveram 47%. Esta discrepância pode derivar das diferenças metodológicas, mas novos estudos são necessários para avaliar a possibilidade de que nos cães a carga de proteína incite um mecanismo de aumento da TFG que venha a poupar as proteínas. Esta hipótese parece bastante razoável para uma espécie com aptidão para ingerir grande quantidade de proteínas de origem animal.

O estudo realizado permite concluir que cães sadios alimentados com carga de proteína equivalente à necessidade diária (1) respondem com aumento importante da TFG acompanhada por (2) duplicação do volume de urina (3) sem, contudo, haver proteinúria.

### **CAPÍTULO 3 – PAPEL DAS PROSTAGLANDINAS NO MECANISMO DE REGULAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL DE CÃES APÓS INGESTÃO DE UMA CARGA DE PROTEÍNA**

**RESUMO-** A ingestão de proteína promove modificações na função renal, além de aumento da excreção urinária de eicosanoides vasoativos. O mecanismo que governa este evento ainda não é conhecido. Considerando a hipótese de que, em cães saudáveis, a ingestão de proteína pode incitar um tipo específico de ação dos prostanóides renais, foi realizado este estudo. Assim foi avaliada a participação das prostaglandinas na regulação das funções glomerular e tubular em sete cães adultos clinicamente saudáveis, por meio do uso de antiinflamatório não esteroide, em condição basal e com CP. Pode-se concluir que as prostaglandinas participam do mecanismo de manutenção renal da homeostase de água, sódio e potássio continuamente e, atuam no mecanismo que aumenta a filtração glomerular após CP.

**Palavras-chave** – prostaglandinas, antiinflamatório não esteroide, carga de proteína, ingestão de proteína, função glomerular, função tubular renal

## Introdução

Como parte da fisiopatologia da perpetuação e agravamento das doenças renais crônicas está incluída a hiperfiltração glomerular. Foi demonstrado que tal condição constitui fator de agressão (HOSTETTER et al., 1981 e WHITE et al., 1991). Em adição, este estado é comumente marcado pela coexistência de proteinúria relevante não só pela perda de albumina, mas pela progressão das lesões do parênquima renal. Foi demonstrado que a proteinúria desempenha papel direto na patogenia das lesões túbulo-intersticiais associadas à glomerulonefrite crônica, em estudos realizados em ratos, (EDDY, 1989 e ABBATE et al., 1998) e em seres humanos (JACKLE et al., 1988). A verificação de que incrementos na ingestão de proteína resultam em aumentos dos *clearances* de creatinina, levantou a possibilidade de modificação de dieta para fins terapêuticos. Contudo, ainda não há esclarecimento suficiente para definição de estratégias seguras e efetivas de tratamento.

Mecanismo importante para a regulação das funções glomerular e tubular é desempenhado pelas prostaglandinas (PG). A  $\text{PGI}_2$  e a  $\text{PGE}_2$  são os prostanóides com maior atuação nos rins. A  $\text{PGE}_2$  diminui a reabsorção de sódio, portanto sua inibição promove retenção deste eletrólito (WHELTON, 1999). Já a  $\text{PGI}_2$  aumenta a secreção de potássio e também é um vasodilatador renal potente (BRADTER et al., 2001 e HARRIS, 2002). Em ensaio desenvolvido em ratos, KEIJZER & PROVOOST (1992) comprovaram a participação de eicosanóides vasoativos na manutenção da hiperfiltração induzida por sobrecarga de proteína.

Os antiinflamatórios não esteroidais (AINES) agem interferindo na síntese de prostaglandinas, por meio da inibição das ciclooxigenases (COX). Os AINES convencionais inibem a COX-1 e COX-2, reduzindo as prostaglandinas e outras substâncias relacionadas com mecanismos de proteção de alguns órgãos (HENNAM, 2001). A COX-1 é a principal responsável pela produção de prostaglandina em um rim normal (WOLF et al., 2000). A COX-2, apesar de ser ativada principalmente na inflamação, também tem expressão nos rins, em ausência de estímulos inflamatórios. Isso se deve ao fato de que a COX-2 tem ação constituinte nestes órgãos no que se

refere à formação de prostaglandinas para as funções fisiológicas normais (WALLACE, 1999; FORSYTH et al., 2000 e SUN et al., 2001).

Considerando a hipótese de que, em cães saudáveis, a ingestão de proteína pode incitar um tipo específico de ação dos prostanóides renais, foi realizado este estudo. Para tanto, os objetivos compreendem a avaliação dos (1) efeitos da ingestão de uma carga de proteína sobre a função glomerular e tubular de cães clinicamente saudáveis, (2) contemplando o papel das prostaglandinas por meio de inibição feita com antiinflamatório não-esteroidal.

## Material e Métodos

### Animais

Foram utilizados sete cães (três machos e quatro fêmeas), clinicamente saudáveis, sem raça definida, mantidos no Hospital Veterinário (HV) “Governador Laudo Natel” da FCAV/UNESP-Jaboticabal para fins de ensino e pesquisa.

Para certificação do estado de saúde dos animais foram realizados exame físico e avaliações complementares (hemograma, urinálise, perfil bioquímico sérico, além de testes da função renal).

### Instalação e Alimentação

Os animais foram instalados em boxes individuais do canil do HV e alimentados com ração comercial seca e água *ad libitum*. Para os procedimentos do estudo, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas.

### Delineamento Experimental

O estudo foi composto por quatro experimentos realizados com os mesmos animais. Entre os experimentos observaram-se intervalos de sete dias, durante os quais os cães foram avaliados diariamente para certificação da condição de saúde.

Inicialmente foi conduzida a avaliação basal. Objetivando-se investigar as modificações da fisiologia renal determinadas pela ingestão de proteína de origem animal, os cães foram submetidos à carga de proteína (CP). Do mesmo modo, investigou-se a influência de antiinflamatório não esteroideal (AINES) sobre as funções em questão. Para avaliar a interação entre os efeitos renais determinados pela carga de proteínas e a possível modulação causada pela inibição de prostaglandinas, associaram-se antiinflamatório e carga protéica (Quadro 1).

Em cada um dos experimentos foram realizadas mensurações dos valores séricos de creatinina, uréia, proteína total, albumina, sódio e potássio, *clearance* de creatinina, volume de urina, razão proteína: creatinina da urina (U-P/C), razão uréia:creatinina da urina (U-U/C), excreção fracionada de sódio, potássio e uréia, e pressão arterial sistêmica.

|          | tempo de jejum<br>(horas) | carga de proteína<br>(albumina) | flunixin meglumina<br>(AINES) |
|----------|---------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| Basal    | 16                        | -                               | -                             |
| CP       | 13                        | X                               | -                             |
| AINES    | 16                        | -                               | X                             |
| CP+AINES | 13                        | X                               | X                             |

### **Protocolo Experimental**

**BASAL** – Antes de serem instalados nas gaiolas metabólicas, eles eram conduzidos ao passeio, para o esvaziamento da vesícula urinária. Dez horas da manhã, completadas 16 horas de jejum, os cães eram colocados nas gaiolas metabólicas e lá permaneciam por um período de 4 horas. Concluído este tempo eram efetuadas as coletas de urina total eliminada no período e, por meio de cateterismo vesical obtinha-se o restante de urina ainda armazenada na bexiga. Após homogeneização, o volume total da urina produzida era mensurado e reservado para as análises laboratoriais. Imediatamente após o esvaziamento vesical, uma amostra de sangue (5mL) era coletada por meio de venipuntura jugular, para obtenção de soro destinado às dosagens bioquímicas.

CP – Nesta etapa os cães eram submetidos aos mesmos procedimentos descritos para o basal, no entanto, às 7 da manhã era oferecida a carga de proteína. Assim, houve 13 horas de jejum.

AINES – Após jejum de 16 horas, foram executados os procedimentos descritos no basal, além da aplicação de AINES.

CP+AINES – Os animais receberam carga de albumina (após jejum de 13 horas) e aplicação de AINES. Os demais procedimentos foram similares aos do basal.

### **Carga de Proteína**

Considerando as recomendações para dieta de manutenção de cães adultos, foram estabelecidas as quantidades de proteína para atender a necessidade diária de cada cão estudado. A quantidade de proteína foi calculada com base na recomendação de fornecimento de 132kcal EM/kg de peso corpóreo<sup>0,75</sup>, por meio de dieta com 380kcal de EM/100g contendo 63g de PB/Mcal de EM (HUMBERT et al., 2001). Assim, foram fornecidos 4,7g de PB/kg de peso corpóreo. Como fonte de proteína, foi utilizada clara de ovo pasteurizada e desidratada (Albumina Salto's)<sup>7</sup> destinada ao consumo humano (cada 14g do produto contêm 11g de proteína, 8,7mg de cálcio, 0,02mg de ferro, e 179mg de sódio). O total calculado foi fornecido em uma única refeição, quebrando o jejum de 13 horas. A clara de ovo foi misturada com água até que atingisse consistência pastosa, transferida para bisnagas plásticas e oferecida aos cães diretamente na boca. Os animais ingeriam a papa de proteína dentro de 15 minutos.

A clara de ovo contém 54% de ovoalbumina, 13% de ovotransferrina, 11% de ovomucoides, 3,5% lisozima, 1,5% de ovomucina, os 17% restantes são constituídos por ovoglicoproteína, ovoinibidores, ovomacroglobulina, outras globulinas, flavoproteína e avidina (ROBINSON, 1991).

---

<sup>7</sup> Salto's Alimentos Ltda – Salto, SP

### **Administração de antiinflamatório**

Objetivando-se a inibição das prostaglandinas renais, foi administrado antiinflamatório não esteroide (flunixin meglumina)<sup>8</sup>, por via subcutânea, na dose de 1,1mg/kg de peso corporal. Foram feitas duas aplicações, a primeira às vinte e uma horas do dia anterior e outra às nove horas da manhã do dia do experimento, uma hora antes dos animais serem colocados nas gaiolas metabólicas.

### **Avaliação da Proteinúria**

A proteinúria foi avaliada por meio da determinação da razão proteína:creatinina urinárias (U-P/C), a partir dos valores de concentração de creatinina e de proteína obtidos na mesma amostra de urina. As determinações dos valores de proteínas totais urinárias foram feitas com auxílio do conjunto de reagentes Sensiprot<sup>9</sup> (método do vermelho de pirogalol). Para a determinação da creatinina urinária foram utilizados reagentes<sup>2</sup> Creatinina K (método Jaffé modificado). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro<sup>10</sup>.

### **Provas de Função Renal**

A análise da função renal foi feita por meio da mensuração do *clearance* de creatinina de quatro horas para estimar a Taxa de Filtração Glomerular (FINCO et al., 1992), e excreção fracionada de sódio (EfNa), potássio (EfK) e uréia (Efur) para avaliar o trabalho tubular.

### **Bioquímica Sérica e Urinária**

Foram coletados 5mL de sangue por punção da veia jugular externa e após coagulação, as amostras foram processadas a 1000G em centrífuga, durante 5 minutos.

---

<sup>8</sup> Banamine injetável 10mg – Schering-Plough S/A – Rio de Janeiro - RJ

<sup>9</sup> Kit - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

<sup>10</sup> LABQUEST - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

Após a sinérese, e utilizando o sistema Labtest<sup>11</sup> para diagnóstico, alíquotas das amostras de soro foram processadas para determinação de creatinina (método Jaffé modificado); uréia (método urease), proteína total (método biureto); albumina (método Verde de bromocresol). Nas amostras de urina foram determinadas as concentrações de creatinina.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro<sup>12</sup>, considerando-se a faixa visível para as respectivas provas bioquímicas.

