

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**MONITORAMENTO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM CÃES
COM DOENÇA RENAL CRÔNICA IV SUBMETIDOS À
HEMODIÁLISE INTERMITENTE**

MARIA GABRIELA PICELLI DE AZEVEDO

Botucatu – SP
2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**MONITORAMENTO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM CÃES
COM DOENÇA RENAL CRÔNICA IV SUBMETIDOS À
HEMODIÁLISE INTERMITENTE**

MARIA GABRIELA PICELLI DE AZEVEDO

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção
do título de Mestre.

Orientador: Profa. Ass. Dra. Priscylla
Tatiana Chalfun Guimarães Okamoto

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Azevedo, Maria Gabriela Picelli de.

Monitoramento da resposta inflamatória em cães com
doença renal crônica IV submetidos à hemodiálise
intermitente / Maria Gabriela Picelli de Azevedo. -
Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães Okamoto
Capes: 50501062

1. Cão - Doenças. 2. Resposta imune. 3. Insuficiência
renal crônica. 4. Proteína C-Reativa. 5. Dialise.

Palavras-chave: Diálise; Proteína C reativa; Rins.

Nome do autor: MARIA GABRIELA PICELLI DE AZEVEDO

Título: Monitoramento da resposta inflamatória em cães com doença renal crônica IV submetidos à hemodiálise intermitente

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Ass. Dr^a. Priscylla Tatiana C. Guimarães Okamoto
Presidente e Orientadora
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof^a. Ass. Dr^a. Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Rogério Giuffrida
Membro
Pós Graduação em Ciência Animal
UNOESTE – Presidente Prudente

Data da defesa: 12 de Setembro de 2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais João e Lia e a meus avós, por todo apoio e incentivo a minha jornada em Botucatu. Também agradeço as minhas tias em especial Sueli e Edna por todo incentivo. A minha prima Luana que faz parte do apoio e incentivo nessa jornada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (**CAPES**) - Código de Financiamento 001.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**CNPq**) a concessão da bolsa de estudo.

Ao programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da FMVZ-UNESP – Botucatu por ter dado a oportunidade de realizar a mestrado, aos residentes e professores responsáveis pela Clínica de Pequenos Animais e a todos os setores envolvidos em alguma etapa desta pesquisa.

Agradeço a minha orientadora Prof^a. Priscylla Tatiana, por ter me aceitado como sua orientada, pela confiança atribuída e pela oportunidade de estar onde sempre desejei e por todo apoio para que este trabalho pudesse ser concluído.

A pesquisadora Fabiana F. de Souza por ter cedido o Laboratório de Proteômica da FMVZ-Unesp campus Botucatu e a Prof. Elizabeth M. S. Schmidt e ao Prof. João Carlos P. Ferreira por terem cedido o Laboratório de Pesquisa em Proteínas de Fase Aguda e Monitoramento não Invasivo da Reprodução e do Bem-Estar Animal da FMVZ-Unesp campus Botucatu por terem possibilitado as dosagens de proteína C reativa. Agradeço a Prof^a. Alessandra Melchert por todo apoio e auxílio durante a execução deste trabalho. Agradeço ao Henry Mogollo pela ajuda durante a dosagem de minhas amostras, e por todo suporte durante a análise e interpretação de meus resultados.

Agradeço a Prof. Regina Kiomi Takahira e aos residentes do Laboratório Clínico Veterinário da FMVZ-Unesp campus Botucatu, pelo auxílio laboratorial durante a execução deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, que tão gentilmente aceitaram participar e colaborar com esta dissertação.

A todos meus amigos, em especial a Bruna, Ivaldo, Barbara, por se tornarem minha família de Botucatu, por não medirem esforços em me ajudar em tudo, a Paula que com certeza me proporcionou muitas risadas e muita ajuda no meu desenvolvimento, a Gisele e Heloíse pela amizade e pelos risos. A Silvano meu obrigada por todo conhecimento transferido. Um agradecimento especial a Gisele Reis, uma pessoa que não mediu esforços, apoio e incentivo quando iniciei a jornada na pós-graduação.

Em carinho a todos os animais que possibilitaram que este trabalho fosse desenvolvido.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

ABREVIATÓES

AAS – Amiloide A sérico

AGP – Alfa-1 Glicoproteína ácida

CRP – Proteína C Reativa

CRPc – Proteína C reativa obtida pelo método ELISA sanduíche

CRPe - Proteína C reativa obtidos pelo método ELISA

DRC – Doença renal crônica

ELISA – Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

HDI – Hemodiálise intermitente

Hp - Haptoglobina

iECA – Inibidores da enzima conversora de angiotensina

Il-1 – Interleucina – 1

Il-1 α – Interleucina – 1-alfa

Il-6 – Interleucina - 6

IRA – Injúria renal aguda

IRIS – Sociedade Internacional de Interesse Renal

PFA – Proteína de fase aguda

RFA – Resposta de fase aguda

RPC – Razão proteína:creatinina urinária

SDMA - Dimetilarginina simétrica

TCA – Tempo de coagulação ativada

TFG – Taxa de filtração glomerular

TNF- α – Fator de necrose tumoral - alfa

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	3
CAPÍTULO I	5
1. Introdução	6
2. Revisão de literatura	8
2.1 Doença renal crônica	8
2.1.1 Alterações clínicas	9
2.1.2 Alterações laboratoriais.	9
2.1.2.1 Azotemia.....	10
2.1.2.2 Anemia.....	10
2.1.2.3 Hiperfosfatemia.....	10
2.1.2.4 Acidose metabólica.....	11
2.1.2.5 Proteinúria.	11
2.1.3 Tratamento	11
2.1.3.1 Fluidoterapia	12
2.1.3.2 Hipertensão arterial sistêmica.....	12
2.1.3.3 Proteinúria	13
2.1.3.4 Controle da hiperfosfatemia.....	14
2.1.3.5 Controle da acidose metabólica.....	14
2.1.3.6 Controle da anemia.....	14
2.1.3.7 Controle de outras alterações.....	15
2.1.3.8 Dieta	15
2.1.3.9 Terapia de substituição renal.....	16
2.2 Inflamação e resposta de fase aguda.....	18
2.2.1 Proteínas de fase aguda.....	19

2.2.1.1 Albumina.....	21
2.2.1.2 Proteína C reativa.....	21
2.2.2 Proteínas de fase aguda e doença renal crônica.....	22
CAPÍTULO II Artigo científico.....	25
Resumo	26
CAPÍTULO III	48
Conclusões finais.....	49
Bibliografia.....	50

AZEVEDO, M. G. P. Monitoramento da resposta inflamatória em cães com doença renal crônica IV submetidos à hemodiálise intermitente. Botucatu, 2019. 55p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (Unesp).

RESUMO: A doença renal crônica (DRC) é uma enfermidade comum em cães idosos. No insucesso do tratamento clínico tem-se a opção das terapias de substituição renal, onde se destaca a hemodiálise intermitente (HDI). Tanto a técnica de HDI como o estado clínico dos cães com DRC podem desencadear uma reação inflamatória. A proteína C reativa (CRP) é uma proteína de fase aguda que pode ser utilizada como marcador da resposta inflamatória em cães. O objetivo deste estudo foi de avaliar o uso da proteína C reativa como um biomarcador de lesão inflamatória na monitoração da resposta inflamatória de cães com DRC no estágio IV submetidos a hemodiálise intermitente e comparar dois métodos de dosagem da proteína C reativa em cães com doença renal crônica IV. Foram selecionados 16 cães com doença renal crônica IV, divididos em dois grupos: 8 animais no grupo tratamento clínico, 8 animais no grupo hemodiálise intermitente e 7 animais sadios no grupo controle. Foram coletadas amostras de sangue antes da primeira e da última sessão de tratamento de ambos os grupos, para avaliação de hemograma, bioquímica sérica (ureia, creatinina, albumina, potássio, fósforo). Para determinação das concentrações da proteína C reativa foi utilizado o método de ELISA (Dog CRP ELISA (CRP-4), Life Diagnostics Inc.) método de ELISA sanduíche (Kit CATALYST CRP TEST , IDEXX Catalyst®), ambos conforme as recomendações do fabricante. Foi observado elevada concentração de proteína C reativa no GHDI quando comparado com GC ($p = <0,001$) nos dois momentos avaliados, e quando comparado o GHDI ao GTC ($p = 0,0406$) no M0. Não foi observada a diferença estatística dos valores de CRP entre o M0 e MTerminal em nenhum dos grupos. A CRP apresentou correlação positiva moderada com os leucócitos totais ($r = 0,5479$, $p = 0,0152$), correlação negativa moderada com albumina ($r = -0,5974$, $p = 0,0069$) e hemácia ($r = -0,5878$, $p = 0,0131$). Notou-se redução nas concentrações séricas de ureia, creatinina e fósforo após as sessões de hemodiálise intermitente com diferença significativa em relação ao grupo controle e grupo tratamento clínico, no MTerminal, e quando comparado os dois

momentos observou-se redução nas concentrações de ureia ($p=0,0116$) e creatinina, ($p=0,0250$), aumento dos valores de leucócitos totais ($p=0,0391$) no GHDI e aumento dos valores de creatinina ($p=0,0372$) e fósforo ($p=0,0135$) no GTC. A correlação entre as técnicas aplicadas foi positiva forte ($r=-0,7039$, $p<0,001$). Não foi observada diferença na taxa de sobrevivência entre os animais com doença renal crônica IV.

Palavras-chave: Diálise, Rins, Proteína C reativa.

AZEVEDO, M. G. P. Monitoring of inflammatory response in dogs with Stage IV Chronic Kidney Disease undergoing intermittent hemodialysis. Botucatu, 2019. 55p. Thesis dissertation (Master degree) – School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, São Paulo State University (Unesp).

ABSTRACT: Chronic Kidney Disease (CKD) is a common disease in older dogs. When the clinical treatment is unsuccessful, kidney replacement therapies become an option, the most prevalent of which is Intermittent Hemodialysis (IHD). Both the IDH technique and the clinical condition of the CKD patients may trigger an inflammatory reaction. C-reactive protein (CRP) is an acute phase protein that may be used as a marker for inflammatory response in dogs. This study aims at evaluating the use of C-Reactive Protein as a biomarker for inflammatory injuries in the monitoring process of the inflammatory response in dogs affected by Stage IV Chronic Kidney Disease undergoing intermittent hemodialysis, in addition to comparing the two different tests to measure CRP in these patients. Sixteen dogs with Stage IV chronic kidney disease were selected for the study and divided into two groups: 8 animals in the clinical treatment group; and 8 animals in the intermittent hemodialysis group. In addition, seven healthy animals were included in a third group as a control. Blood samples were collected before the first and the last treatment session for both groups for a full blood count and serum biochemistry assay (urea, creatinine, albumin, potassium and phosphorus). A canine CRP ELISA Kit (Dog CRP ELISA (CRP-4), Life Diagnostics Inc.) and the CATALYST CRP TEST device (IDEXX Catalyst®) were used to determine the concentration of C-Reactive protein according to the manufacturer's instructions. We observed an increased concentration of C-Reactive Protein in the GHDI in contrast with the CG ($p = <0,001$) at both moments evaluated, as well as when comparing the GHDI with the GTC ($p = 0,0406$) at M0. There were no statistically significant differences in the CRP values between M0 and MTerminal within any of the groups. CRP presented a moderate positive correlation with the total leukocyte levels ($r=0,5479$; $p=0,0152$) and a moderate negative correlation with the albumin ($r=-0,5974$; $p=0,0069$) and red blood cell levels ($r= -0,5878$; $p=0,0131$). There was a reduction in the serum concentrations of urea, creatinine and phosphorus after the intermittent hemodialysis sessions, with statistically significant differences in comparison with the control and clinical treatment

groups at MTerminal. When comparing both moments, there was a reduction in the concentrations of urea ($p=0,0116$) and creatinine ($p= 0,0250$), and an increase in the total levels of leukocytes ($p= 0,0391$) in the IHDG, as well as an increase in the levels of creatinine ($p= 0,0372$) and phosphorus ($p= 0,0135$) in the CTG. There was a strong positive correlation ($r= -0,7039$; $p=<0,001$) between the two tests and no differences were observed in the survival rates of animals with Stage IV Chronic Kidney Disease.