O sódio e potássio séricos e urinários foram mensurados pelo sistema de eletrodo íon-seletivo<sup>13</sup>.

### **Pressão Arterial**

Para determinação das pressões arteriais sistólica, diastólica e média, foi utilizado monitor multiparamétrico<sup>14</sup>, dotado de módulo de coleta não-invasivo, tipo oscilométrico, cujo manguito de tamanho adequado para o porte do animal foi adaptado ao membro torácico esquerdo, acima da articulação úmero-rádio-ulnar. Foram realizadas 5 aferições e utilizou-se a média obtida.

### **Análise Estatística**

Os dados foram devidamente tabelados e representados graficamente. Para a comparação dos valores dos parâmetros estudados utilizou-se o programa de estatística MINITAB<sup>®</sup> Statistical Software, com o teste t pareado para comparação de médias, com nível de confiança de 95%.

---

<sup>11</sup> LABTEST - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

<sup>12</sup> LABQUEST-LABTEST - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

<sup>13</sup> Isebab – DRAKE, São José do Rio Preto – SP

<sup>14</sup> Monitor Dixtal DX 2010 LCD

## Resultados

A ingestão de proteína induziu aumento ( $P=0,002$ ) de 85% do *clearance* de creatinina, enquanto a administração de AINES não modificou este parâmetro. Mas quando os cães receberam, simultaneamente, a carga de proteína e o AINES, o valor do *clearance* foi intermediário (maior do que o basal ( $P=0,052$ ) e do AINES ( $P=0,014$ ) e menor do que o observado após a ingestão de proteína, ( $P=0,017$ ). A concentração sérica de creatinina variou durante o estudo e os valores menores foram obtidos quando houve ingestão de proteína como fator único ( $P=0,002$ ) ou em associação com AINES ( $P=0,018$ ).

Considerando o volume de urina produzido em condição basal, a carga de proteína determinou aumento ( $P=0,024$ ) da produção, enquanto o AINES causou redução ( $P=0,047$ ). A associação dos fatores proteína e AINES resultou em volume de urina semelhante ao valor basal e bem menor ( $P=0,006$ ) do que o obtido com a ingestão de proteína.

A excreção urinária de proteína, que foi estimada pela razão proteína:creatinina da urina, não foi modificada pela ingestão de proteína e nem pelo antiinflamatório. Entretanto, a associação de ingestão de proteína e de AINES resultou em diminuição da excreção urinária de proteína em relação ao valor obtido com a carga de proteína ( $P=0,018$ ) e ao valor observado com AINES ( $P=0,048$ ). A excreção urinária de uréia, avaliada pela razão uréia:creatinina urinária, foi menor que o valor obtido após a carga de proteína quando administrado AINES ( $P=0,007$ ) e com associação AINES e proteína ( $P=0,016$ ).

A excreção fracionada de sódio foi mais alta após ingestão de proteína, tanto em relação ao valor basal ( $P=0,036$ ), como aos valores obtidos com o antiinflamatório ( $P=0,01$ ) e com a associação de AINES e proteína ( $P=0,050$ ). A excreção fracionada de potássio acompanhou as variações apresentadas pela excreção fracionada de sódio sem, entretanto, haver diferença significativa entre os valores obtidos após ingestão de proteína e a associação de carga de proteína e AINES.

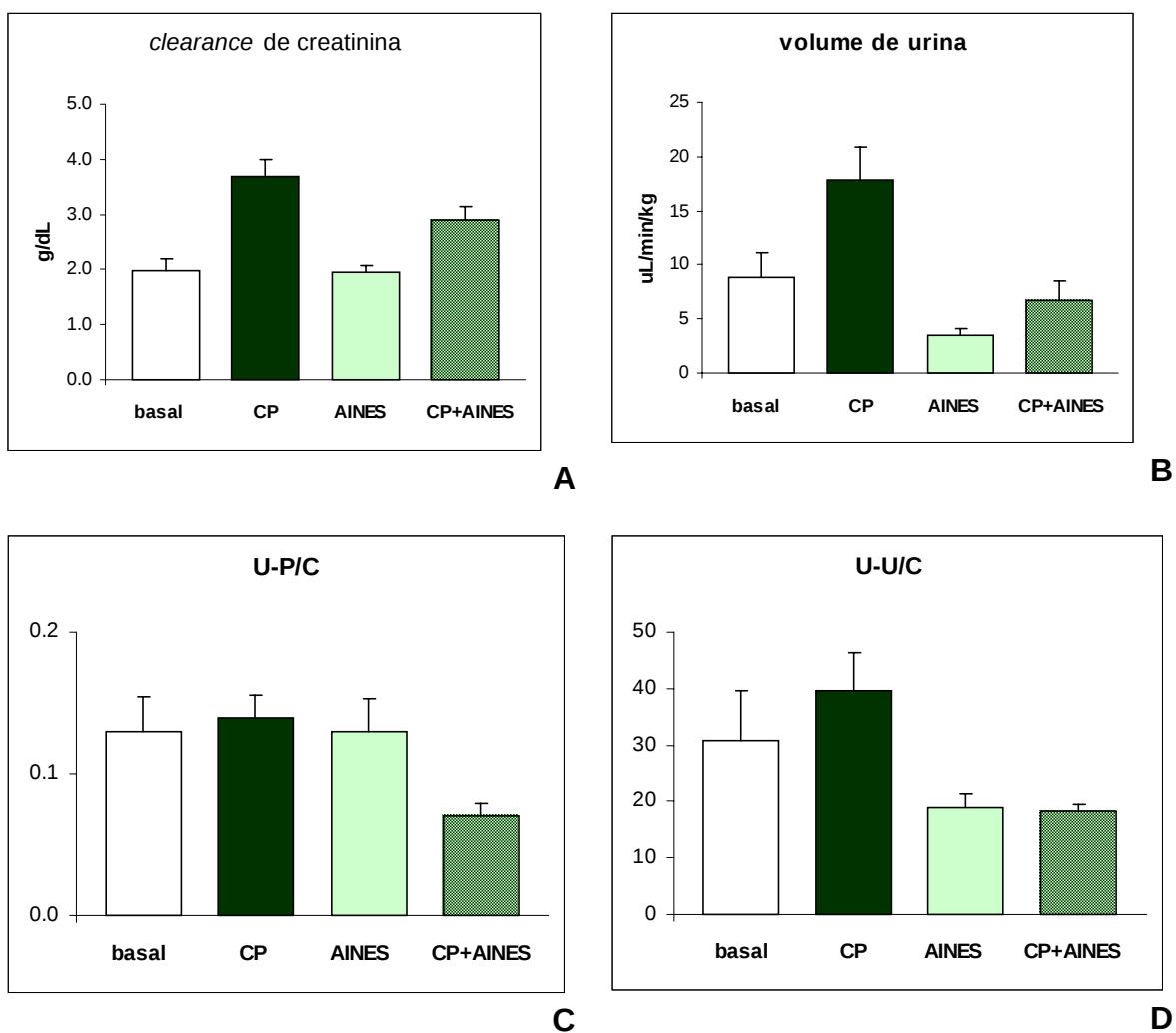
Os valores obtidos estão apresentados na Tabela 2 e nas Figuras 4, 5, 6 e 7. Independentemente da significação estatística das variações observadas, todos os parâmetros estudados mantiveram-se dentro dos valores normais para cães saudáveis.

**TABELA 2** – Valores (média±desvio padrão) e resultados do Teste t pareado para concentrações séricas de creatinina (Scr), uréia (Sur), proteína total (SPT), albumina (Salb), sódio (SNa) e potássio (SK), além de *clearance* de creatinina (Ccr), volume de urina (vol. de urina), razão proteína:creatinina da urina (U-P/C), razão uréia:creatinina da urina (U-U/C), excreções fracionadas de sódio (EfNa) e potássio (EfK), e pressões arteriais sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica PAD) de sete cães (três machos e quatro fêmeas), clinicamente normais, avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com antiinflamatório (AINES), associação de carga de proteína e antiinflamatório (CP+AINES). Unesp - Jaboticabal, 2007.

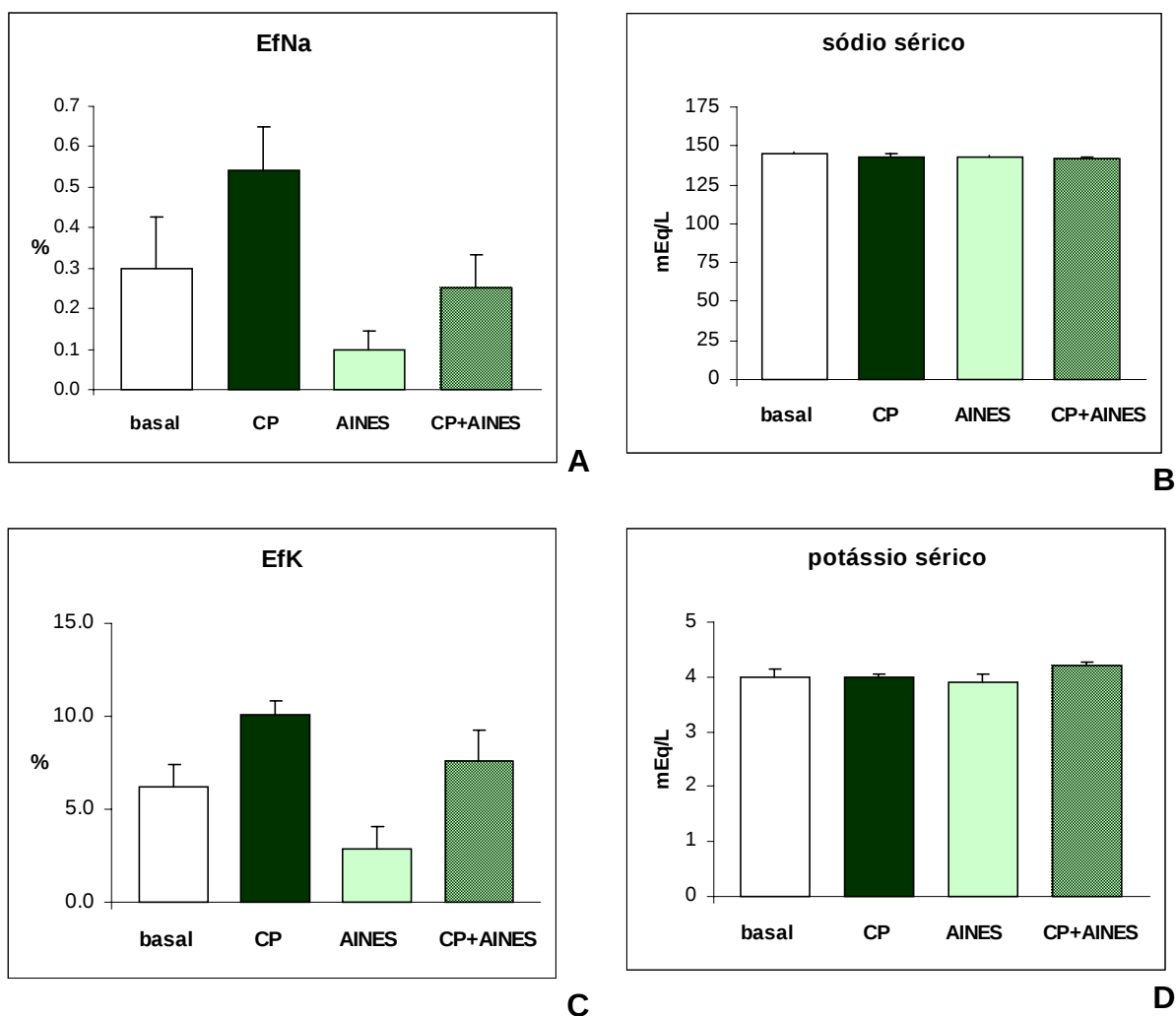
| Parâmetros                | Basal      | CP         | AINES      | CP+AINES   |
|---------------------------|------------|------------|------------|------------|
| Ccr (mL/min/kg)           | 1,99±0,57  | 3,68±0,81  | 1,95± 0,32 | 2,89± 0,69 |
| Vol. de urina (μL/min/kg) | 8,77± 6,25 | 17,80±8,32 | 3,44±1,92  | 6,66± 4,91 |
| U-P/C                     | 0,13±0,06  | 0,14±0,04  | 0,13±0,06  | 0,07±0,02  |
| U-U/C                     | 30,7±23,5  | 39,6±17,5  | 18,9±6,89  | 18,3±3,4   |
| EfNa (%)                  | 0,30± 0,34 | 0,54± 0,29 | 0,10± 0,12 | 0,25± 0,22 |
| EfK (%)                   | 6,2±3,3    | 10,1±1,9   | 2,9±3,1    | 7,6±4,4    |
| SNa (mEq/L)               | 145±4      | 143±4      | 143±2      | 142±2      |
| SK (mEq/L)                | 4,0±0,4    | 4,0±0,1    | 3,9±0,5    | 4,2±0,2    |
| Scr (mg/dL)               | 1,16± 0,15 | 0,74± 0,23 | 1,02± 0,31 | 0,89± 0,25 |
| Sur (mg/dL)               | 46,8± 13,2 | 66,7± 26,8 | 60,0± 16,4 | 38,8± 5,7  |
| SPT(g/dL)                 | 8,0±0,9    | 7,3±0,4    | 7,1±1,1    | 7,4±0,8    |
| Salb(g/dL)                | 3,2±0,2    | 2,8±0,4    | 3,2±0,3    | 3,0±0,5    |
| PAS (mmHg)                | 139± 8     | 142± 7     | 142± 7     | 142± 7     |
| PAM (mmHg)                | 105±13     | 110±11     | 110±8      | 109± 5     |
| PAD (mmHg)                | 92±9       | 93±13      | 97±8       | 90± 8      |