Keywords: Dialysis, Kidneys, C-reactive protrein.

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada pela presença de danos estruturais e/ou funcionais em um ou ambos os rins por período superior a três meses (POLZIN, 2011a), sendo esta a terceira causa mais comum de morte em cães, tendo prevalência superior entre animais idosos (CHEW; DIBARTOLA; SCHENCK, 2011). Segundo a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS), a DRC pode ser dividida em quatro estadiamentos baseado nas concentrações de creatinina sérica e pela mensuração de dimetilarginina simétrica (SDMA), e subclassificada em dois subgrupos com base dos valores da relação proteína: creatinina urinária e pressão sanguínea (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019a). No estágio 1 da doença, os cães apresentam creatinina sérica $<1,4\text{mg/dL}$ e SDMA $<18\text{ }\mu\text{g/dl}$. No estágio 2 da doença valores de creatinina sérica entre $1.4 - 2.8\text{ mg/dL}$ e SDMA entre $18 - 35\text{ }\mu\text{g/dl}$. Já no estágio 3 da doença os cães apresentam creatinina sérica entre $2.9 - 5.0\text{ mg/dL}$ e SDMA entre $36 - 54\text{ }\mu\text{g/dl}$. No estágio 4 da DRC os cães apresentam níveis séricos de creatinina superiores a 5mg/dL e SDMA $>54\text{ }\mu\text{g/dl}$ (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019a).

Reconhecer adequadamente a DRC inclui considerar as várias evidências presentes nos exames laboratoriais como a avaliação do perfil renal, hemograma, urinálise, estado hidroeletrolítico e ácido-básico além da avaliação de ultrassonográfica (POLZIN, 2011a). Dentre os sinais clínicos que podem ser observados encontram-se, poliúria, polidipsia, perda de peso progressiva, perda de massa muscular, apetite seletivo, urina de coloração mais clara. À medida que a perda da função renal avança, surgem sinais clínicos relacionados a uremia como náusea, estomatites, necrose e descamação da mucosa da língua, vômitos, diarreia e mucosas secas (xerostomia) (POLZIN, 2011b).

A hemodiálise intermitente (HDI) é uma terapia de substituição renal extracorpórea indicada para remoção de fármacos e toxinas, em casos de injúria renal aguda (IRA), DRC em crise urêmica e DRC em estágio IV (BLOOM; LABATO, 2011), ou quando há insucesso da terapia convencional (PERONDI et al., 2018). A HDI compreende sessões de curta duração (três a seis horas) por dia, até três vezes por semana (COWGILL; GUILLAUMIN, 2013).

A resposta de fase aguda (RFA) compreende parte da defesa imunológica do organismo frente a um estímulo inflamatório (CRAY; ZAIAS; ALTMAN, 2009), que estimula a liberação de citocinas pró inflamatórias tais como Interleucina – 1alfa (IL-1 α), Interleucina – 6 (IL-6) e Fator de necrose tumoral – alfa (TNF- α) (CRISPE, 2016). Durante a RFA há alteração das concentrações de algumas proteínas plasmáticas dentre elas as proteínas de fase aguda (PFA) (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2008). As PFA durante a resposta de fase aguda sistêmica alteram em pelo menos 25% das concentrações (ECKERSALL, 2008; GABAYC, C.; KUSHNER, 1999).

A produção e a resposta das PFA variam de acordo com a espécie. Em cães, a proteína C reativa (CRP) é considerada proteína de fase aguda positiva *major*, pois sua concentração aumenta frente ao estímulo inflamatório ou infeccioso. A albumina é considerada uma PFA negativa, pois reduz suas concentrações em resposta a inflamação (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005), pois o aumento da síntese das PFA leva a redução gradativa de sua produção no organismo ((ECKERSALL, 2008).

Mesmo estando presentes na RFA, já foram descritos aumentos das PFA em processos crônicos (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005). Já foi demonstrado elevadas concentrações de CRP em cães com DRC (RAILA; SCHWEIGERT; KOHN, 2011) e em seres humanos submetidos a hemodiálise (STENVINKEL, 2001).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho é avaliar o uso da proteína C reativa como um biomarcador de lesão inflamatória na monitoração da resposta inflamatória de cães com DRC no estágio IV submetidos a hemodiálise intermitente e tratamento clínico, correlacionando as concentrações séricas de Proteína C reativa com as concentrações com dados de albumina, hemácia, proteína total, plaquetas, leucócitos, ureia, creatinina, albumina, fósforo, potássio e relação proteína: creatinina urinária, e comparar dois métodos de dosagem da proteína C reativa em cães com doença renal crônica IV.

Neste trabalho será apresentada uma revisão sobre doença renal crônica em cães e proteínas de fase aguda e um artigo científico com os resultados do experimento de pesquisa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DOENÇA RENAL CRÔNICA

A DRC antigamente definida como insuficiência renal crônica, é uma enfermidade comum em cães e gatos idosos, tendo por volta de 7,9% de incidências nos gatos e 1,5% em cães acima de 10 anos de idade (LEFEBVRE, 2013). Tem por definição a presença de danos estruturais e/ou funcionais irreversíveis em um ou ambos os rins por um período mínimo de três meses (POLZIN, 2011a; BARTGES, 2012;).

A DRC segundo a IRIS deve ser estadiada baseando-se nos concentração de creatinina séria, e mais recentemente pela mensuração de SDMA, devendo ainda ser subestadiada em relação à intensidade da proteinúria por meio da razão proteína:creatinina urinária (RPC) e da pressão arterial sistólica, sendo o estágio IV marcado de intensa azotemia, apresentando concentração de creatinina sérica superiores a 5 mg/dL (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019a).

O estadiamento deve se basear em ao menos duas avaliações, com intervalo de aproximadamente duas semanas, da creatinina sérica obtidas com o paciente devidamente hidratado e em jejum por 12 horas. Para a subclassificação com base na proteinúria, devem ser excluídas causas pré e pós-renais, descartando amostras com evidências de infecção urinária ou hematúria. A persistência da proteinúria deve ser confirmada com base na coleta de outra amostra com intervalo de duas semanas. A pressão sanguínea deve ser aferida de duas a três vezes com intervalo de duas semanas entre cada aferição (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019a; POLZIN, 2013)

Conforme ocorre a progressão das lesões renais, mesmo com a hipertrofia dos néfrons remanescentes na tentativa de compensação, a capacidade de excreção e de concentração urinária tornam-se deficientes acarretando no acúmulo de substâncias que deveriam ser eliminadas pela urina (POLZIN; OSBORNE, 1995).

2.1.1 ALTERAÇÕES CLÍNICAS

Um correto diagnóstico de DRC deve ser baseado na persistência das alterações laboratoriais ou histórico anterior, achados de exames físico e/ou evidências de alterações estruturais apresentadas nos exames de imagem ou histopatológicos (POLZIN, 2013).

Nem todos os animais apresentam sinais clínicos como perda de peso e escore corporal e de massa muscular, sendo as manifestações clínicas são resultados da retenção ou perda de alguns compostos (BARTGES, 2012). Como sinais clínicos, observa-se redução do apetite, êmese, letargia e perda de peso, e com a progressão da uremia, destaca-se a possibilidade de gastrite urêmica, úlceras orais e disfunção plaquetária (LUNN, 2011).

Hipoalbuminemia, dislipidemia, infecção bacteriana do trato urinário, hipertensão e proteinúria são achados da DRC. Poliúria e polidipsia ocorrem devido à incapacidade dos rins de manterem o equilíbrio hídrico (BARTGES, 2012).

À palpação renal pode-se observar rins pequenos e irregulares, o que pode ser confirmado por meio de radiografia e ultrassonografia abdominal. Em casos de neoplasias renais, observa-se quadros de renomegalia (BARTGES, 2012).

2.1.2 ALTERAÇÕES LABORATORIAS

Muitas alterações laboratoriais são encontradas em pacientes com DRC e muitas destas alterações variam individualmente (POLZIN, 2011b). Alterações como anemia não regenerativa, acidose metabólica, hiperfosfatemia e azotemia são achados comuns nestes pacientes (BARTGES, 2012)

2.1.2.1 Azotemia

A azotemia é caracterizada pelo excesso de ureia, creatinina e outros compostos nitrogenados não proteicos na circulação sanguínea (POLZIN, 2011b), e ocorre na DRC como consequência da redução da filtração glomerular, o que leva ao acúmulo destes compostos na circulação sanguínea (BARTGES, 2012).

2.1.2.2 Anemia

Fiocchi e colaboradores (2017) relatam que animais com DRC apresentam anemia hipoproliferativa normocítica normocrômica progressiva que resulta da incapacidade de produção de eritropoietina pelos rins. Além disto, perdas de sangue gastrointestinal, má nutrição e redução no tempo de vida dos eritrócitos também contribuem para seu agravamento (POLZIN, 2011a).

É esperado que animais doentes renais crônicos que ainda não apresentam anemia desenvolvam este quadro em determinado momento da evolução da doença (FIOCCHI et al., 2017). Segundo Quimby (2016) a anemia contribui para a progressão da DRC devido à hipóxia, intensificando o quadro clínico de letargia, anorexia e fraqueza.

2.1.2.3 Hiperfosfatemia

Os rins desempenham um papel importante na regulação das concentrações de fósforo no organismo, fisiologicamente o fósforo é livremente filtrado pelo glomérulo e reabsorvido nos túbulos renais (POLZIN, 2011b). Durante os estádios iniciais da DRC não se observa alterações séricas de fósforo, em decorrência da redução compensatória da reabsorção tubular de fósforo, contudo quando as taxas de filtração glomerular (TFG) caem abaixo de 20% o efeito compensatório atinge seu limiar máximo e a hiperfosfatemia ocorre (POLZIN, 2011b).

Como consequência a hiperfosfatemia podem ser observados alterações como hiperparatireoidismo renal secundário, mineralização de tecidos e progressão da DRC (POLZIN, 2011a).

2.1.2.4 Acidose metabólica

Fisiologicamente os rins realizam o equilíbrio ácido básico eliminando o ácido e recapturando o bicarbonato (POLZIN, 2011b).

Em decorrência a DRC, os cães apresentam perda de tecido renal funcional, levando a retenção de ácidos metabólicos, aumento na produção de amônia e redução na recuperação de bicarbonato, provocando quadro de acidose metabólica (BARTGES, 2012; POLZIN, 2011b).