CP – 4,7g de proteína por quilograma de peso corporal.

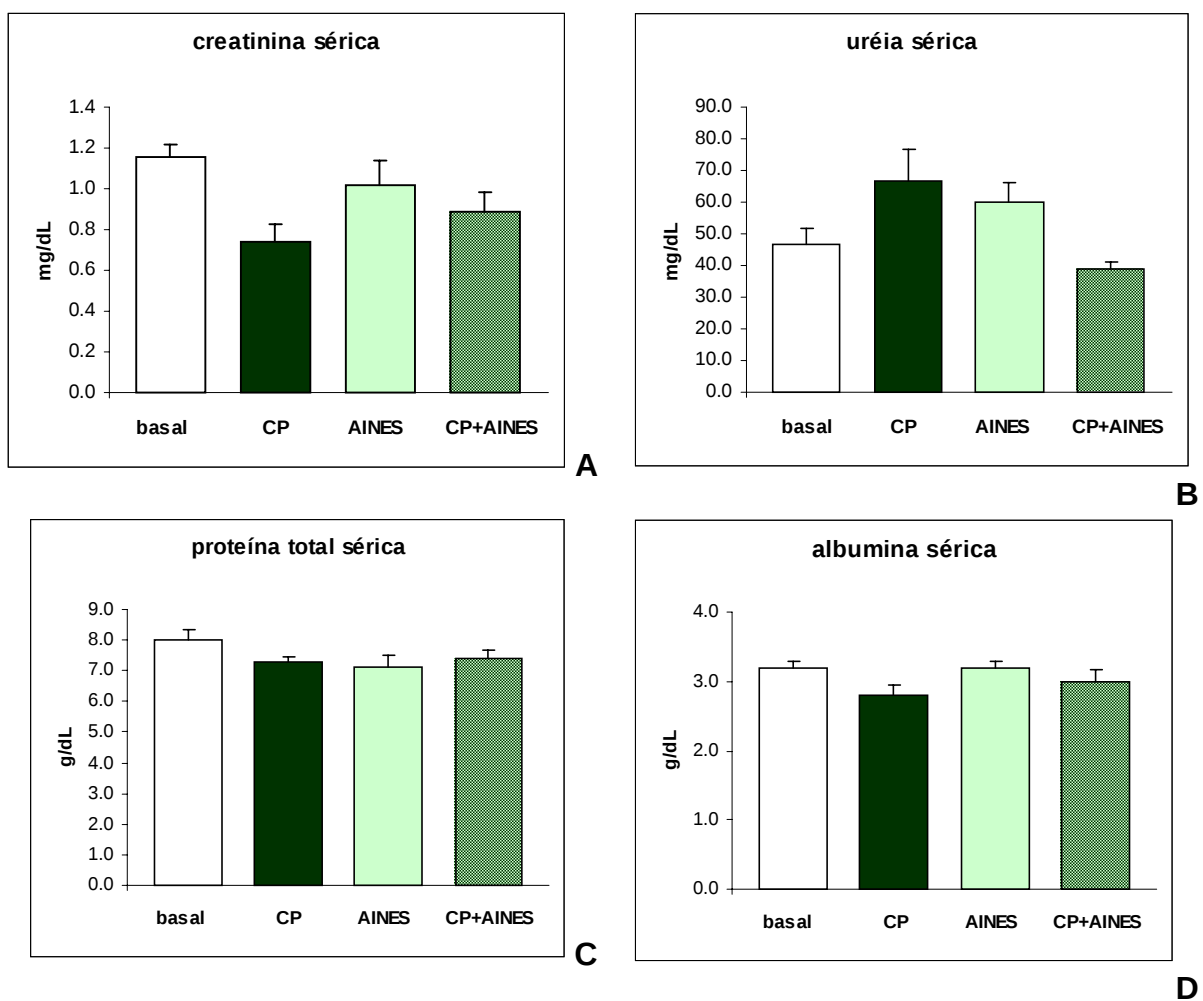
AINES – flunixin meglumine.



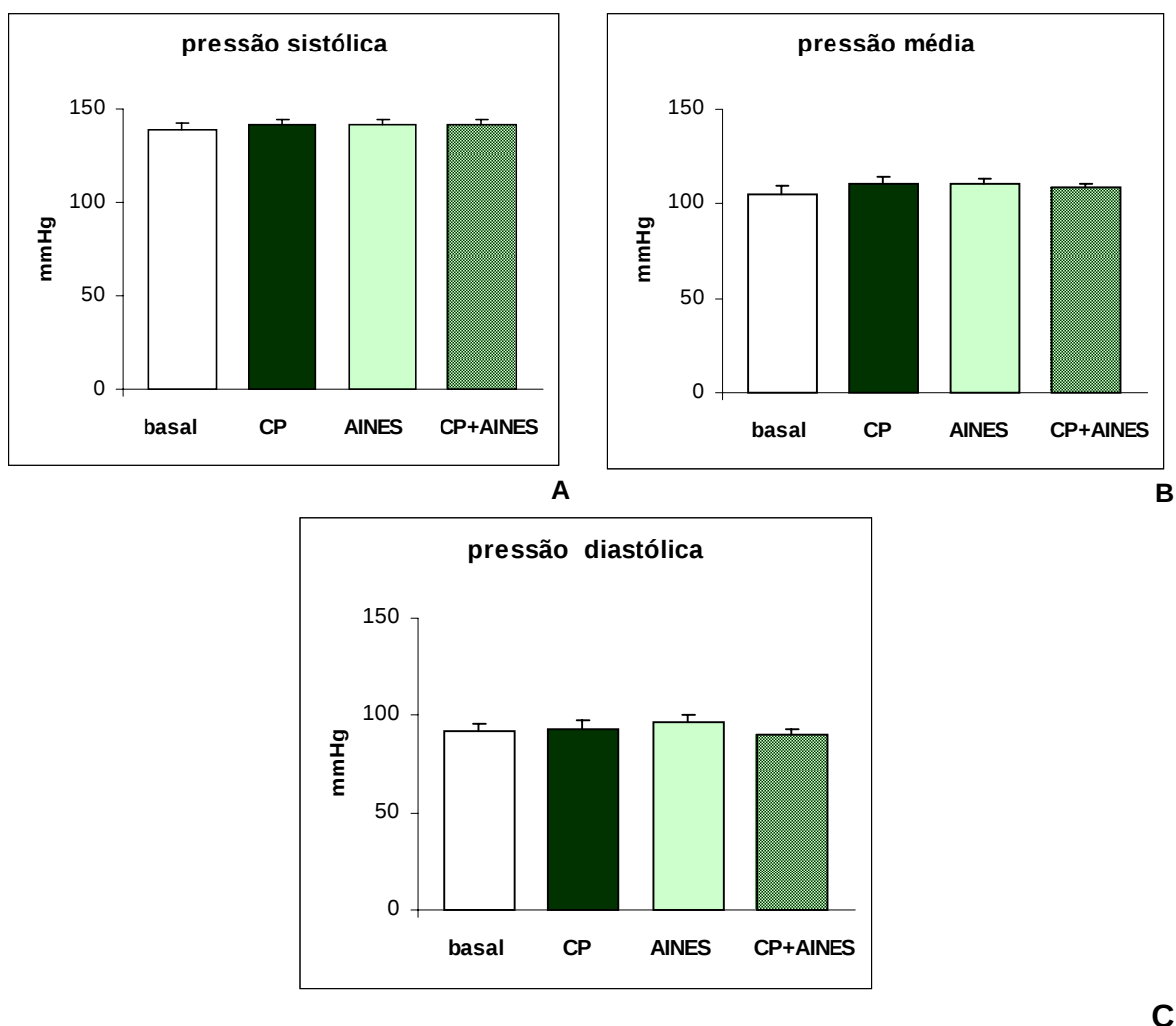
**FIGURA 4.** Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) *clearance* de creatinina, (B) volume de urina, (C) razão proteína:creatinina da urina (U-P/C) e (D) razão uréia:creatinina (U-U/C) de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), aplicação de anti-inflamatório (AINES), e associação de CP e AINES. Unesp - Jaboticabal, 2007.



**FIGURA 5.** Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) excreção fracionada de sódio (EfNa), (B) sódio sérico, (C) excreção fracionada de potássio (EfK) e (D) potássio sérico de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP) aplicação de anti-inflamatório (AINES), e associação de CP e AINES. Unesp - Jaboticabal, 2007.



**FIGURA 6.** Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) creatinina sérica, (B) uréia sérica, (C) proteína total sérica e (D) albumina sérica de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP) aplicação de anti-inflamatório (AINES), e associação de CP e AINES. Unesp - Jaboticabal, 2007.