2.1.2.5 Proteinúria

O glomérulo é a unidade funcional dos rins, atuando como filtro na formação do ultrafiltrado plasmático. A passagem de proteínas é restringida do ultrafiltrado pelo seu tamanho molecular, sendo que, proteínas de baixo peso molecular são liberadas e proteínas de maior peso são retidas (VADEN; ELLIOTT, 2016).

A mensuração da proteinúria tem sido utilizada em cães como marcador do diagnóstico da DRC (CORTADELLAS; TALAVERA; FERNÁNDEZ DEL PALACIO, 2014). A IRIS (2019) recomenda o subestadiamento de cães com base nos valores da RPC.

2.1.3 TRATAMENTO

O tratamento da DRC tem objetivo de prevenir e/ou tratar as complicações da diminuição das funções renais, manejar adequadamente a associação de doenças que a acompanham e retardar a progressão da doença (POLZIN, 2011a).

Todo tratamento deve ser adequado individualmente para cada paciente. Para pacientes do estágio IV, o tratamento sintomático é importante, garantindo melhora na qualidade de vida do paciente (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019b). Além da nutrição do paciente, controle hidroeletrolítico, ácido básico, controle da proteinúria, retenção de resíduos, evitar outros insultos renais, controle do hiperparatireoidismo, da anemia e da hipertensão realizando sempre o monitoramento do paciente (BARTGES, 2012).

2.1.3.1 Fluidoterapia

As perdas de fluidos são constituídas por perdas insensíveis, as quais englobam perda de água pela respiração e fezes, e sensíveis, como a perda por meio da urina, além de vômitos e diarreia. Em animais doentes em que não há reposição adequada de fluidos pela ingestão hídrica, a fluidoterapia se torna essencial (LANGSTON, 2008). Nos pacientes com DRC a desidratação é uma complicação comum, sendo responsável pela piora da função renal e por crises urêmicas (POLZIN, 2011a).

A correção da desidratação deve ser realizada por meio de solução isotônica (ex. Ringer Lactato), por via intravenosa ou subcutânea, sempre que necessário, além do fornecimento de água fresca que deve estar sempre disponível (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019b). A administração em longo prazo de fluidoterapia subcutânea pode ser considerada em pacientes com sinais de desidratação recorrente (POLZIN, 2011a).

2.1.3.2 Hipertensão sistêmica

O objetivo do controle da pressão arterial é a manutenção da pressão sistólica abaixo de 160 mm Hg, afim de minimizar os riscos de lesão em órgãos alvos (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019b), porém quando há complicações oculares ou neurológicas em decorrência da hipertensão é indicado um controle mais rígido (QUIMBY, 2016).

Recomenda-se a redução dietética de sódio combinada ao uso de inibidores da enzima conversora de angiotensina (iECA), ou iECA's associado ao uso de bloqueadores dos canais de cálcio, e caso ainda não seja suficiente, uso associado de iECA's com bloqueadores dos receptores de angiotensina (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019b). O uso da terapia de iECA's deve ser cauteloso em pacientes desidratados, pois pode ocorrer a redução da TFG com o uso destes medicamentos (ACIERNO et al., 2018).

2.1.3.3 Proteinúria

A proteinúria tem sido associada com a progressão da DRC em cães e gatos (POLZIN, 2011a), com isso o uso de iECA é recomendado para o manejo da proteinúria (POLZIN, 2011a; VADEN; ELLIOTT, 2016).

O uso do benazepril é preferível ao enalapril, devido sua grande excreção hepática e não renal (POLZIN, 2011a). Os iECA's atuam na diminuição da resistência da arteríola glomerular eferente com consequente diminuição da pressão transcapilar glomerular, diminuição do tamanho dos poros endoteliais dos capilares glomerulares, melhora no metabolismo lipoproteico, redução do crescimento mesangial glomerular e inibição da degradação da bradicinina (VADEN; ELLIOTT, 2016).

Pode-se associar o uso de iECA ao uso de bloqueadores dos receptores da angiotensina, no entanto não há estudos em cães que confirmem que esses fármacos possam ser aditivos como foi sugerido em estudos em humanos (VADEN; ELLIOTT, 2016). Ao utilizar iECA ou bloqueadores dos receptores da angiotensina, leva-se em consideração o estado de hidratação do paciente, sendo a terapia contraindicadas em pacientes desidratados (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019b).

2.1.3.4 Controle da hiperfosfatemia

Minimizar a retenção de fósforo é uma medida terapêutica importante em pacientes com DRC (POLZIN, 2011a). Para o controle devem ser adotadas medidas como: restrição da ingestão de fósforo (ex. dietas renais) e caso as concentrações séricas de fósforo permaneçam elevadas, recomenda-se o uso de quelantes de fósforo como hidróxido de alumínio, carbonato de alumínio ou carbonato de cálcio. É importante monitorar a concentração de cálcio e fósforo a cada 4-6 semanas até estabilização dos valores (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019b).

2.1.3.5 Controle da acidose metabólica

A terapia da acidose metabólica deve-se ter como base os exames hemogasométricos dos cães com DRC (POLZIN, 2011a). Caso o animal apresente este quadro (bicarbonato sanguíneo <18 mmol/L), a suplementação oral de bicarbonato sódico é recomendada a fim de manter concentração sanguínea entre 18-24 mmol/L (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019b).

2.1.3.6 Controle da anemia

O tratamento da anemia deve ser considerado em pacientes que apresentarem hematócrito $<20\%$, sendo o uso da darbopoetina mais recomendada devido a sua ação menos antigênica. O uso da eritropoietina recombinante humana é mais efetivo, no entanto o uso veterinário não é recomendado pela IRIS (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2019b). A estimulação da eritropoiese demanda de índices elevados de ferro, em razão disto, a suplementação de ferro é recomendada nestes pacientes. Administração de ferro por via intramuscular são mais recomendadas do que a suplementação oral, devido a diminuição de absorção pelo trato gastrointestinal do paciente com DRC (QUIMBY, 2016).

2.1.3.7 Controle de outras alterações

Devemos descontinuar qualquer condição que possa levar ao agravamento do comprometimento renal, como drogas nefrotóxicas (iECA também são contraindicados em casos avançados da doença, pois estas podem levar a progressão da doença renal), infecções e situações que levem ao quadro de desidratação (BARTGES, 2012).

Os sinais gastrointestinais podem ser controlados com inibidores da bomba de prótons (ex. omeprazol) (QUIMBY, 2016), bloqueadores dos receptores H₂ (ex. ranitidina), bloqueadores dopaminérgicos (ex. metoclopramida), antagonista seletivo dos receptores 5-HT₃ (ex. ondasetrona), antagonistas do receptor de neuroquinina (ex. citrato de maropitant) e o sucralfato pode ser adicionado a terapia em casos de ulcerações do trato gastrointestinal (POLZIN, 2011a).

2.1.3.8 Dieta

O objetivo principal da dieta voltada a DRC é a manutenção do suporte nutricional, da massa muscular e condição corporal (BARTGES, 2012), em consequência da DRC ser uma doença altamente catabólica (WOOLEY; BTAICHE; GOOD, 2005).

Diversos ensaios clínicos apontam benefícios em pacientes com DRC que foram alimentados com dietas renais, tais como o retardo do surgimento da uremia e morte prematura destes pacientes (POLZIN, 2011a), uma vez que a inadequação nutricional nos animais com DRC aumentam sua morbidade e mortalidade (WOOLEY; BTAICHE; GOOD, 2005).

Estas dietas normalmente são mais calóricas em relação à dietas de manutenção, promovendo assim uma ingestão energética mais adequada (BARTGES, 2012), além de possuírem fósforo restrito e proteínas de alta qualidade (LANGSTON, 2008). A dieta pode auxiliar no controle da magnitude da proteinúria tanto pela redução do teor proteico quanto pela modificação de ácidos graxos poli-insaturados. Ainda assim seu uso isoladamente não foi

suficiente para reduzir a magnitude da proteinúria a concentrações satisfatórias (BROWN et al., 2013).

2.1.3.9 Terapia de substituição renal

A hemodiálise é uma terapia de substituição renal extracorpórea utilizada em animais urêmicos e com sobrecarga de volume, que tem a capacidade de remover toxinas urêmicas, corrigir as desordens hidroeletrólíticas, restaurar e equilíbrio ácido básico. É utilizada nos quadros de IRA (PERONDI et al., 2018; SEGEV et al., 2016), em cães com DRC em estágio IV não responsivo ao tratamento convencional ou DRC em crise urêmica (COWGILL; LANGSTON, 1996; COWGILL; FRANCEY, 2012). As correções dos desequilíbrios hidroeletrólíticos associado às alterações renais são mais eficazes com as terapias extracorpóreas. Estes resultados não conseguem ser reproduzidos com a mesma eficiência na terapia médica convencional (COWGILL; FRANCEY, 2012), então a decisão de se iniciar a terapia dialítica geralmente se dá na falha da terapia médica convencional no controle das consequências clínicas da DRC (ELLIOTT, 2000).

É uma terapia que consiste na purificação do sangue por meio de um rim artificial e seu princípio básico é o contato do sangue com as membranas semipermeáveis do dialisador extracorpóreo, promovendo a remoção de compostos sanguíneos como ureia, creatinina, eletrólitos, fármacos, toxinas e excesso de fluidos (BLOOM; LABATO, 2011).

A hemodiálise intermitente é uma técnica que consiste em sessões de curta duração, que podem ser realizadas apenas uma vez, comum em casos agudos por toxinas ou repetidas diariamente ou em dias alternados, duas ou três vezes por semana durante toda vida, como em casos de DRC. Cada sessão pode levar de uma a seis horas ou até mais dependendo do estado do paciente (BLOOM; LABATO, 2011). As sessões iniciais normalmente são menos intensas do que as seguintes, visto que nestas sessões a remoção de solutos é mais lenta, o fluxo é mais lento, se utiliza de um dialisador com menor área de superfície e o tempo de sessão pode ser mais curto (COWGILL, 2011).

A maioria das toxinas urêmicas é desconhecida, não sendo mensuradas na rotina clínica, e por esta razão, a avaliação da ureia sérica é utilizada como forma de prescrição do tratamento dialítico bem como na monitoração das sessões de hemodiálise (COWGILL, 2011).

A transferência de solutos e água ocorre por meio da força de difusão e convecção através das membranas, sendo que a magnitude das trocas baseia-se nas características físico químicas do soluto e na estrutura de poros da membrana (COWGILL; GUILLAUMIN, 2013). A difusão ocorre pelo movimento das moléculas entre o sangue e o dialisato ocorrendo as trocas pelos canais dos poros da membrana, onde o soluto é redirecionado para o meio de menor valores (COWGILL; GUILLAUMIN, 2013). A convecção está associada ao processo de ultrafiltração, onde solutos difundidos na água são filtrados pela membrana por meio do gradiente de pressão hidrostático. Contudo, a ultrafiltração está mais ligada à remoção de fluidos, sendo a remoção total de solutos menor do que 5% (COWGILL; FRANCEY, 2012).

As máquinas de HDI formulam o dialisato misturando água ultrapura e soluções próprias de diálise. O dialisato é formulado afim de eliminar as toxinas urêmicas, prevenir depleção de solutos sanguíneos, repor solutos e minimizar as alterações fisiológicas durante as sessões (COWGILL; GUILLAUMIN, 2013)

O acesso vascular, em medicina veterinária, é realizado com o uso de um cateter venoso central. Este acesso é um requisito importante para o sucesso da terapia (POEPPEL; LANGSTON; CHALHOUB, 2011).

A prevenção de trombos no circuito extracorpóreo segue sendo um desafio, pois durante a hemodiálise o sangue é exposto a muitas substâncias que exibem vários graus de trombogenicidade, por isto, um nível apropriado de anticoagulação deve ser atingido a fim de evitar trombos, porém sem causar sangramento excessivo do paciente (ROSS, 2011).

O protocolo mais utilizado para a anticoagulação se dá através do uso da heparina sódica e a monitoração da anticoagulação a cada 30-60 minutos durante todo o tratamento, sendo que o objetivo da anticoagulação é manter os valores até duas vezes o tempo de coagulação inicial (FRANCEY;

SCHWEIGHAUSER, 2018). A monitoração da coagulação do paciente é realizada mediante a avaliação do tempo de coagulação ativada (TCA) (COWGILL; FRANCEY, 2012)

Para uma boa prescrição de diálise, o profissional deve entender o quadro clínico do paciente bem como seus exames, entender os princípios da diálise e possuir uma capacidade operacional do sistema de diálise (COWGILL, 2011). Complicações que são relacionadas à HDI incluem hipotensão e hipovolemia, problemas com o acesso vascular, alterações neurológicas, respiratórias, hematológicas e gastrointestinais (BLOOM; LABATO, 2011).

2.2 INFLAMAÇÃO E RESPOSTA DE FASE AGUDA

A resposta inflamatória é uma resposta imune do organismo, que ocorre devido a alterações como infecções, lesões teciduais ou condições nocivas, afim de, remover o insulto e reparar os tecidos lesionados (GERSHWIN, 2008). A resposta imune é dividida em resposta imune adquirida, onde há a necessidade do organismo ser exposto ao antígeno para o desenvolvimento da resposta protetora, e a resposta imune inata onde não requer exposição previa do organismo a um antígeno para que seja eficaz (GERSHWIN, 2008).

Durante o insulto ocorre liberação de mediadores inflamatórios, alterando a funcionalidade dos tecidos e órgãos. Estes mediadores podem ser derivados das proteínas plasmáticas ou mesmo secretados por células. São classificados em aminas vasoativas, peptídeos vasoativos, fragmentos de componentes do complemento, mediadores lipídicos, citocinas, quimiocinas e enzimas proteolíticas (GERSHWIN, 2008).

Citocinas inflamatórias como TNF- α , IL-1, IL-6 e outras são produzidas por uma série de células, e desempenham vários papéis na resposta inflamatória, como ativação do endotélio e leucócitos e indução da resposta de fase aguda (RFA) (MEDZHITOV, 2008).

A RFA é parte da defesa do sistema imune inato que sofre ativação frente a um estímulo inflamatório (CRAY; ZAIAS; ALTMAN, 2009). Durante esta resposta, ocorre a redução das concentrações de algumas proteínas plasmáticas e o aumento de outras. Proteínas plasmáticas cuja síntese é induzida por TNF- α , IL-1 e IL-6 são denominadas proteínas de fase aguda (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2008).

Estes mediadores inflamatórios ativam receptores em diferentes células-alvos originando uma resposta sistêmica, o que resulta em ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e redução da secreção de hormônios de crescimento, levando a alterações clínicas (ECKERSALL, 2008), como pirexia, leucocitose, alterações hormonais e a depleção de proteínas musculares, com a finalidade de reduzir danos teciduais e facilitar o processo de reparo tecidual (ECKERSALL, 2000).

2.2.1 PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

As proteínas são as substâncias mais abundantes do plasma sanguíneo e suas concentrações na corrente sanguínea constitui-se de várias moléculas proteicas distintas. São essenciais a vida e representam a base da estrutura das células, tecidos e órgãos. As proteínas totais podem ser divididas em duas frações, a albumina e as globulinas (ECKERSALL, 2008), e quando analisadas pela técnica da eletroforese se observa a fração de albumina e a fração de globulinas que se diferenciam em bandas de alfa-globulinas, beta-globulinas e gama-globulinas (GERSHWIN, 2008).

As proteínas de fase aguda são um grupo de proteínas sanguíneas que apresentam pelo menos 25% de alterações nas suas concentrações (ECKERSALL, 2008; GABAYC, C.; KUSHNER, 1999) na presença de infecção, inflamação, trauma cirúrgico ou estresse (MURATA; SHIMADA; YOSHIOKA, 2004).

As concentrações séricas das PFA estão relacionadas à gravidade e extensão da lesão (MURATA; SHIMADA; YOSHIOKA, 2004; ECKERSALL, 2008). Deste modo podem ser utilizadas no auxílio ao diagnóstico clínico,

prognóstico e monitoramento da resposta imunitária à terapia (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005; ECKERSALL, 2008; ECKERSALL; BELL, 2010). Em decorrência das PFA's alterarem suas concentrações frente a qualquer estímulo que eleve as concentrações de TNF- α , IL-1 e IL-6 (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2008) não são específicas das afecções (CERÓN; ECKERSALL; BELL, 2010).

O fígado é o principal local de síntese das PFA, no entanto tecidos extra-hepáticos como pulmão, adipócito, glândula mamária, intestino (ECKERSALL, 2008) e rins (JABS et al., 2003) também produzem as PFA em menor quantidade.

As PFA são classificadas em positivas (*majors*, *intermediate* e *minors*) e negativas. As PFA negativas diminuem suas concentrações em mais de 25% na presença de inflamação ou infecção; as PFA positivas *majors* possuem baixas concentrações no soro de animais saudáveis, mas aumentam suas concentrações de 100 a 1000 vezes frente a um estímulo, atingindo seu pico em 24 a 48 horas após o insulto e reduzindo rapidamente durante a recuperação (ECKERSALL, 2008). As PFA positivas *intermediate* aumentam duas a 10 vezes suas concentrações atingindo seu pico dois a três dias depois após estímulo e reduzindo suas concentrações mais lentamente do que as *majors* (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005). As PFA *minors* apresentam um aumento gradual de 50 a 100% em suas concentrações (ECKERSALL, 2008).

A produção e as resposta das PFA variam de acordo com as diferentes espécies (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005). Em cães as PFA *major* incluem a Proteína C Reativa (CRP) e Amiloide A Sérico (AAS), as *moderate* incluem a Haptoglobina (Hp) e a Alfa-1 glicoproteína ácida (AGP) (ECKERSALL; BELL, 2010) e como PFA negativa em cães a albumina e a tranferrina (ECKERSALL, 2008).

2.2.1.1 Albumina

A albumina é considerada a proteína mais abundante do sangue, constituindo entre 35 – 50% do plasma sanguíneo de cães hígidos (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005). Sua secreção é estimulada pela queda da pressão osmótica, mas frente à resposta a quadros infecciosos ou inflamatórios também tem sua produção reduzida, pois conforme as citocinas pro-inflamatórias estimulam o aumento da síntese das PFA's ocorre uma consequente redução gradativa de suas concentrações durante a RFA (ECKERSALL, 2008).

Além da relação com a RFA, a hipoalbuminemia também está associada a processos crônicos, podendo ser eliminada pelos rins devido sua sensibilidade osmótica (ECKERSALL, 2008).

2.2.1.2 Proteína C reativa

A CRP canina possui um peso molecular de 100 kD e cinco subunidades peptídicas de 20 kD cada (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005). Esta foi a primeira PFA descrita na literatura, descoberta inicialmente em pacientes humanos e seu nome está relacionado com sua capacidade de se ligar ao polissacarídeo C da bactéria pneumococo (VOLANAKIS, 2001; PEPYS; HIRSCHFIELD, 2003; CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005).

É sintetizada pelos hepatócitos e armazenada no retículo endoplasmático (YUE et al., 1996). No entanto, na presença de um estímulo inflamatório, suas concentrações podem aumentar acima de 1.000 vezes (YAMASHITA et al., 1994; RAILA; SCHWEIGERT; KOHN, 2011).

A CRP possui a capacidade de se ligar a fosfocolina, e dessa forma confere a capacidade da mesma de reconhecer alguns patógenos e os constituintes fosfolipídicos das células danificadas (GABAYC, C.; KUSHNER, 1999), desempenhando papel importante na proteção contra infecção, na eliminação do tecido lesado, na prevenção da autoimunização e na regulação da resposta inflamatória (MOLD et al., 2002).

Nos cães a CRP é considerada uma PFA *major*, elevando suas concentrações de forma significativa frente ao estímulo inflamatório (CHRISTENSEN; ERIKSEN; KJELGAARD-HANSEN, 2015).

As afecções e agentes que induzem o aumento das CRP no plasma sanguíneo incluem a babesiose (RAFAJ et al., 2013), a leptospirose (MASTRORILLI et al., 2007), *Bordetella bronchiseptica* (YAMAMOTO et al., 1994), *Ehrlichia canis* (SHIMADA et al., 2002), tripanossomíase, a infecção por *Escherichia coli*, sepse (CERÓN; ECKERSALL; MARTÍNEZ-SUBIELA, 2005), na infecção por *Leishmania* spp. (SILVESTRINI et al., 2014), na infecção por parvovírus (MCCLURE et al., 2013) como também, na presença de traumas cirúrgicos (CHRISTENSEN; ERIKSEN; KJELGAARD-HANSEN, 2015).

2.2.2 PROTEINAS DE FASE AGUDA E DOENÇA RENAL CRÔNICA

Raila e colaboradores (2011) determinaram a concentração de CRP do plasma sanguíneo de cães hígidos e de cães com doença renal crônica com sinais clínicos e laboratoriais de uremia e proteinúria. Neste estudo foram observadas concentrações mais elevadas de CRP nos cães com doença renal quando comparados com cães hígidos.

Pacientes humanos em diferentes estádios de doença renal, em especial aqueles que são submetidos à hemodiálise, apresentam processo inflamatório e oxidativo ativo. O estresse oxidativo e a microinflamação presente em pacientes submetidos à diálise, também estão associados à elevação das concentrações da CRP sendo que esta condição predispõe ao maior risco de morbidade e mortalidade (LIBETTA et al., 2011).

Foi observado na medicina que pacientes com cateter venoso de hemodiálise não infectado demonstram concentrações de CRP superiores a pacientes com fístula arteriovenosa, confirmando a hipótese de pacientes submetidos à hemodiálise apresentarem um estado inflamatório crônico (SABRY et al., 2014).

Em um estudo com pacientes urêmicos submetidos a hemodiálise, observou que estes apresentaram aumento significativos de CRP, IL-2 e TNF- α durante as sessões de hemodiálise (LI et al., 2018). Stenvikel (2001) também observou aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias e da CRP em pacientes humanos submetidos à dialise, com inflamação sistêmica crônica. Paralelamente, a interação do sangue do paciente com os materiais durante a hemodiálise resulta na ativação de leucócitos e na liberação da IL-6, IL-1 e do TNF- α (LIBETTA et al., 2011).

Foi demonstrado em um estudo que 25% de uma população de pacientes humanos com doença renal crônica submetidos à hemodiálise, apresentaram concentrações de CRP elevadas durante as sessões de hemodiálise. De acordo com os mesmos autores, o aumento foi associado com o maior risco de óbito (KOREVAAR et al., 2004).