**FIGURA 7.** Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) pressão arterial sistólica, (B) pressão arterial média, e (C) pressão arterial diastólica de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), aplicação de anti-inflamatório (AINES), e associação de CP e AINES. Unesp - Jaboticabal, 2007

## Discussão

A inibição não-seletiva da síntese de prostaglandinas feita por AINES em dose terapêutica não modificou a TFG dos cães saudáveis, sugerindo que os prostanóides não participariam do mecanismo regulatório da filtração glomerular. De fato, às PG renais são atribuídas funções relacionadas, principalmente, ao controle renal de sódio e potássio. E sob condições de redução de volume circulante efetivo, a ação vasodilatadora das prostaglandinas resulta em aumento do fluxo sanguíneo renal, da TFG e do fluxo tubular (HARRIS, 2002). Contudo, os resultados do presente estudo revelaram a participação das PGs no aumento da TFG desencadeado pela carga de proteína ingerida por cães saudáveis. Isto foi evidenciado uma vez que houve redução significativa do efeito da ingestão de proteína quando a síntese de prostaglandinas estava inibida pelo AINES. KEIJZER & PROVOOST (1992), observaram que dieta com alto teor protéico aumentou a TFG e a proteinúria de ratos nefrectomizados e com os dois rins. Os eventos foram acompanhados por aumento da excreção urinária de eicosanóides. Estudos em ratos evidenciaram que a elevação da TFG decorrente da ingestão de muita proteína está relacionada com aumento da expressão cortical de COX-2 mediado por óxido nítrico (YAO et al., 2006). DON et al. (1989) já haviam observado que a ingestão de proteína modula a síntese de prostaglandinas glomerulares em ratos. Mas, se houver nefropatia, segundo HUTCHISON et al. (1990), os rins de ratos não possuem habilidade para manter a síntese glomerular de prostaglandinas. Isto deve ser verdadeiro também para humanos, pois De SANTO et al. (1993) verificaram que o efeito do aumento da filtração glomerular imposta pela ingestão de proteína não foi abolido pela inibição de prostaglandinas e tromboxanos renais na insuficiência renal crônica. No caso dos cães, contudo, os mecanismos efetivos durante a doença renal crônica podem, assim como na saúde, ser diferentes dos descritos para ratos.

Com a ingestão da carga de proteína os cães tiveram aumento de cerca de 100% do volume de urina produzido. Quando os mesmos animais foram tratados com AINES a produção de urina foi reduzida para 39% do volume basal. Há várias evidências da ação da COX-2 na regulação de água e eletrólitos e da atuação da COX-1 na

hemodinâmica renal em condições fisiológicas (HARRIS, 2002). A propensão dos AINES em causar retenção de sódio deve-se à diminuição da síntese de  $\text{PGE}_2$  pelos rins, já que esta tem efeito natriurético potente (BRATER et al., 2001). A associação dos fatores proteína e AINES, no presente estudo, resultou em volume de urina semelhante ao valor basal, mas equivalente a 37% do obtido com a ingestão de proteína. Estes achados são indicativos de que as prostaglandinas estão envolvidas no mecanismo de regulação do volume de urina durante o jejum e também no de aumento de volume de urina determinado pela ingestão de proteína. O fato de que a carga de proteína não é capaz de provocar aumento do volume urinário se houver inibição da síntese de prostaglandinas reforça a afirmação anterior. A inibição das prostaglandinas, independentemente da ingestão de proteína, foi associada à redução da excreção urinária de uréia. Esta redução pode estar relacionada à diminuição da excreção urinária de água, que por sua vez, corresponde à excreção fracionada de sódio.

A carga de proteína determinou aumento da excreção fracionada de sódio e potássio. O mecanismo envolvido deve ser mediado por prostanóide. Como verificado em outras espécies, a  $\text{PGI}_2$  aumenta a secreção de potássio por meio da estimulação da secreção de renina e ativação do SRAA, especificamente pela ação da aldosterona (HARRIS, 2002). Esta possibilidade é sustentada pelo fato de ter havido redução significativa das excreções fracionadas de sódio e potássio quando os cães foram tratados com AINES. A diminuição da síntese de prostaglandinas diminui a secreção de potássio por meio da redução da produção de aldosterona (BRATER et al., 2001; HARRIS, 2002). A interação das prostaglandinas e do SRAA deve ser a base fisiológica e fisiopatológica da regulação da função renal (HARRIS et al., 2004).

KEIJZER & PROVOOST (1992) constataram que ratos intactos ou com nefrectomia parcial alimentados com dieta hiperprotéica desenvolvem aumento da TFG e proteinúria. Depois de 40 semanas com a dieta, os ratos apresentaram diminuição da TFG seguida por aumento progressivo da proteinúria e estabelecimento de insuficiência renal crônica. Os eicosanóides renais estavam envolvidos com a manutenção da hiperfiltração induzida pela ingestão de proteína em ratos normais. Contudo, nos cães avaliados nesse estudo a excreção urinária de proteína, que foi estimada pela razão

proteína:creatinina da urina, não foi modificada pela ingestão de proteína e nem pelo antiinflamatório. Mesmo tendo havido alguma variação, os valores observados estiveram sempre dentro do intervalo de normalidade e, portanto, não houve proteinúria.

Comparando os resultados da TFG com os do volume urinário deste estudo, fica evidente que a ação das prostaglandinas sobre os túbulos e interstício estava ativa tanto durante o estado de jejum quanto após ingestão de uma carga de proteína. Apesar das variações significativas das excreções fracionadas, todos os valores observados durante o estudo permaneceram dentro do intervalo de normalidade. Assim, não houve caracterização de “esforço” do sistema. Adicionalmente, deve ser destacado que as concentrações séricas de sódio e de potássio, não foram afetadas pelos tratamentos experimentais e mantiveram-se estáveis. Portanto, pode ser concluído que em cães saudáveis as prostaglandinas (1) participam do mecanismo de manutenção renal da homeostase de água, sódio e potássio continuamente e, (2) atuam no mecanismo que aumenta a filtração glomerular após ingestão de uma carga de proteína.

## **CAPÍTULO 4 – PAPEL DA ANGIOTENSINA II NO MECANISMO DE REGULAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL DE CÃES APÓS INGESTÃO DE UMA CARGA DE PROTEÍNA**

**RESUMO** – A ingestão de proteína promove modificações na função renal. O mecanismo que governa este evento ainda não é conhecido. O sistema renina angiotensina aldosterona tem papel fundamental para a regulação da função renal. Considerando a hipótese de que, em cães saudáveis, a ingestão de proteína pode incitar um tipo específico de ação do SRAA, foi realizado este estudo. Para tanto, os objetivos compreenderam a avaliação dos (1) efeitos da ingestão de uma carga de proteína sobre a função glomerular e tubular de cães clinicamente saudáveis, contemplando o papel da (2) angiotensina II, por meio de inibição farmacológica, no mecanismo envolvido. O estudo foi composto por quatro experimentos realizados com os mesmos animais. A avaliação dos animais em jejum (basal), após carga de proteína (CP), tratados com inibidor da ECA (i-ECA), a associação de CP+i-ECA. Os experimentos permitiram concluir que a angiotensina II (All) pode ser responsável pela manutenção da TFG em situação basal, ou seja, quando o aumento da filtração não é requerido. Se fisiologicamente o cão apresenta aumento da TFG após ingestão de proteína, e este evento fica parcialmente restringido com a inibição da formação de All, o aumento de liberação de renina pode desencadear diminuição não fisiológica da TFG. Assim, há indicativos de que o SRAA e as prostaglandinas trabalham de maneira contrabalanceada para manutenção da TFG, e a conservação destes mecanismos é essencial para a homeostase renal.

**Palavras-chave:** sistema renina angiotensina aldosterona, inibidor da enzima conversora de angiotensina, carga de proteína, ingestão de proteína, função glomerular, função tubular renal

## Introdução

As doenças renais crônicas são caracterizadas por perda de néfrons e alterações anatômica e funcional dos remanescentes com desenvolvimento de hiperfiltração glomerular. Foi demonstrado que tal condição constitui fator de agressão (HOSTETTER et al., 1981 e WHITE et al., 1991). Em tal condição, também ocorre proteinúria que pode ser relevante não só pela perda de albumina, mas pela progressão das lesões do parênquima renal. A proteinúria contribui para o agravamento das lesões túbulo-intersticiais associadas à glomerulonefrite crônica, como demonstrado em ratos (EDDY, 1989 e ABBATE et al., 1998) e em seres humanos (JACKLE et al., 1988). A verificação de que incrementos na ingestão de proteína resultam em aumentos dos *clearances* de creatinina, levantou a possibilidade de modificação da dieta para fins terapêuticos. Contudo, ainda não há esclarecimento suficiente para definição de estratégias seguras e efetivas de tratamento.

A angiotensina II (AII) tem ação vasoconstritora dose-dependente em praticamente todos os vasos de resistência do organismo. Nos rins, a infusão de AII resulta em diminuição do fluxo sanguíneo renal com pouca ou nenhuma alteração da TFG. O sítio de ação, neste caso, é a arteríola eferente, entretanto, parece haver também ação sobre a arteríola aferente. Em algumas situações a AII pode aumentar a TFG. Neste caso ocorre vasodilatação da arteríola aferente com conseqüência de falta de sensibilidade local à AII. Este evento pode ser mediado pela síntese local de prostaglandinas. Além do papel de regulação da hemodinâmica glomerular, a AII aumenta a proteinúria. As células mesangiais glomerulares são ricas em receptores de AII e contraem-se sob ação deste peptídeo. Isto resulta em diminuição do lúmen capilar e redução da superfície de filtração e da constante de ultrafiltração glomerular (MENÈ & DUNN, 1992).

A AII atua também nos túbulos e nos capilares peritubulares, regulando diretamente a reabsorção de água e solutos. A AII aumenta o transporte de sódio predominantemente no túbulo proximal e final de túbulo distal. Por meio da estimulação da liberação de aldosterona, a AII e AIII aumentam a secreção de potássio e absorção de sódio no túbulo distal (MENÈ & DUNN, 1992 e BOIM et al., 2002).

HUTCHISON et al. (1990) observaram que a suplementação de proteína na dieta aumentou a excreção urinária de albumina e a TFG em ratos normais e nefropatas. Este aumento da TFG não é dependente da ação do SRAA, já que não foi modificado com a utilização de i-ECA, corroborando achados de SLOMOWITZ et al. (1988), que verificaram o mesmo em humanos normais.

A infusão de aminoácidos eleva os níveis séricos de renina, ativando assim o SRAA. A utilização de i-ECA parece bloquear a degradação enzimática de bradicinina, além aumentar a síntese de prostaglandinas. Portanto, a presença destes componentes pode estar relacionada com a resposta renal frente à infusão de aminoácidos (SLOMOWITZ et al., 1988). A revisão de literatura feita por HARRIS et al. (2004) também relacionou o aumento de AII com a inibição da expressão de COX-2.

A administração de captopril em ratos nefropatas determina diminuição da proteinúria e isto ocorre por depleção de ânions da membrana basal glomerular. O mecanismo de ação do captopril (i-ECA) se dá por alterações da hemodinâmica renal, aumento do fluxo sanguíneo e diminuição do coeficiente de ultrafiltração, que são conseqüências do aumento da produção intra-renal de prostaglandinas (TRACHTMAN et al., 1985).

Considerando a hipótese de que, em cães saudáveis, a ingestão de proteína pode incitar um tipo específico de ação do SRAA, foi realizado este estudo. Para tanto, os objetivos compreendem a avaliação dos (1) efeitos da ingestão de uma carga de proteína sobre a função glomerular e tubular de cães clinicamente saudáveis, contemplando o papel da (2) angiotensina II, por meio de inibição farmacológica, no mecanismo envolvido.

## **Material e Métodos**

### **Animais**

Foram utilizados sete cães (três machos e quatro fêmeas), clinicamente saudáveis, sem raça definida, mantidos no Hospital Veterinário (HV) “Governador Laudo Natel” da FCAV/UNESP-Jaboticabal para fins de ensino e pesquisa.