Chauveau e colaboradores (2003) concluíram que altas concentrações de CRP foram associados com maior taxa de mortalidade da população amostral submetida à hemodiálise. Neste estudo, pacientes humanos com concentrações de CRP superiores a 5 mg/L permaneceram com concentrações elevadas durante o tratamento de diálise, e apresentaram uma taxa de mortalidade de 50%. Por outro lado, pacientes com concentrações da CRP inferiores a 5 mg/L no início do tratamento, apresentaram uma taxa de mortalidade entre 10,5% e 63% e mantiveram as concentrações reduzidas de CRP durante as sessões (CHAUVEAU et al., 2003).

1. Objetivo

1.1. Objetivo geral

Avaliar a resposta inflamatória de cães com DRC no estágio IV submetidos à hemodiálise intermitente e tratamento clínico atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – campus de Botucatu por meio da determinação das concentrações séricas de Proteína C reativa.

1.2. Objetivos específicos

Correlacionar as concentrações da proteína C reativa de cães com DRC no estágio IV submetidos à hemodiálise intermitente e tratamento clínico com os dados de albumina, hemácia, proteína total, plaquetas, leucócitos, ureia, creatinina, albumina, fósforo, potássio e relação proteína: creatinina urinária.

Correlacionar exames laboratoriais e a concentração da proteína C reativa de cães com DRC no estágio IV submetidos à hemodiálise intermitente e tratamento clínico na avaliação da inflamação sistêmica.

Correlacionar os resultados da dosagem de proteína C reativa obtidas por duas técnicas diferentes diferentes.

CAPÍTULO II

TRABALHO CIENTÍFICO

ARTIGO CIENTÍFICO

Normas da Revista: Veterinary Clinical Pathology

<https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/1939165x/homepage/forauthors.html>

**Monitoramento da resposta inflamatória em cães com doença renal crônica IV
submetidos à hemodiálise intermitente**

Maria Gabriela P. de Azevedo¹; Silvano S. Geraldes¹; Paula B. Sant'Anna¹; Beatriz P. Batista¹; Elizabeth M. S. Schmidt¹; Fabiana F. de Souza²; Alessandra Melchert¹; João Carlos P. Ferreira²; Carmel R. Dadalto²; Henry David M. García²; Priscylla Tatiana C. G. Okamoto¹

¹ Department of Veterinary Clinics, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University - UNESP, São Paulo, Brazil

² Department of Animal Reproduction and Veterinary Radiology, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University - UNESP, São Paulo, Brazil

Corresponding author: Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães-Okamoto, PhD - Department of Veterinary Clinics, School of Veterinary Medicine and Animal Science, Rubião Júnior District, 18618-681, Botucatu, São Paulo, Brazil. E-mail: tatiana.okamoto@unesp.br (P.T.C. Guimarães-Okamoto)

Resumo

Histórico: A doença renal crônica é uma enfermidade comum a cães idosos. Em pacientes com doença renal crônica, onde a terapia médica convencional não é eficaz, a hemodiálise intermitente é indicada. Tanto a técnica de hemodiálise intermitente quanto a doença renal crônica, podem desencadear uma reação inflamatória.

Objetivos: Avaliar o uso da proteína C reativa como um biomarcador de lesão inflamatória na monitoração da resposta inflamatória de cães com DRC no estágio IV submetidos a hemodiálise intermitente. Comparar dois métodos de dosagem da proteína C reativa em cães com doença renal crônica IV.

Metodologia: Foram selecionados 23 cães divididos em três grupos experimentais, 16 cães com doença renal crônica estágio IV, divididos em: grupo tratamento clínico e grupo hemodiálise intermitente e sete cães saudáveis para o grupo controle. As amostras de sangue foram coletadas, antes do início da primeira e da última sessão de ambos os

grupos de tratamento. No grupo controle foi coletado apenas o momento inicial. Foi realizada a contagem de hemácias, proteína total plasmática, plaquetas e leucócitos totais e determinação das concentrações séricas de sérica de ureia, creatinina, albumina, potássio, fósforo, proteína C reativa e urina para determinação da razão proteína:creatinina urinária nos animais dos três grupos do estudo. A concentração de proteína C reativa foi determinada por meio do método ELISA (Life Diagnostics®) e ELISA Sanduiche (Catalyst Dx, IDEXX®).

Resultados: Foi observada elevada concentração de proteína C reativa no GHDI comparado ao GC ($p = <0,001$) no M0 e MTerminal, e quando comparado o GHDI com o GTC ($p = 0,0406$) no M0. Não foi observada a diferença entre o M0 e MTerminal em nenhum dos grupos em relação a CRP. Neste estudo a CRP apresentou correlação positiva moderada com os leucócitos totais ($r=0,5479$, $p=0,0152$), correlação negativa moderada com albumina ($r=-0,5974$, $p=0,0069$) e hemácia ($r=-0,5878$, $p=0,0131$). Observou-se uma redução nas concentrações séricas de ureia, creatinina e fósforo após as sessões de hemodiálise intermitente com diferença significativa em relação ao grupo controle e grupo tratamento clínico, no momento terminal, e quando comparado os dois momentos observou-se redução nas concentrações de ureia ($p=0,0116$) e creatinina, ($p= 0,0250$), aumento dos valores de leucócitos totais ($p= 0,0391$) no GHDI e aumento dos valores de creatinina ($p= 0,0372$), fósforo ($p= 0,0135$) no GTC. A correlação entre as técnicas aplicadas foi positiva forte ($r=-0,7039$, $p=<0,001$). Não foi observada diferença na taxa de sobrevivência entre os animais com doença renal crônica IV.

Conclusões: O presente estudo demonstrou que pacientes com doença renal crônica estágio IV submetidos à hemodiálise intermitente apresentam um quadro inflamatório ativo, demonstrando que a CRP pode ser utilizada na avaliação da resposta inflamatória nestes pacientes. Ambas as técnicas demonstram ser eficazes na mensuração da CRP em cães com doença renal crônica IV. Apesar do quadro inflamatório causado tanto pela técnica quanto pela doença renal crônica, a hemodiálise intermitente mostrou-se benéfica na redução das concentrações séricas de ureia, creatinina e fósforo levando a uma melhora da qualidade de vida dos pacientes.

Palavras-chave: Diálise, proteína C reativa, rins.

Introdução

A doença renal crônica (DRC) pode acometer cães de diversas idades, contudo é mais frequentemente observada em cães idosos, sendo diagnosticada pela análise de biomarcadores da doença renal que apontam uma taxa de filtração glomerular reduzida¹. Conforme estabelecido pela *International Renal Interest Society* (IRIS), a DRC é classificada em quatro estádios, com base na concentração de creatinina sérica e dimetilarginina simétrica (SDMA) e subclassificada com base nos valores da razão proteína:creatinina urinária (RPC) e da pressão arterial sistólica². O estágio IV da doença renal crônica é marcado por uma intensa azotemia, em que os concentrações de creatinina sérica apresentam-se superiores a 5 mg/dL e SDMA ≥ 54 $\mu\text{g/dL}$. Nesse estágio, terapias de substituição renal são indicadas, caso o animal não responda ao tratamento clínico².

A hemodiálise intermitente é uma técnica de terapia extracorpórea de substituição renal, e é utilizada em medicina como parte da terapia de pacientes com DRC, na medicina veterinária é indicada para pacientes com DRC em crise urêmica, cães com DRC em estágio IV^{3,4} e em quadros de lesão renal aguda⁵.

Pacientes com DRC apresentam quadro de inflamação crônica devido as alterações sistêmicas relacionadas a doença⁶, sendo a inflamação reconhecida como um fator que favorece as manifestações clínicas da síndrome urêmica⁷. Assim, a atividade inflamatória pode estar correlacionado com as altas taxas de morbidade e mortalidade dos pacientes⁶. Stenvinkel (2001) refere que o quadro clínico do paciente é intensificado pela magnitude e a intensidade da prevalência da inflamação sistêmica.

A resposta de fase aguda (RFA) compreende parte da defesa imunológica de um organismo frente a um estímulo inflamatório⁸ como infecção, inflamação, trauma cirúrgico ou estresse⁹. Durante a RFA ocorre a liberação de citocinas pró inflamatórias como Interleucina – 1 (IL-1), Interleucina – 6 (IL-6) e Fator de necrose tumoral – alfa (TNF- α)¹⁰. Tais citocinas estimulam a produção e liberação das proteínas de fase aguda (PFA) pelo fígado¹⁰ e outros órgãos extra-hepáticos (ex. pulmões, tecido adiposo e glândula mamária)¹¹.

As PFA estão envolvidas na restauração da homeostase e contenção do crescimento microbiano, previamente ao desenvolvimento da resposta imune adquirida¹². Em cães a CRP é classificada como uma PFA major¹³ e a albumina uma PFA negativa¹⁴. Em um estudo em seres humanos submetidos a tratamentos dialíticos os autores demonstraram que 25% de uma população apresentaram concentrações elevadas de CRP durante as sessões de hemodiálise¹⁵. Em cães, o aumento nas concentrações séricas de CRP já foi demonstrado em diversas afecções¹⁶, infecções pelo parvovirus¹⁷ e DRC crônica¹⁸.

Os objetivos desse trabalho são avaliar o uso da proteína C reativa como um biomarcador de lesão inflamatória na monitoração da resposta inflamatória de cães com DRC no estágio IV submetidos a hemodiálise intermitente e comparar dois métodos de dosagem da proteína C reativa em cães com doença renal crônica IV.

Material e métodos

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA - FMVZ - UNESP, Botucatu – SP, protocolo nº 0215/2017.

Os animais selecionados para esse estudo foram atendidos na rotina do Serviço de Nefrologia e Urologia Veterinária da Clínica Médica de Pequenos Animais, do HV/FMVZ/Unesp, Botucatu.

Foram selecionados 16 cães sem distinção de sexo, idade ou raça com peso variando de 10 até 35kg estadiados no grau IV com base nos valores persistentes de creatinina sérica superiores a 5mg/dL e nas alterações ultrassonográficas compatíveis com doença renal crônica² para o Grupo Hemodiálise intermitente (GHDI) e para o Grupo Tratamento clínico (GHDI). O GHDI foi composto por oito cães com DRC IV submetidos ao tratamento clínico e hemodiálise intermitente e o GTC composto por oito cães com DRC IV submetidos ao tratamento clínico. Foram excluídos na seleção, cães que apresentavam lesão renal aguda no curso da DRC, pacientes em choque ou instáveis, com distúrbios de coagulação, com sinais de infecção bacteriana no leucograma, pacientes com pancreatite, com insuficiência cardíaca, nefrolitíase e neoplasia renal.

O Grupo controle (GC) foi composto por sete cães clinicamente saudáveis, randomizados, sem distinção de sexo ou raça com peso variando de 10 até 35 kg. Foram excluídos do estudo animais que apresentaram alterações em hemograma, bioquímica sérica e urinálise compatíveis com alterações de sistema urinário, animais que apresentaram alterações em órgãos abdominais durante a avaliação ultrassonográfica ou alterações cardiorrespiratórias, cutâneas, gastrointestinais, oculares e locomotoras. Também foram excluídos animais em período de convalescência de quaisquer doenças ou que foram submetidos a qualquer tipo de procedimento cirúrgico nos seis meses anteriores ao estudo.

O tratamento clínico foi baseado na reposição volêmica com fluidoterapia intravenosa com solução de ringer lactato. O controle da êmese foi realizado com anti-eméticos como ondansetrona (0,5-1 mg/Kg, IV, a cada 8-14 h) (Ondansetrona, Hypofarma-Instituto de Hypodermia e Farmácia Ltda, Ribeirão das Neves/MG - Brasil) ou citrato de maropitant (1mg/Kg, SC, a cada 24 horas) (Cerenia®, Zoetis Vila Boa Vista, Campinas/SP - Brasil). A redução da acidez gástrica foi realizada com omeprazol (0,7 mg/Kg, IV, a cada 24 horas) (Omeprazol, Hipolabor Farmacêutica Ltda., Sabará/MG -

Brasil). A eritropoietina recombinante humana (100 U/Kg, SC, 3 vezes por semana) (Hemax Eritron, Bio Sidus S.A, Buenos Aires – Argentina) foi iniciada quando o hematócrito (Ht) apresentou-se inferior a 15% e foi acompanhada da suplementação de ferro via oral. Após atingir o Ht desejado (entre 30-40%), a eritropoietina foi reduzida para duas vezes por semana^{19,20}.

A suplementação de potássio e bicarbonato foram realizadas de acordo com os exames controle, se necessário foi adicionado até 30mEq/L de cloreto de potássio (Cloreto de potássio 19,1%, EQUIPLEX Indústria Farmacêutica LTDA, Aparecida de Goiânia/GO – Brasil) a fluidoterapia. A reposição de bicarbonato de sódio foi via oral na dose de 8 a 12 mg/Kg, a cada 8 ou 12 horas. O controle da hipertensão foi realizado com anti-hipertensivos como o amlodipina (0,1 a 0,25 mg/kg 12-24horas/VO) (Besilato de anlodipino, Cipla Ltd. Verna/Goa - Índia) e/ou benazepril (0,25-0,5 mg/Kg a cada 12-24 horas/VO) (Cloridrato de benazepril, EMS S/A, Hortolândia/SP - Brasil). A terapia com hidróxido de alumínio (30 a 100 mg/Kg por dia) foi prescrita para o manejo da hiperfosfatemia paralelo à dieta terapêutica para pacientes nefropatas.

As sessões de hemodiálise foram realizadas no Centro de Diálise na FMVZ-Unesp-Botucatu-SP. Foi utilizada uma máquina de hemodiálise modelo 4008F (4008F, Fresenius Medical Care, Bad Homburg Höhe - Alemanha) com controle de ultrafiltração, acoplada a uma unidade de tratamento de água com osmose reversa (MCA.OR.PF.01, Palhoça/SC - Brasil). As HDI foi realizada duas vezes por semana, sendo a primeira sessão de duração de uma hora, e a partir da segunda com duração de duas horas, totalizando três sessões ou mais.

Os animais foram cateterizados com cateter de duplo lúmen (Joline GmbH & Co., Hechingen - Germany) na jugular externa direita ou esquerda, ficando o mesmo posicionado na cava cranial ou entrada do átrio direito, conforme técnica descrita por Bloom e Lobato³. Para a verificação do correto posicionamento do cateter, foi realizado avaliação radiográfica. Durante todo o processo dialítico extracorpóreo, os cães foram mantidos sobre uma mesa de inox, em decúbito lateral direito ou esquerdo, sem a necessidade de qualquer sedação, apenas com contenção manual.

O tempo de coagulação ativado (TCA) de cada animal foi determinado pelo monitor de coagulação ativada MCA 2000 (MCA 2000, Fundação Adib Jatene, SP - Brasil) colocando-se 2mL de sangue venoso em tubos contendo ativador de coagulação fornecidos junto ao monitor de coagulação. A anticoagulação foi realizada com heparina sódica (Hemofol®, Cristália Prod. Quím. Farm. Ltda, – Itapira/SP – Brasil) na dose inicial

de 50U/Kg e foi interrompida quando o tempo de coagulação sanguínea apresentasse concentrações superiores a 1,6 a 2 vezes maior ao tempo normal e sua administração foi suspensa 30 minutos antes do final do tratamento³.

Foram utilizados hemodialisadores capilares com membranas de polissulfona (Fresenius Medical Care, Bad Homburg Höhe, Alemanha), de acordo com o peso do animal sendo até 12 Kg (dialisadores 0,8m²), 12-20Kg (dialisadores 1,5m²) e acima de 30Kg (dialisadores maiores que 2,0m²)²¹. A solução dialisante foi composta por solução tampão de bicarbonato de sódio a 8,4% (Bibag, Fresenius Medical Care Ltda, Jaguariúna/SP) e solução de eletrólitos com glicose (CPHD 22G/34 com glicose, Fresenius Medical Care Ltda, Jaguariúna/SP), na intenção de evitar quadros de hipoglicemia. A composição final da solução de diálise foi 138 mEq/L sódio, 3 mEq/L potássio, 35 mEq/L bicarbonato, 108,5 mEq/L cloreto, 3,5 mEq/L cálcio e 100mg/dL de glicose, após diluição com água ultrapura obtida pelo equipamento de osmose reversa portátil. O sódio foi ajustado para 155 mmol/L na primeira sessão e 150 mmol/L a partir da segunda sessão, com o intuito de minimizar a síndrome do desequilíbrio e hipotensão²². O fluxo sanguíneo extracorpóreo foi de 5mL/kg/min na primeira sessão, aumentado para 10mL/kg/min na segunda sessão e 15mL/kg/min nas demais sessões. O aumento gradual teve como objetivo evitar a síndrome do desequilíbrio. O fluxo da solução de diálise foi de 500mL/min para todos os animais²².

Foram coletados e analisados dois momentos; 30 minutos antes do início da primeira sessão de tratamento de hemodiálise intermitente ou tratamento clínico (M0) e 30 minutos antes da última sessão de hemodiálise intermitente ou tratamento clínico a qual os animais foram submetidos (MTerminal). Foi obtido um volume de 7 mL de sangue por meio de venopunção de jugular, 3 mL foram armazenados imediatamente em tubos estéreis com anticoagulante EDTA 10% (BD Vacutainer®, New Jersey, EUA) para o hemograma, 4 mL em tubos sem anticoagulante (BD Vacutainer®, New Jersey, EUA) para obtenção de soro após centrifugação (5 mil rpm) determinação das concentrações séricas de ureia, creatinina, albumina, potássio e fósforo. As amostras para a determinação da proteína C reativa foram armazenadas em Freezer a -80°C por 12 meses e descongelados no momento da análise. A coleta de urina foi realizada de forma asséptica nos momentos M0 e Mterminal, por meio de cistocentese e acondicionada em frasco de plástico estéril e encaminhada para análise no Laboratório Clínico Veterinário da FMVZ-Unesp campus Botucatu.

O hemograma e a bioquímica sérica foram realizadas no Laboratório Clínico Veterinário da FMVZ-Unesp campus Botucatu. A contagem total de plaquetas e de leucócitos totais foram realizadas por meio de analisador hematológico (Poch-100iV Diff, Sysmex America, Inc., Lincolnshire, Illinois), a determinação das proteínas totais foi realizada manualmente por meio de refratômetro (Refratômetro manual, Megabrix®) e as hemácias por meio do hemocitômetro (ALB 300CC, Inbras®, Jardinópolis, São Paulo).

Todas as determinações bioquímicas do soro foram realizadas em equipamento automatizado (Cobas Mira Plus, Roche Diagnostic Systems, Rotkreuz, Switzerland) de acordo com as especificações dos fabricantes dos reagentes e *kits* comerciais (Bioclin®, Belo Horizonte/MG – Brasil e Cobas Mira Plus, Roche Diagnostic Systems, Rotkreuz, Switzerland). A razão proteína: creatinina urinária foi realizada pelo método colorimétrico (Bioclin®, Belo Horizonte/MG – Brasil e Cobas Mira Plus, Roche Diagnostic Systems, Rotkreuz, Switzerland).

A determinação das concentrações da proteína C reativa pelo método ELISA (CRPe) foram realizadas no Laboratório de Proteômica da FMVZ-Unesp campus Botucatu e no Laboratório de Pesquisa em Proteínas de Fase Aguda e Monitoramento Não Invasivo da Reprodução e do Bem-Estar Animal da FMVZ-Unesp, campus Botucatu. Foi utilizado o Kit de Dog C-reactive protein (CRP) Elisa (Dog CRP ELISA (CRP-4), Life Diagnostics Inc, West Chester, EUA) pelo leitor de ELISA BioTek® PowerWave XS2 (BioTek Instruments, Inc, Vermont, EUA), conforme as recomendações do fabricante.

A determinação das concentrações de proteína C reativa pelo método ELISA sanduiche (CRPc) foram realizadas no Centro de Diálise na FMVZ-Unesp-Botucatu-SP. Foi utilizado o Kit CATALYST CRP TEST (IDEXX Catalyst®) pelo analisador bioquímico Catalyst Dx® conforme as recomendações do fabricante^{23,24}.

Foi avaliado o escore clínico dos pacientes sobre a hidratação, fezes, vômito, estado nutricional, estado mental e ingestão alimentar no M0 e MTerminal dos dois grupos de tratamento.

A variável de idade para cada tratamento foi determinada utilizando o Proc Freq. As curvas de sobrevivência dentro de cada tratamento foram realizadas empregando o Teste de Kaplan- Meier. Os pressupostos de distribuição normal e homocedasticidade foram avaliados empregando-se o teste de Shapiro Wilk e Bartlett, respectivamente. Os três grupos do estudo foram comparados pela análise de variância para amostras independentes (ANOVA One Way). Para a comparação dos momentos inicial e terminal

entre os diferentes grupos e para a comparação entre o número de sessões entre os dois grupos de tratamento foi utilizado o teste T pareado quando as variáveis apresentaram distribuição normal e para as variáveis que não apresentaram distribuição normal foi utilizando o teste de Wilcoxon e Mann Whitney quando comparados os momentos M0 e MT do mesmo tratamento e entre tratamentos, respectivamente. Recorreu-se a análise de correlação linear de Pearson para avaliar a correlação da CPRc com albumina e hemácia no M0 e correlação linear de Spearman para avaliar a correlação da CPRc com os leucócitos totais no M0. Para a comparação dos dois métodos de mensuração foi realizada a Correlação de Spearman entre CRPe e CRPc. Os resultados são apresentados como coeficiente de correlação. Coeficiente de correlação forte, moderado e fraco foram considerados quando $r > 0.6$; $0.6 \leq r \leq 0.4$ e $r < 0.4$, respectivamente e pressupostos de distribuição normal de CRPe e CRPc foram avaliados com o teste de Shapiro -Wilk; transformação em log foi utilizada quando necessário. Para todas as análises considerou-se o nível de significância de 5%.

Resultados

Foram incluídos 23 animais no estudo (16 animais DRC IV e sete animais saudáveis). Dentre os animais avaliados, o GHDI foi constituído por quatro fêmeas (50%) e quatro machos (50%), pesando em média $23,57 \pm 10,85$ kg, compostos por quatro cães sem raça definida (50%), um Basset Hound (12,5%), um Dalmata (12,5%), um Rottweiler (12,5%) e um Border Collie (12,5%). O GTC era composto por sete cães machos e uma fêmea, pesando em média $21,5 \pm 9,05$ kg, composto por quatro cães sem raça definida (50%), um American Pit Bull Terrier (12,5%), um Chow-Chow (12,5%), um Rottweiler (12,5%) e um Labrador Retriever (12,5%). O GC foi composto por seis fêmeas (85,7%) e um macho (13%) pesando em média $16,52 \pm 5,71$ kg, e composto por cinco cães sem raça definida (71,4%), um Border Collie (14,3%) e um Flat Coated Retriever (14,3%). O GTC apresentou idade média de 10,3 anos, o GHDI apresentou idade média de 10,1. O GC apresentaram média de 4,1 anos ($p < 0,0001$).