Para certificação do estado de saúde dos animais foram realizados exame físico e avaliações complementares (hemograma, urinálise, perfil bioquímico sérico, além de testes da função renal).

### **Instalação e Alimentação**

Os animais foram instalados em boxes individuais do canil do HV e alimentados com ração comercial seca e água *ad libitum*. Para os procedimentos do estudo, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas.

### **Delineamento Experimental**

O estudo foi composto por quatro experimentos realizados com os mesmos animais. Entre os experimentos observaram-se intervalos de sete dias, durante os quais os cães foram avaliados diariamente para certificação da condição de saúde.

Inicialmente foi conduzida a avaliação basal. Objetivando-se investigar as modificações da fisiologia renal determinadas pela ingestão de proteína de origem animal, os cães foram submetidos à carga de proteína (CP). Do mesmo modo, com objetivo de estudar a relação do Sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) sobre a função renal, foi utilizado o inibidor da ECA (i-ECA). Posteriormente, para verificar a possível atuação deste Sistema na modulação das respostas renais determinadas pela ingestão de proteínas, foi associada a carga de proteína com o inibidor da ECA (CP+i-ECA) (Quadro 2).

Em cada um dos experimentos foram realizadas mensurações dos valores séricos de creatinina, uréia, proteína total, albumina, sódio e potássio, *clearance* de creatinina, volume de urina, razão proteína:creatinina da urina (U-P/C), razão uréia:creatinina da urina (U-U/C), excreção fracionada de sódio, potássio e uréia, e pressão arterial sistêmica.

**Quadro 1** – Sumário do delineamento experimental.

---

|          | tempo de jejum<br>(horas) | carga de proteína<br>(albumina) | enalapril<br>(inibidor da ECA) |
|----------|---------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Basal    | 16                        | -                               | -                              |
| CP       | 13                        | X                               | -                              |
| i-ECA    | 16                        | -                               | X                              |
| CP+i-ECA | 13                        | X                               | X                              |

### Protocolo Experimental

**BASAL** – Antes de serem instalados nas gaiolas metabólicas, eles eram conduzidos ao passeio, para o esvaziamento da vesícula urinária. Dez horas da manhã, completadas 16 horas de jejum, os cães eram colocados nas gaiolas metabólicas e lá permaneciam por um período de quatro horas. Concluído este tempo eram efetuadas as coletas de urina total eliminada no período e, por meio de cateterismo vesical obtinha-se o restante de urina ainda armazenada na bexiga. Após homogeneização, o volume total da urina produzida era mensurado e reservado para as análises laboratoriais. Imediatamente após o esvaziamento vesical, uma amostra de sangue (5mL) era coletada por meio de venipuntura jugular, para obtenção de soro destinado às dosagens bioquímicas.

**CP** – Nesta etapa os cães eram submetidos aos mesmos procedimentos descritos para o experimento 1, no entanto, às 7 da manhã era oferecida a carga de proteína. Assim, houve 13 horas de jejum.

**i-ECA** – Nesta fase os cães foram medicados com inibidor da ECA, e o protocolo de avaliação foi semelhante ao realizado no experimento 1.

**CP+i-ECA** – Foi associado à carga de proteína e a inibição do SRAA, e perfazendo um tempo de jejum de 13 horas, realizaram-se os mesmos procedimentos do experimento 1.

### **Carga de Proteína**

Considerando as recomendações para dieta de manutenção de cães adultos, foram estabelecidas as quantidades de proteína para atender a necessidade diária de cada cão estudado. A quantidade de proteína foi calculada com base na recomendação de fornecimento de 132kcal EM/kg de peso corpóreo<sup>0,75</sup>, por meio de dieta com 380kcal de EM/100g contendo 63g de PB/Mcal de EM (HUMBERT et al., 2001). Assim, foram fornecidos 4,7g de PB/kg de peso corpóreo. Como fonte de proteína foi utilizada clara de ovo pasteurizada e desidratada (Albumina Salto's)<sup>15</sup>destinada ao consumo humano (cada 14g do produto contém 11g de proteína, 8,7mg de cálcio, 0,02mg de ferro, e 179mg de sódio). O total calculado foi fornecido em uma única refeição, quebrando o jejum de 13 horas. A clara de ovo foi misturada com água até que atingisse consistência pastosa, transferida para bisnagas plásticas e oferecida aos cães diretamente na boca. Os animais ingeriam a papa de proteína dentro de 15 minutos.

A clara de ovo contém 54% de ovoalbumina, 13% de ovotransferrina, 11% de ovomucoides, 3,5% lisozima, 1,5% de ovomucina, os 17% restantes são constituídos por ovoglicoproteína, ovoinibidores, ovomacroglobulina, outras globulinas, flavoproteína e avidina (ROBINSON, 1991).

### **Administração de Inibidor da ECA**

Para a inibição do SRAA, os animais receberam inibidor da enzima conversora de angiotensina (maleato de enalapril<sup>16</sup>), na dose de 1mg/kg de peso corporal, a cada doze horas durante dez dias que antecederam o dia do experimento.

### **Avaliação da Proteinúria**

A proteinúria foi avaliada por meio da determinação da razão proteína:creatinina urinárias (U-P/C), a partir dos valores de concentração de creatinina e de proteína obtidos na mesma amostra de urina. As determinações dos valores de proteínas totais urinárias foram feitas com auxílio do conjunto de reagentes Sensiprot<sup>17</sup> (método do vermelho de pirogalol). Para a determinação da creatinina urinária foram

---

<sup>15</sup> Salto's Alimentos Ltda – Salto, SP

<sup>16</sup> Renitec® -

<sup>17</sup> Kit - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

utilizados reagentes<sup>2</sup> Creatinina K (método Jaffé modificado). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro<sup>18</sup>.

### **Provas de Função Renal**

A análise da função renal foi feita por meio da mensuração do *clearance* de creatinina de quatro horas para estimar a Taxa de Filtração Glomerular (FINCO *et al.*, 1992), e excreção fracionada de sódio (EfNa), potássio (EfK) e uréia (EfUr) para avaliar o trabalho tubular.

### **Bioquímica Sérica e Urinária**

Foram coletados 5mL de sangue, por punção da veia jugular externa e após coagulação, as amostras foram processadas a 1000G em centrífuga, durante 5 minutos.

Após a sinérese, e utilizando o sistema Labtest<sup>19</sup> para diagnóstico, alíquotas das amostras de soro foram processadas para determinação de creatinina (método Jaffé modificado); uréia (método urease), proteína total (método biureto); albumina (método Verde de bromocresol), Nas amostras de urina foram determinadas as concentrações de creatinina.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro<sup>20</sup>, considerando-se a faixa visível para as respectivas provas bioquímicas.

O sódio e potássio séricos e urinários foram mensurados pelo sistema de eletrodo íon-seletivo<sup>21</sup>.

---

<sup>18</sup> LABQUEST - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

<sup>19</sup> LABTEST - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

<sup>20</sup> LABQUEST-LABTEST - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa - MG.

<sup>21</sup> Isebab – DRAKE, São José do Rio Preto – SP

### **Pressão Arterial**

Para determinação das pressões arteriais sistólica, diastólica e média, foi utilizado monitor multiparamétrico<sup>22</sup>, dotado de módulo de coleta não-invasivo, tipo oscilométrico, cujo manguito de tamanho adequado para o porte do animal foi adaptado ao membro torácico esquerdo, acima da articulação úmero-rádio-ulnar. Foram realizadas 5 aferições e utilizou-se a média obtida.

### **Análise Estatística**

Os dados foram devidamente tabelados e representados graficamente. Para a comparação dos valores dos parâmetros estudados utilizou-se o programa de estatística MINITAB<sup>®</sup> Statistical Software, com o teste t pareado para comparação de médias, com nível de confiança de 95%.

---

<sup>22</sup> Monitor Dixtal DX 2010 LCD

## Resultados

A taxa de filtração glomerular, estimada pelo *clearance* de creatinina, aumentou tanto em consequência da carga de proteína ( $P=0,002$ ), como quando foi feita inibição da enzima conversora de angiotensina. Com a associação de ingestão de proteína e i-ECA o *clearance* de creatinina foi maior em relação ao basal ( $P=0,008$ ), mas não atingiu os valores alcançados por cada um dos fatos isoladamente (CP:  $P=0,013$ ; i-ECA:  $P=0,012$ ). A concentração sérica de creatinina variou de modo inversamente proporcional às modificações do *clearance*.

À semelhança do que foi observado com a taxa de filtração glomerular, o volume de urina foi maior após a carga de proteína ( $P=0,024$ ), inibidor de ECA ( $P=0,040$ ) e a associação dos dois fatores ( $P=0,052$ ).

Para avaliar a excreção urinária de uréia foi calculada a razão uréia:creatinina da urina. Este parâmetro variou consideravelmente entre os indivíduos, assim como ocorreu com a concentração sérica de uréia. O tratamento com inibidor de ECA resultou nas médias mais baixas para ambos os parâmetros. Diferença estatística, no caso da uréia sérica, foi obtida em relação à média resultante da combinação de CP e i-ECA ( $P=0,033$ ), e para a U-U/C foi observada em relação à média do estudo com carga de proteína.

A administração de inibidor de ECA resultou em diminuição da concentração sérica de sódio em relação à média basal ( $P=0,041$  e  $P=0,016$ ). Também houve diferença entre as médias quando comparados os estudos com carga de proteína ( $P=0,011$ ). A excreção fracionada de sódio, contudo, resultou em médias maiores nos estudos com carga de proteína, tendo havido diferença somente entre o valor basal e o resultante da administração de proteína ( $P=0,036$ ). As concentrações séricas de potássio não variaram significativamente, mas a excreção urinária sim. A excreção fracionada de potássio, em relação ao valor basal, aumentou com a carga de proteína ( $P=0,008$ ) e com a proteína mais i-ECA ( $P=0,027$ ) e diminuiu com o i-ECA ( $P=0,004$ ).

A ingestão de proteína, como fator único ou associada ao i-ECA, resultou em diminuição da concentração sérica de albumina em relação ao basal ( $P=0,026$  e  $P=0,000$ ) e em relação ao i-ECA como fator único ( $P=0,010$  e  $P=0,003$ ). Estas variações

refletiram nos valores de proteína total sérica, mas não sobre a excreção urinária de proteína, expressa pela razão proteína:creatinina da urina.

Quando os animais receberam inibidor de ECA, como tratamento único ou associado à carga de proteína, houve diminuição da pressão arterial diastólica ( $P=0,014$  e  $P=0,009$ , respectivamente). As pressões arteriais sistólica e média não variaram significativamente.