Não houve diferença significativa em relação ao número total de sessões realizadas no GHDI e no GTC. Cem por cento dos cães com doença renal crônica IV vieram a óbito até o fim do estudo. Foi observado que o GHDI apresentou 5 dias a mais de sobrevivência em relação ao GTC, entretanto não foi observada diferença significativa ($p = 0,5802$) entre os grupos (Figura 1).

As concentrações de CRP obtidos pelo Catalyst® diferiram significativamente comparando o GC e GHDI tanto no M0 quanto no MTerminal, apresentando p extremamente significativo (Tabela 1). As concentrações de CRP obtidos pela técnica de ELISA diferiram significativamente comparando o GTC e GHDI no M0, apresentando p significativo (Tabela 2).

Apesar do aumento das concentrações de CRP nos períodos avaliados, quando realizada a comparação das concentrações de CRP do M0 com o MTerminal nas duas técnicas analisadas não foram observadas diferenças nas concentrações (Tabela 1 e 2).

A concentração sérica de CRPe apresentou correlação positiva fraca com a ureia, creatinina e fosforo, leucócito totais; negativa fraca com albumina, potássio, hemácia, plaqueta, RPC e proteína plasmática, total sem apresentar diferença significativa.

Quando correlacionada a concentração sérica CRPc com as demais variáveis, esta apresentou correlação positiva fraca com ureia, creatinina, fósforo, potássio e RPC no entanto não apresentando diferença estatística. A concentração sérica de CRP apresentou correlação positiva moderada com os leucócitos totais (Figura 2). Correlação negativa moderada com albumina (Figura 3) e hemácia (Figura 4).

As duas técnicas empregadas demonstram um coeficiente de correlação forte significativo entre os resultados ($IC = 0,5938 - 0,7882$; $r = 0,7039$; $p < 0,0001$) (Figura 6).

As concentrações de média e desvio padrão das variáveis bioquímicas (ureia, creatinina, fosforo, e potássio) estão sumarizados na Tabela 1, e a mediana, intervalo interquartil, mínimo e máximo das concentrações de leucócitos totais estão sumarizados na tabela 2. A comparação das concentrações de média e desvio padrão das variáveis bioquímicas (CRPc, ureia, creatinina, fosforo, e potássio) entre os momentos M0 e MTerminal estão sumarizadas na Tabela 1, e a comparação entre a mediana, intervalo interquartil, mínimo e máximo das concentrações de leucócitos totais e CRPe entre o M0 e MTerminal estão sumarizados na tabela 2.

O presente estudo apresentou limitações na determinação das concentrações de CRP pelo método ELISA. Devido à sensibilidade do kit ELISA empregado (Life Diagnostics®), um resultado obtido extrapolou o limite superior de detecção ($> 523,45$ mg/L) e dez resultados ficaram abaixo do valor mínimo de detecção ($< 7,8$ mg/L). No M0 do GHDI uma amostra ficou abaixo do valor mínimo e uma acima do valor máximo de

detecção. No MTerminal deste mesmo grupo, três amostras ficaram abaixo do valor mínimo de detecção. No M0 do GTC seis amostras ficaram abaixo do valor mínimo de detecção.

Discussão

A CRP é produzida pelos hepatócitos em resposta às citocinas pró inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF- α ¹⁰, no entanto outros sítios de produção podem ser descritos, tal como os rins, onde a expressão e secreção de CRP por células epiteliais tubulares corticais renais em seres humanos foi demonstrada²⁵. Essa PFA possui a capacidade de se ligar a fosfocolina conferindo assim a capacidade de reconhecer alguns patógenos e constituintes fosfolipídeos das células danificadas²⁶, além do mais, desempenha papel importante contra infecção, na eliminação dos tecidos lesionados, na prevenção da autoimunização e na regulação da resposta inflamatória²⁷.

Na medicina a CRP é utilizada frequentemente em pacientes doentes renais crônicos com intuito de monitoramento da resposta inflamatória^{15,28-30}. Na medicina veterinária foi relatado que a CRP pode apresentar aumento das concentrações séricas frente a diversas condições e afecções²⁶⁻²⁹, como demonstrado em concentrações elevadas de CRP em cães com doença renal crônica de ocorrência natural, onde os autores associaram a ativação da resposta de fase aguda a patogenia da doença¹⁸.

A CRP em cães é tida como uma PFA major, sendo que em cães com inflamação sistêmica pode elevar suas concentrações de 100 a 1.000 vezes¹⁴, Christensen e colaboradores³³(2014) observaram que cães com inflamação sistêmica apresentam concentrações séricas de CRP entre 0,44 a 907,4 mg/L. Neste estudo observou-se uma elevação de 14,5 vezes a concentração de CRP no GHDI em relação ao GC no M0 e 17,4 vezes no MTerminal, e elevação de 8,4 vezes as concentrações de CRP no GHDI em relação ao GTC no M0. Apesar das concentrações de CRP não se elevarem como o esperado para uma PFA major, as concentrações elevadas no GHDI em relação ao GC e GTC, demonstram que a hemodiálise intermitente ocasiona a ativação da resposta inflamatória, pois durante a interação do sangue com as membranas na diálise pode ocorrer a indução do quadro de microinflamação³⁴. Assim, essa elevação da CRP pode ser resultado da ativação da resposta de fase aguda durante o processo dialítico²⁹.

Uma hipótese da CRP não ter se comportado como uma PFA *major* nesses cães está relacionada ao momento de coleta das amostras. Foram coletadas amostras antes do tratamento clínico e dialítico, com isso o pico da concentração de CRP pode não ter sido detectado. No entanto, semelhante ao observado por Raila e colaboradores (2011), a CRP se encontrou elevada nos cães com DRC supondo que o processo crônico leve a estimulação crônica da RFA nesses animais, demonstrando um quadro de inflamação crônica nestes cães em resposta as alterações sistêmicas relacionadas com a doença⁶

Li e colaboradores³⁰ (2018) relataram redução nas concentrações séricas de CRP meses após o estudo e associaram esta redução à purificação sanguínea pela diálise com consequente redução da inflamação crônica. Neste estudo não se observou diferença entre os valores de CRP entre o M0 e o MTerminal, isso pode ser devido ao pouco tempo de sobrevivência desses pacientes, o que não permitiu esta mesma avaliação meses após o tratamento.

A contagem total de leucócitos do GHDI permaneceu dentro dos valores de referência para espécie, porém, notou-se um aumento significativo entre os momentos avaliados nesse estudo e aumento das concentrações de leucócitos totais do GHDI em relação ao grupo de animais hígidos. A estimulação da resposta de fase aguda justifica esse aumento diante da inflamação sistêmica desencadeada pela produção de mediadores inflamatórios, que por sua vez alteram a ação de vários tecidos ocasionando recrutamento dos leucócitos, ativação do endotélio e indução da resposta de fase aguda (RFA)³⁵, o que justifica a correlação positiva entre a CRP com a contagem total de leucócitos, corroborando também com os achados de outros estudos^{16,18}.

Nakamura e colaboradores (2008) avaliaram a concentração sérica de CRP em cães com outras doenças e não observaram correlação da CRP com a albumina diferentemente do que foi observado neste trabalho. A correlação negativa pode estar associada ao fato da albumina ser uma proteína de fase aguda que sofre redução em suas concentrações séricas durante a resposta inflamatória¹¹, pois a redução de sua síntese permite que os aminoácidos sejam utilizados na síntese das PFA positivas³⁶

A inflamação é um fator importante associado a anemia em pacientes com doenças crônicas onde as citocinas inflamatórias suprimem a eritropoiese, ocasionam o sequestro de ferro e promovem alterações de membrana celular dos eritrócitos³⁷. Outra característica da anemia e da inflamação são as elevadas concentrações de marcadores

inflamatórios como por exemplo a CRP³⁷. Yılmaz e colaboradores (2015)³⁸ associaram o aumento da CRP ao quadro anêmico, o que corrobora com os achados deste estudo. Além disto, Yılmaz e colaboradores (2015) também associaram índices elevados de CRP à resistência ao tratamento da anemia em pacientes com doença renal crônica, o que pode justificar o quadro anêmico encontrado nos pacientes com DRC.

Um ensaio que utilize um anticorpo anti-CRP heterólogo deve ser validado previamente para poder ser utilizado na dosagem da CRP canina³⁹. O Kit CATALYST CRP TEST (IDEXX Catalyst®) é um ensaio designado para detecção de CRP canina que utiliza um mouse anti-CRP IgG e mesmo que este ensaio utilize uma proteína heteróloga e haja a possibilidade de suas concentrações serem subestimadas⁴⁰, este ensaio foi previamente validado, e forneceu quantificação precisa da CRP canina no soro dos cães²³. Sendo assim, a correlação positiva forte observada com Kit de Dog C-reactive protein (CRP) Elisa (Dog CRP ELISA (CRP-4) (Life Diagnostics Inc), pode garantir a segurança na hora da interpretação dos resultados obtidos por esse ensaio.

Os rins são a primeira rota de excreção do fósforo, portanto um declínio na função renal causado pela doença renal crônica levará a um aumento em suas concentrações circulantes⁴¹, justificando os valores elevados no GHDI e GTC em relação ao GC.

A azotemia é uma alteração decorrente a perda da função renal comum nos pacientes com DRC IV²², o que justifica as concentrações elevadas de ureia e creatinina nos animais do GHDI e GTC quando comparados ao GC nos dois momentos avaliados.

No MTerminal foi observado uma menor concentração de ureia, creatinina e fósforo no GHDI em relação ao GTC. Esta diferença ocorreu devido à baixa eficácia do tratamento convencional em comparação a terapia dialítica na redução desses catabólitos sanguíneos²¹.

No início das sessões de hemodiálise os animais apresentaram um escore clínico desfavorável no GHDI, entretanto, após a realização da terapia dialítica no MTerminal os animais apresentaram uma melhora clínica quando comparado ao MTerminal do GTC, comprovando a eficácia da técnica, apesar da inflamação observada (Figura 6 e 7).

Agradecimentos

Os autores agradecem coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (**CNPq**) pela concessão das bolsas de estudo.

Conclusão

O presente estudo demonstrou que pacientes com doença renal crônica estágio IV submetidos à hemodiálise intermitente apresentam um quadro inflamatório ativo, demonstrando que a CRP pode ser utilizada na avaliação da resposta inflamatória nestes pacientes.

Ambas as técnicas demonstram ser eficazes na mensuração da CRP em cães com doença renal crônica IV.

Apesar do quadro inflamatório causado tanto pela técnica quanto pela doença renal crônica, a hemodiálise intermitente mostrou-se benéfica na redução das concentrações séricas de ureia, creatinina e fósforo levando a uma melhora clínica da qualidade de vida dos pacientes.