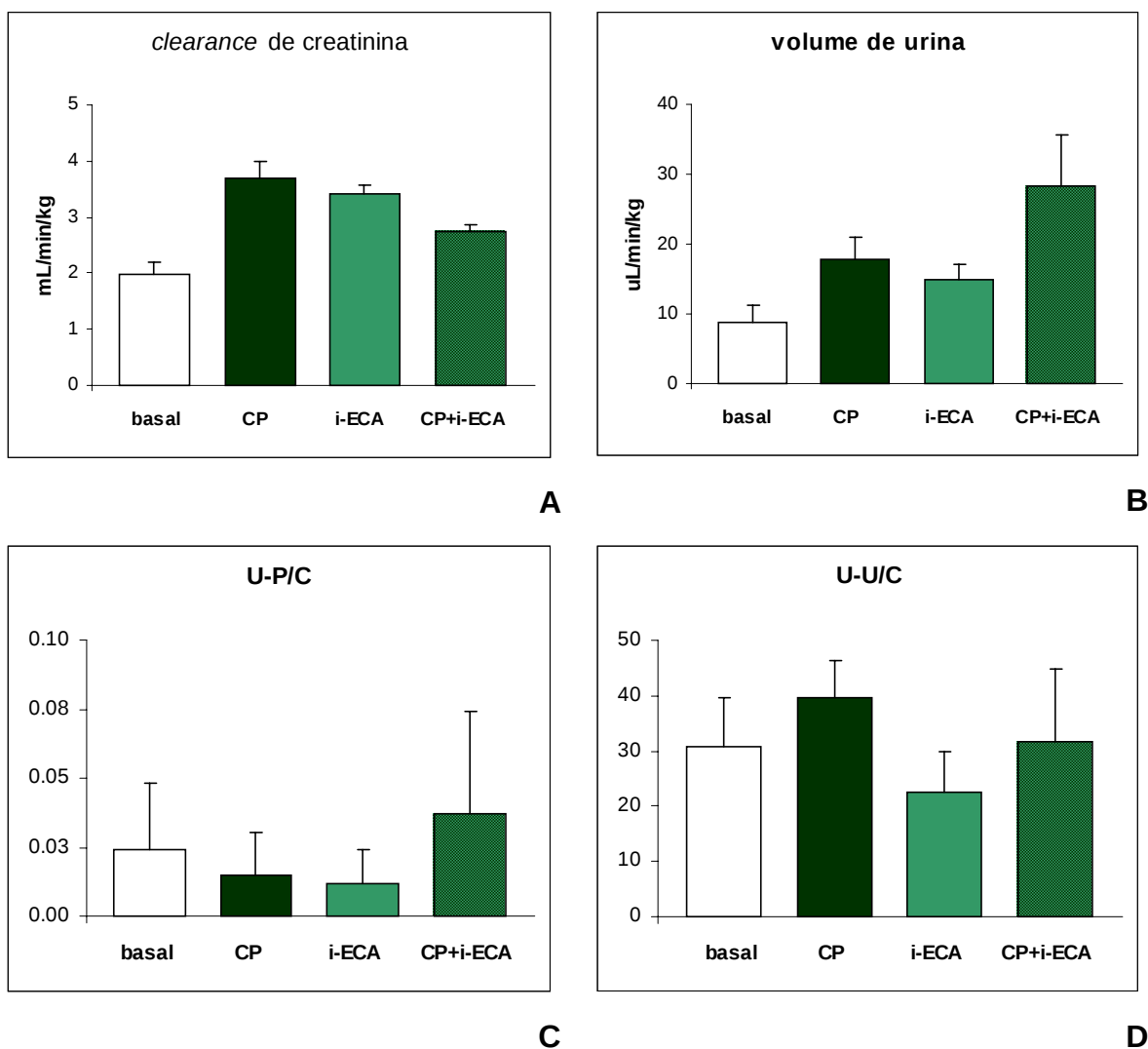
Os valores obtidos estão apresentados na Tabela 3 e nas Figuras 8, 9, 10 e 11. Independentemente da significação estatística das variações observadas, todos os parâmetros estudados mantiveram-se dentro dos valores normais para cães saudáveis.

**TABELA 3** – Valores (média±desvio padrão) e resultados do Teste t pareado das concentrações séricas de creatinina (Scr), uréia (Sur), proteína total (SPT), albumina (Salb), sódio (SNa) e potássio (SK), além de *clearances* de creatinina (Ccr), volume de urina (vol. de urina), razão proteína:creatinina da urina (U-P/C), razão uréia:creatinina da urina (U-U/C), excreções fracionadas de sódio (EfNa) e potássio (EfK), e pressões arteriais sistólica, média e diastólica de sete cães (três machos e quatro fêmeas), clinicamente normais, avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com inibidor da enzima conversora de angiotensina (i-ECA), associação de tratamento com i-ECA e carga de proteína (CP+i-ECA). Unesp - Jaboticabal, 2007.

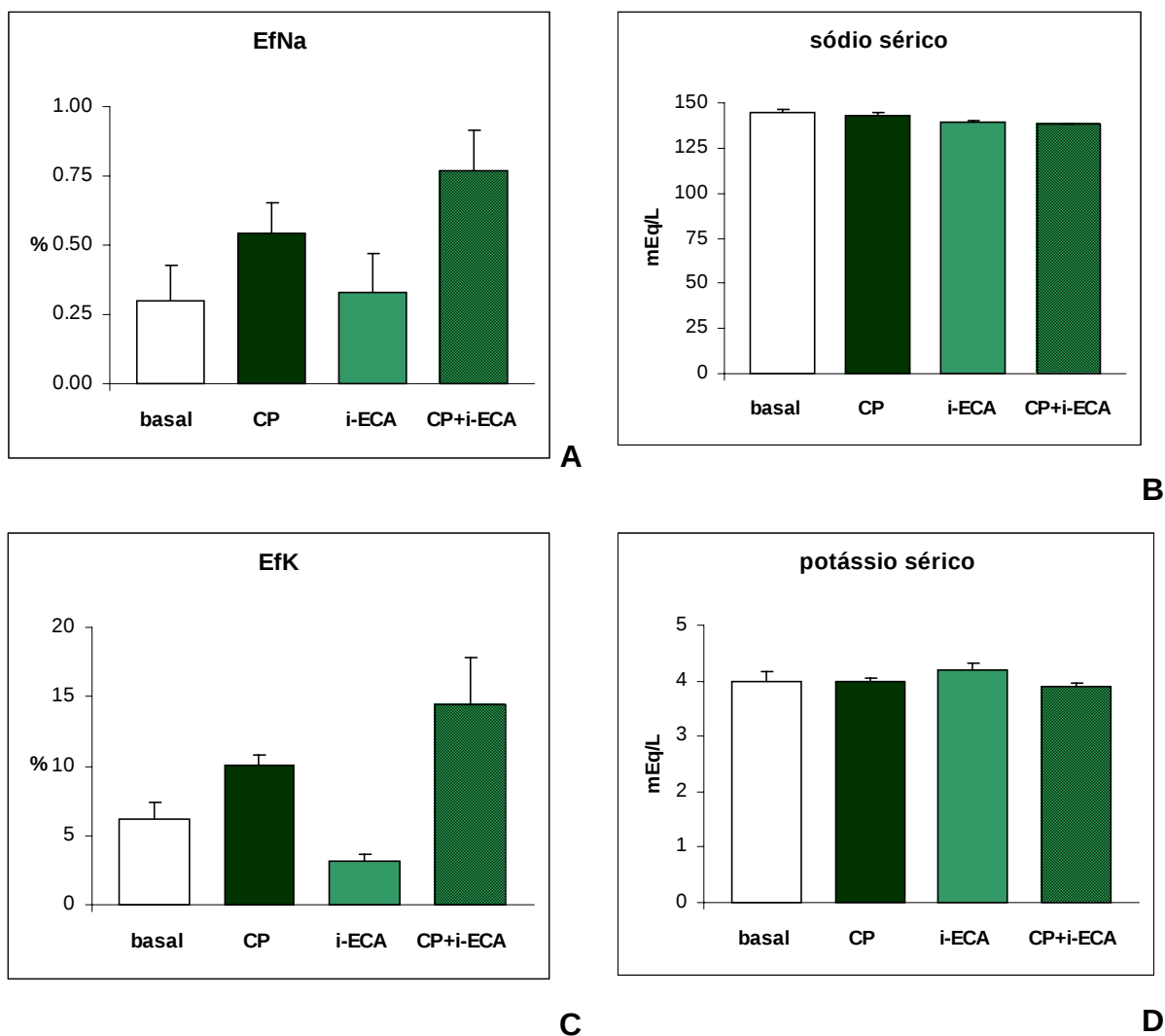
|                           | Basal      | CP         | i-ECA      | CP+i-ECA           |
|---------------------------|------------|------------|------------|--------------------|
| Ccr (mL/min/kg)           | 1,99±0,57  | 3,68±0,81  | 3,42±0,37  | 2,73±0,34          |
| Vol. de urina (μL/min/kg) | 8,77±6,25  | 17,80±8,32 | 14,97±5,75 | 28,23±19,55        |
| U-P/C                     | 0,13±0,06  | 0,14±0,04  | 0,08±0,03  | 0,20±0,10          |
| U-U/C                     | 30,7±23,5  | 39,6±17,5  | 22,6±7,18  | 31,6±13,33         |
| EfNa (%)                  | 0,30±0,34  | 0,54±0,29  | 0,33±0,37  | 0,77±0,39          |
| EfK (%)                   | 6,2±3,3    | 10,1±1,9   | 3,1±1,4    | 14,48±8,7          |
| SNa (mEq/L)               | 145 ±4     | 143±4      | 139±3      | 138±2              |
| SK (mEq/L)                | 4,0±0,4    | 4,0±0,1    | 4,2±0,3    | 3,9±0,2            |
| Scr (mg/dL)               | 1,16±0,15  | 0,74±0,23  | 0,88±0,11  | 0,93±0,09          |
| Sur (mg/dL)               | 46,80±13,2 | 66,7±26,8  | 42,9±9,6   | 51,6±4,0           |
| SPT(g/dL)                 | 8,00±0,9   | 7,3±0,4    | 8,2±0,9    | 7,1±0,3            |
| Salb(g/dL)                | 3,20±0,2   | 2,8±0,4    | 3,5±0,3    | 2,8±0,2            |
| PS (mmHg)                 | 139±8      | 142±7      | 140±4      | 140±6              |
| PM (mmHg)                 | 105±13     | 110±11     | 101±6      | 105±6 <sup>a</sup> |
| PD (mmHg)                 | 92±9       | 93±13      | 84±5       | 81±7               |

CP – 4,7g de proteína por quilograma de peso corporal.

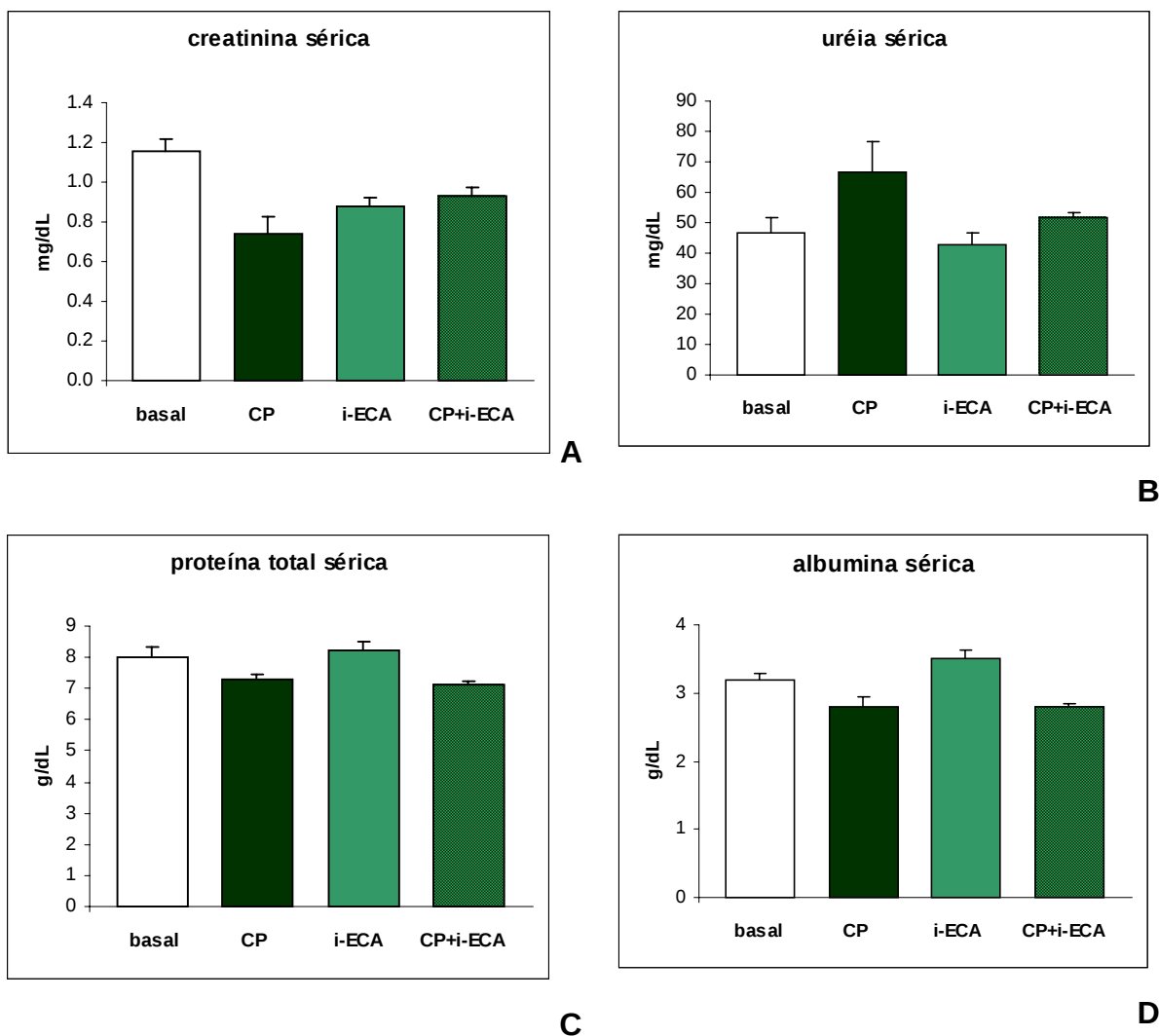
i-ECA – maleato de enalapril.



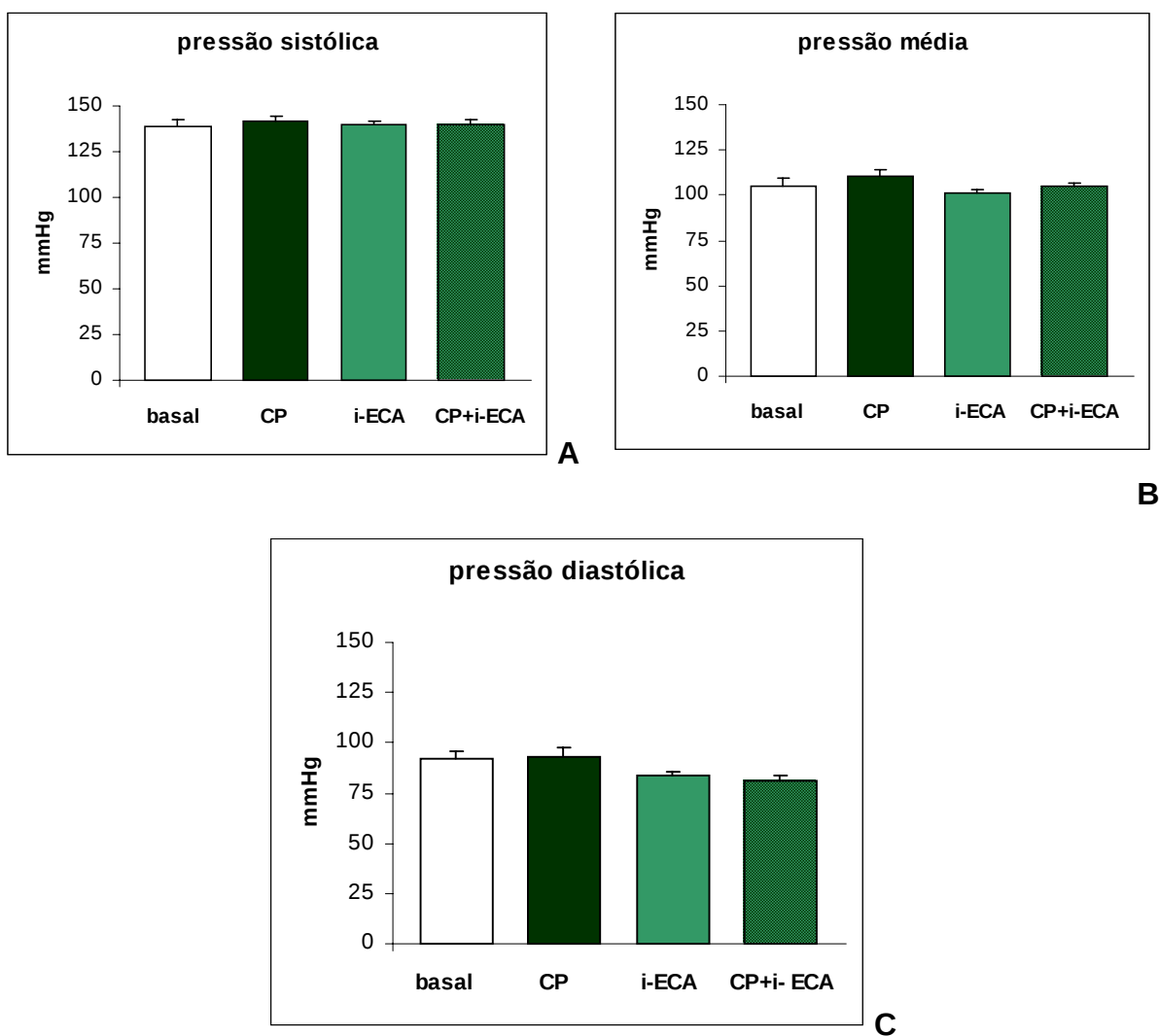
**FIGURA 8.** Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) clearance de creatinina, (B) volume de urina, (C) razão proteína:creatinina da urina (U-P/C) e (D) razão uréia:creatinina (U-U/C) de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com maleato de enalapril (i-ECA), e associação de CP e i-ECA. Unesp - Jaboticabal, 2007.



**FIGURA 9.** Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) excreção fracionada de sódio (EfNa), (B) sódio sérico, (C) excreção fracionada de potássio (EfK) e (D) potássio sérico de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com maleato de enalapril (i-ECA), e associação de CP e i-ECA. Unesp - Jaboticabal, 2007.



**FIGURA 10.** Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) creatinina sérica, (B) uréia sérica, (C) proteína total sérica e (D) albumina sérica de sete cães clinicamente sadios avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com maleato de enalapril (i-ECA), e associação de CP e i-ECA. Unesp - Jaboticabal, 2007.



**FIGURA 11.** Representações gráficas das médias (colunas) e erros padrões das médias (barras nos topos das colunas) dos valores de (A) pressão arterial sistólica, (B) pressão arterial média e (C) pressão arterial distólica de sete cães clinicamente saudáveis avaliados em jejum (basal), após carga oral de proteína (CP), tratamento com maleato de enalapril (i-ECA), e associação de CP e i-ECA. Unesp - Jaboticabal, 2007.

## Discussão

A taxa de filtração glomerular, estimada pelo *clearance* de creatinina, aumentou em consequência da carga de proteína, provavelmente por ação de prostaglandinas. Em ratos as dietas com teor protéico alto determinam aumento da TFG com aumento da excreção urinária de eicosanóides (KEIJZER & PROVOOST, 1992). O envolvimento das prostaglandinas no processo fica evidenciado pelo aumento da expressão cortical de COX-2 mediado por óxido nítrico produzido a partir de estímulo neuronal (YAO et al., 2006).

Quando foi feita inibição da enzima conversora de angiotensina os cães também apresentaram aumento da TFG. Este achado evidencia que a AII pode ter papel relevante na manutenção da filtração glomerular em um ritmo baixo durante o jejum como observado na avaliação basal do experimento. Considerando o descrito por MENÈ & DUNN (1992), sob condição basal a AII pode exercer efeito vasoconstritor na arteríola aferente, o que teria sido abolido pelo i-ECA.

A administração de uma carga de proteína aos cães sob efeito de i-ECA resultou em uma TFG de valor intermediário entre o basal e os obtidos com as duas intervenções isoladamente. É sabido que independentemente da hemodinâmica glomerular a AII atua no túbulo proximal aumentando o transporte de sódio através da membrana basolateral (MENÈ & DUNN, 1992). Com a inibição da formação de AII pode ter havido aumento da carga de cloreto de sódio oferecida ao túbulo distal e, conseqüentemente, ativação do mecanismo de regulação túbulo-glomerular. Quando há um aporte grande de cloreto de sódio para o segmento distal, a leitura feita pela mácula densa estimula a produção de renina e a expressão de COX-2 (BOIM et al., 2002 e HARRIS et al., 2004). Nesta condição ocorre resistência vascular dependente dos prostanóides (CASTROP et al., 2001).

A excreção fracionada de potássio diminuiu com a administração de i-ECA. Possivelmente, deixou de haver estimulação da secreção de aldosterona, em decorrência da inibição de produção de AII (MENÈ & DUNN, 1992; BOIM et al., 2002). Entretanto, a inibição de ECA não constituiu fator de contraposição ao aumento da excreção de potássio incitada pela carga de proteína. À semelhança do que foi

observado com a taxa de filtração glomerular, e como consequência de seu aumento, o volume de urina foi maior após a carga de proteína, i-ECA e a associação dos dois fatores. O volume maior de urina implica aumento do fluxo de líquido tubular e da secreção de potássio por arrastamento (SEGURO et al., 2002). Em resumo, o estudo evidenciou que, em cães saudáveis, a angiotensina II pode ser responsável pela manutenção da TFG em situação basal, ou seja, quando o aumento da filtração não é requerido. Se fisiologicamente o cão apresenta aumento da TFG após ingestão de proteína, e este evento fica parcialmente restringido com a inibição da formação de AII, o aumento de liberação de renina pode desencadear diminuição não fisiológica da TFG.

## REFERÊNCIAS\*

- ABBATE, M.; ZOJA, C.; CORNA, D.; CAPITANIO, M.; BERTANI, T.; REMUZZI, G. In Progressive Nephropaties, overload of tubular cells with filtered proteins translates glomerular permeability disfunction into cellular signals of interstitial information. **Journal of American Society of Nephrology**, v. 9, p. 1213-1224, 1998.
- ANDERSON, S.; HELMUT, G. R.; BRENNER, B. M. Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in the rat. **Journal of Clinical Investigation**, v. 77, p. 1993-2000, 1986.
- BIDANI, A. K.; MITCHELL, K. D.; SCHWARTZ, M. M.; NAVAR, G.; LEWIS, E. J. Absence of glomerular injury or nephron loss in a normotensive rat remnant kidney model. **Kidney International**, v. 38, p. 28-38, 1990.
- BOIM, M. A.; TEIXEIRA, V. P. C.; SCHOR, N. In: ZATZ, R. **Fisiopatologia Renal**. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2002, cap. 2, p.21-39.
- BOSCH, J. P.; LAUER, A.; GLABMAN, S. Short-term protein loading in assessment of patients with renal disease. **The American Journal of Medicine**, v.77, p.873-879, 1984.
- BOSCH, J. P.; SACCAGGI, A.; LAUER, A., RONCO, C.; BELLEDONNE, M.; GLABMAN, S. Renal functional reserve in humans. **The American Journal of Medicine**, v. 75, p. 943-950, 1983.
- BOVÉE, K. C. Influence of dietary protein on renal function in dogs. **Journal of Nutrition**, v. 121, S128-S139, 1991.
- BRATER, D. C.; HARRIS C.; REDFERN, J. S.; GERTZ, B. J. Renal effects of COX-2 selective inhibitors. **American Journal of Nephrology**, v.21, p. 1-15, 2001.
- BROWN, S. A.; FINCO, D. R. Characterization of the renal response to protein ingestion in dogs with experimentally induced renal failure. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 4, p. 569-573, 1992.
- BROWN, S. A.; FINCO, D. R. Characterization of the renal response to protein ingestion in dogs with experimentally induced renal failure. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 4, 569-573, 1992.

---

\* Redigidas conforme as normas ABNT NBR 6023, Agosto/2002.

- BROWN, S. A.; FINCO, D. R.; BROWN, C. A.; CROWELL, W. A.; ALVA, R.; ERICSSON, G. F.; COOPER, R. Evaluation of the effects of inhibition of angiotensin converting enzyme with enalapril in dogs with induced chronic renal insufficiency. **American Journal of Veterinary Research**, v. 64, n. 3, p. 321-327, 2003.
- BROWN, S. A.; FINCO, D. R.; CROWELL, W. A.; NAVAR, L. G. J. Nutrition, Dietary protein intake and glomerular adaptations to partial nephrectomy in dogs. **The Journal of Nutrition**, v. 121, n. 11S, p. S125-127, 1991.
- CASTROP, H.; SCHWEDA, F.; SCHUMACHER, K.; WOLF, K.; KURTZ, A. Role of renocortical cyclooxygenase-2 for renal vascular resistance and macula densa control of rennin secretion. **Journal of American Society of Nephrology**, v. 12, p. 867-874, 2001.
- CHAN, C. C.; BOYCE, S.; BRIDEAU, C.; CHARLESON, S.; CROMLISH, W.; ETHIER, D.; EVANS, J.; FORD-HUTCHINSON, A. W.; FORREST, M. J.; GAUTHIER, et al. Rofecoxibe [Vioxx, MK-0966; 4-(4'-methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2-(5H)-furanone]: A potente and orally active cyclooxygenase-2 inhibitor. Pharmacological and biochemical profiles. **The Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 290, n. 2, p. 551-560, 1999.
- CHIURCHIU, C.; REMUZZI, G.; RUGGENENTI, P. Angiotensin-converting enzyme inhibition and renal protection in nondiabetic patients: the data of the meta-analyses. **Journal of American Society of Nephrology**, v. 16, S58-63, 2005.
- CLARIS-APIANE, A.; ASSAEL, B. M.; TIRELLI, A. S.; MORRA, G.; CAVANNA, G. Lack of glomerular hemodynamic stimulation after infusion of branched chain aminoacids. **Kidney International**, v. 33, p. 91-94, 1988.
- DE SANTO, N. G.; CAPASSO, G.; ANASTASIO, P.; COPPOLA, S.; CASTELLINO, P.; LAMA, G.; BELLINI, L. The renal hemodynamic response following a meat meal in children with chronic renal failure and in healthy controls. **Nephron**, v. 56, p. 136-142, 1990.
- DON, B. R.; BLAKE, S.; HUTCHISON, F. N.; KAYSEN, G. A.; SCHAMBELAN, M. Dietary protein intake modulates glomerular eicosanoid production in the rat. **American Journal of Physiology – Renal Physiology**, v. 256, p. F711-F718, 1989.

EDDY, A. A. Interstitial Nephritis induced by protein-overload proteinuria. **American Journal of Pathology**, v. 135, n. 4, 719-733, 1989.

EMERY, P. Cyclooxygenase-2: a major therapeutic advance? **The American Journal of Medicine**, v. 110 (1A), p. 42S-45S, 2001.

FINCO, D. R.; BROWN, S. A.; CROWELL, W. A.; BROWN C. A.; BARSANTI, J. A.; CAREY, D. P.; HIRAKAWA, D. A. Effects of aging and dietary protein intake on uninephrectomized geriatric dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 55, n. 9, p. 1282-1290, 1994.

FINCO, D. R.; BROWN, S. A.; WAYNE, A. C.; GROVES, C. A.; DUNCAN, R.; BARSANTI, J. A. Effects of phosphorus/calcium and phosphorus/calcium-replete 32% protein diets in dogs with chronic renal failure. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 1, p. 157-163, 1992.

FINCO, D. R.; COOPER, T. L. Soy protein increases glomerular filtration rate in dogs with normal or reduced renal function. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 745-748, 2000.

FINCO, D.R. Urinary protein loss. In: OSBORNE, C.A., FINCO, D.R. **Canine and Feline Nephrology and Urology**. 1<sup>st</sup> ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995, cap.9, p.211-215.

FITZGERALD, G. A.; PATRONO, C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **The New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 6, p. 433-442, 2001.

FORSYTH, S. F.; GUILFORD, W. G.; PFEIFFER, D. U. Effects of AINES administration on creatinine clearance in health dogs undergoing anaesthesia and surgery. **Journal of Small Animal Practice**, v. 41, p. 547-550, 2000.

HARRIS, R. C. Jr Cyclooxygenase-2 inhibition and renal physiology. **American Journal of Cardiology**, v. 89 (suppl), p 10D-17D, 2002.

HARRIS, R. C.; ZHANG, M. Z.; CHENG, H. F. Review: Cyclooxygenase-2 and the renal rennin-angiotensin system. **Acta Physiologic Scandinav**, v. 181, p. 543-547, 2004.

HENNAN, J. K. Effects of selective cyclooxygenase-2 inhibition on vascular responses and thrombosis in canine coronary arteries. **American Heart Association**, v.63, p. 820-825, 2001.

- HOLM, E. A.; SOLLING, K. Dietary protein restriction and the progression of chronic renal insufficiency: a review of the literature. **Journal of Internal Medicine**, v. 239, p. 99-104, 1996.
- HOSTETTER, T. H.; OLSON, J. L.; RENNKE, H. G.; VENKATACHALAM, M. A. ; BRENNER, B. M. Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. **American Journal of Physiology**, v. 241, F85-F92, 1981.
- HUMBERT, B.; BLEIS, P.; MARTIN, L.; DUMON, H; DARMAUN, D.; NGUYEN, P. Effects of dietary protein restriction and amino acids deficiency on protein metabolism in dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v. 85, p. 255-268, 2001.
- HUTCHISON, F. N.; MARTIN, V. I.; JONES, H.; KAYSEN, G. A. Differing actions of dietary protein and enalapril on renal function and proteinuria. **American Journal of Physiology**, v. 258, p. 1126-1132, 1990.
- JACKLE, I.; GUNTHER, H.; VON GISE, H.; ALT, J. M.; BOHLE, A.; STOLTE, H. Kidney function and protein excretion in relation to pathomorphology of glomerular diseases. **Contrib Nephrol**, v. 68, p. 128-135, 1988.
- KASISKE, B. L.; LAKATUA, J. D. A. The effects of dietary protein restriction on chronic progressive renal disease. **Mineral Electrolyte Metabolic**, v. 23, p. 296-300, 1997.
- KEIJZER, M. H.; PROVOOST, A. P. Effects of protein intake and unilateral nephrectomy on renal function and eicosanoid excretion in rats. **Mineral Electrolyte Metabolic**, v. 18, p. 113-116, 1992.
- LAPIN, A.; GABL, F.; KOPSA, H. Diagnostic use of an analysis of urinary proteins by practicable sodium dodecyl sulfate electrophoresis methods and rapid two-dimensional electrophoresis. **Electrophoresis**, v. 10, p. 589-595, 1989.
- MARTIN, W. F.; ARMSTRONG, L. E.; RODRIGUEZ, N. R. Dietary protein intake and renal function. **Nutrition and Metabolism**, v. 2, n. 25, p. 1-9, 2005.
- MENÈ, P.; DUNN, M. J. Vascular glomerular and tubular effects of angiotensin II, kinins, and prostaglandins. In: **The Kidney Physiology and Pathophysiology**. SELDIN D.W.; GIEBISH, G. 3<sup>rd</sup> ed., v. 1, New York: Library of Congress, 1992, cap. 34, p. 1205-1248.

REMUZZI, G.; RUGGENENTI, P.; BENIGNI, A. Understanding the nature of renal disease progression. **Kidney International**, v. 51, p. 2-15, 1997.

ROBINSON, D. S. Estructura molecular y propiedades funcionales de los alimentos. In: **Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos**. Zaragoza, Editorial Acribia SA, 1991, cap. 5, p. 206-210.

SEGURO, A. C.; MALNIC, G.; ZATZ, R. Distúrbios do metabolismo de potássio. In: ZATZ, R. **Fisiopatologia Renal**. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2002, cap. 8, p.123-150.

SLOWOWITZ, L. A.; HIRSCHBERG, R.; DOPPLE, J. D. Captopril augments the renal response to an amino acid infusion in diabetic adults. **American Journal of Physiology – Renal Physiology**, v. 255, n. 4, p. F755-762, 1988.

SUN, L. K.; BECK-SCHIMMER, B.; OERTLI, B.; WUTHRICH, R. P. Hyaluranin-induces cyclooxygenase-2 expression promotes thromboxane A<sub>2</sub> production by renal cells. **Kidney International**, v. 59, p. 190-196, 2001.

TRACHTMAN, W.; ZAVILOWITZ, B.; BENNETT, B.; GOLDSMITH, D. I. The effect of captopril on urinary protein excretion in puromycin aminonucleoside nephrosis in rats. **Pediatric Research**, v. 19, n. 8, p. 828-834, 1985.

WALLACE, J. L. Distribution and expression of cyclooxygenase (COX) isoenzymes, their physiological roles, and the categorization of nonsteroidal antiinflammatory drugs. **The American Journal of Medicine**, v. 107 (6A), p. 11-17, 1999.

WHELTON, A. L. Nephrotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Physiologic foundation and clinical implication. **The American Journal of Medicine**, v. 106 (5B), p. 13S-24S, 1999.

WHITE, J. V.; OLIVIER, N. B.; REIMANN, K.; JOHNSON, C. Use of protein-to-creatinine ratio in single urine specimen for quantitative estimation of canine proteinuria. **Journal of American Veterinary Association**, v. 185, n. 8, p. 882-885, 1984.

WHITE, V. W.; FINCO, D. R.; CROWELL, W. A.; BROWN, S. A.; HIRAKAWA, D. A. Effect of dietary protein on functional, morphologic, and histologic changes of the kidney during compensatory renal growth in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, n. 8, p. 1357-1365, 1991.

WOLF, G.; PORTH, J.; STAHL, R. A. K. Acute renal failure associated with rofecoxib. **Annals of Internal Medicine**, v. 133, n. 5, p. 394, 2000.

WOODS, L. L.; YUONG, D. R.; SMITH, B. E. Regulation of renal hemodynamics after protein feeding: effects of loop diuretics. **American Journal of Physiology**, v. 261, n. 5, p. F815-823, 1991.

YAO, B.; XU, J.; QI, Z.; HARRIS, R. C.; ZHANG, M. Role of renal cortical cyclooxygenase-2 expression in hyperfiltration in rats with high-protein intake. **American Journal of Physiology – Renal Physiology**, v. 291, n. 4, p. F368-374, 2006.