Referências

1. Bartges JW. Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2012;42(4):669-692. doi:10.1016/j.cvsm.2012.04.008
2. International Renal Interest Society. IRIS Staging of CKD (modified 2019). 2019:1-5.
3. Bloom CA, Labato MA. Intermittent Hemodialysis for Small Animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2011;41(1):115-133. doi:10.1016/j.cvsm.2010.11.001
4. Cowgill LD, Francey T. Hemodialysis and Extracorporeal Blood Purification. In: *Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice.* 4th ed. Elsevier Inc.; 2012:680-713. doi:10.1016/B978-1-4377-0654-3.00036-6
5. Segev G, Langston C, Takada K, Kass PH, Cowgill LD. Validation of a Clinical Scoring System for Outcome Prediction in Dogs with Acute Kidney Injury Managed by Hemodialysis. *J Vet Intern Med.* 2016;30(3):803-807. doi:10.1111/jvim.13930
6. Stenvinkel P. The role of inflammation in the anaemia of end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16(SUPPL. 7):36-40. doi:10.1093/ndt/16.suppl_7.36
7. Jankowska M, Cobo G, Lindholm B, Stenvinkel P. Inflammation and Protein-Energy Wasting in the Uremic Milieu. *Contrib Nephrol.* 2017;191:58-71. doi:10.1159/000479256
8. Cray C, Zaias J, Altman NH. Acute Phase Response in Animals- A Review. *Comp Med.* 2009;59(6):517-526.
9. Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. *Vet J.* 2004;168(1):28-40. doi:10.1016/S1090-0233(03)00119-9
10. Crispe IN. Hepatocytes as Immunological Agents. *J Immunol.* 2016;196:17-21. doi:10.4049/jimmunol.1501668
11. Cerón JJ, Eckersall PD, Martínez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: Current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol.* 2005;34(2):85-99. doi:10.1111/j.1939-165X.2005.tb00019.x
12. Da browski R, Kostro K, Szczubiał M. Concentrations of C-reactive protein, serum amyloid A, and haptoglobin in uterine arterial and peripheral blood in bitches with pyometra. *Theriogenology.* 2013;80(5):494-497. doi:10.1016/j.theriogenology.2013.05.012
13. Eckersall PD, Bell R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Vet J.* 2010;185(1):23-27. doi:10.1016/j.tvjl.2010.04.009
14. Eckersall PD. *Proteins , Proteomics , and the Dysproteinemias.* 6th ed. (Elsevier Inc., ed.); 2008.

15. Korevaar JC, Van Manen JG, Dekker FW, De Waart DR, Boeschoten EW, Krediet RT. Effect of an increase in C-reactive protein level during a hemodialysis session on mortality. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(11):2916-2922. doi:10.1097/01.ASN.0000143744.72664.66
16. Nakamura M, Takahashi M, Ohno K, et al. C-Reactive Protein Concentration in Dogs with Various Diseases. *J Vet Med Sci.* 2008;70(2):127-131. doi:10.1292/jvms.70.127
17. McClure V, van Schoor M, Thompson PN, Kjelgaard-Hansen M, Goddard A. Evaluation of the use of serum C-reactive protein concentration to predict outcome in puppies infected with canine parvovirus. *J Am Vet Med Assoc.* 2013;243(3):361-366. doi:10.2460/javma.243.3.361
18. Raila J, Schweigert FJ, Kohn B. C-reactive protein concentrations in serum of dogs with naturally occurring renal disease. *J Vet Diagnostic Investig.* 2011;23(4):710-715. doi:10.1177/1040638711407896
19. Chew DJ, DiBartola SP, Schenck PA. Chronic renal failure. In: *Canine and Feline Nephrology and Urology*. 2 edition. St. Louis: Elsevier/Saunders; 2011:526.
20. Polzin DJ. Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. *J Vet Emerg Crit Care.* 2013;23(2):205-215. doi:10.1111/vec.12034
21. Cowgill LD. Urea Kinetics and Intermittent Dialysis Prescription in Small Animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2011;41(1):193-225. doi:10.1016/j.cvsm.2010.12.002
22. Cowgill LD, Francey T. *Hemodialysis and Extracorporeal Blood Purification*. 4th ed. Elsevier Inc.; 2012. doi:10.1016/B978-1-4377-0654-3.00036-6
23. Bilbrough GE, Lampton PW, Wagner M, Corey S, DeNicola DB. *The IDEXX Catalyst CRP Test for In-House Measurement of C-Reactive Protein (CRP) Concentration in Serum from Dogs*; 2017.
24. IDEXX-Laboratories. Diagnostic guidelines Detect and trend systemic inflammation in dogs with the new Catalyst* CRP Test. 2017:1-3.
25. Jabs WJ, Lögering BA, Gerke P, et al. The kidney as a second site of human C-reactive protein formation in vivo. *Eur J Immunol.* 2003;33:152-161.
26. Gabay C, Kushner I. Acute-phase protein response in dogs with experimentally induced gastric mucosal injury. *N Engl J Med.* 1999;11:448-454.
27. Mold C, Rodriguez W, Rodic-Polic B, Du Clos TW. C-Reactive Protein Mediates Protection from Lipopolysaccharide Through Interactions With Fc R. *J Immunol.* 2002;169(12):7019-7025. doi:10.4049/jimmunol.169.12.7019
28. Vaccaro F, Mule G, Cottone S, et al. Circulating Levels of Adhesion Molecules in Chronic Kidney Disease Correlate with the Stage of Renal Disease and with C-Reactive Protein. *Arch Med Res.* 2007;38(5):534-538. doi:10.1016/j.arcmed.2007.01.013

29. Haubitz M, Brunkhorst R, Wrenger E, Froese P, Schulze M, Koch K. Chronic induction of c-reactive protein by hemodialysis, but not by peritoneal dialysis therapy. *Perit Dial Int.* 1996;16(20):158-162.
30. Li G, Ma H, Yin Y, Wang J. CRP , IL - 2 and TNF - α level in patients with uremia receiving hemodialysis. *Mol Med Rep.* 2018;17:3350-3355. doi:10.3892/mmr.2017.8197
31. Silvestrini P, Zoia A, Planellas M, et al. Iron status and C-reactive protein in canine leishmaniasis. *J Small Anim Pract.* 2014;55(2):95-101. doi:10.1111/jsap.12172
32. Rubio CP, Moreira E dos S, Junqueira G, et al. Acute phase response following ovariohysterectomy in female dogs. *Comp Clin Pathol.* 2015;24:797-804. doi:10.1007/s00580-014-1984-9
33. Christensen MB, Langhorn R, Goddard A, et al. Comparison of serum amyloid A and C-reactive protein as diagnostic markers of systemic inflammation in dogs. *Can Vet J.* 2014;55(2):161-168.
34. Tomo T. Biocompatibility of Hemodiafilters. *Contrib Nephrol.* 2016;189:210-214. doi:10.1159/000450803
35. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature.* 2008;454(July):428-435. doi:10.1038/nature07201
36. Paltrinieri S. The feline acute phase reaction. *Vet J.* 2008;177:26-35. doi:10.1016/j.tvjl.2007.06.005
37. Fraenkel PG. Anemia of Inflammation: A Review. *Med Clin North Am.* 2016;2-12. doi:10.1016/j.mcna.2016.09.005
38. Yilmaz I, Ozkok A, Kostek O, et al. C-reactive protein but not hepcidin, NGAL and transferrin determines the ESA resistance in hemodialysis patients. *Ren Fail.* 2016;38(1):89-95. doi:10.3109/0886022X.2015.1106896
39. Kjelgaard-Hansen M, Jacobsen S. Assay Validation and Diagnostic Applications of Major Acute-phase Protein Testing in Companion Animals. *Clin Lab Med.* 2011;31(1):51-70. doi:10.1016/j.cll.2010.10.002
40. Kjelgaard-Hansen M. Comments on measurement of C-reactive protein in dogs. *Vet Clin Pathol.* 2010;39(4):402-403. doi:10.1111/j.1939-165X.2010.00276.x
41. Polzin DJ. Chronic Kidney Disease in Small Animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2011;41(1):15-30. doi:10.1016/j.cvsm.2010.09.004

Tabelas

Tabela 1. Média (Me), desvio padrão (DP) e intervalo de confiança (IC) das concentrações de proteína C reativa (mg/L) analisadas pelo aparelho Catalyst®, ureia (mg/dL), creatinina (mg/dL), fósforo (mg/dL) e potássio (mEq/L) no M0 e MTerminal, em cães com DRC IV submetidos a hemodiálise intermitente (GHDI), tratamento clínico (GTC) e animais hígidos (GC).

Variáveis	Momento	GC Me±DP (IC)	GHDI Me±DP (IC)	GTC Me±DP (IC)
CRP	M0	3.1±1.9 ^A 1.3 – 4.9	45.2±33.3 ^{Ba} 3.8 – 86.5	27.5±18.6 ^{ABa} 10.3 – 44.
	MTerminal	3.1±1.9 ^A 1.3 – 4.9	54±28.4 ^{Ba} 30.7 – 78.2	35±35.7 ^{ABa} 1.9 – 68
Ureia	M0	43.5±16.1 ^A 28.6 – 58.4	337.3±145.8 ^{Ba} 215.3 – 559.3	268.7±87.2 ^{Ba} 195.7 – 341.6
	MTerminal	43.5±16.1 ^A 28.6 – 58.4	180±38.7 ^{Bb} 147.6 – 212.4	334.4±98.8 ^{Ca} 251.7 – 417.1
Creatinina	M0	1.1±0.1 ^A 1 – 1.3	10.7±5.8 ^{Ba} 5.8 – 15.6	9±3.2 ^{Ba} 6.3 – 11.7
	MTerminal	1.1±0.1 ^A 1 – 1.3	7.2±3 ^{Bb} 4.7 – 9.8	11.8±5 ^{Cb} 7.6 – 16
Fósforo	M0	3.1±0.5 ^A 2.6 – 3.6	24.8±22.6 ^{Ba} 5.9 – 43.8	15.9±7 ^{ABa} 10 – 21.8
	MTerminal	3.11±0.5 ^A 2.6 – 3.6	12.2±5.5 ^{Ba} 7.6 – 16.9	21.5±8.4 ^{Cb} 14.4 – 28.5
Potássio	M0	3.1±0.2 ^A 2.8 – 3.3	3.5±0.6 ^{Aa} 3 – 4	4±0.6 ^{Ba} 3.7 – 4.9
	MTerminal	3.1±0.2 ^A 2.8 – 3.3	4.5±1.3 ^{Bb} 3.4 – 55.6	4.6±0.9 ^{Ba} 3.8 – 5.4

Letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não houve diferença estatística entre os grupos, letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os grupos. Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença estatística entre os momentos, letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os momentos.

Tabela 2. Mediana, intervalo interquartil (25 – 75%), mínimo (Mín) e máximo (Máx) dos valores de proteína C reativa (mg/L) analisadas pelo método ELISA (Life Diagnostics®) e Leucócitos totais (x10³/mm³) no M0 e MTerminal, em cães com DRC IV submetidos a hemodiálise intermitente (GHDI), tratamento clínico (GTC) e animais hígidos (GC).

Variáveis	Momento	GC	GHDI	GTC
		Mediana	Mediana	Mediana
		25 – 75%	25 – 75%	25 – 75%
		Mín - Máx	Mín - Máx	Mín - Máx
CRP	M0	44.1 ^{AB} (40.5 – 46.6) [36.8 -47.1]	66.1 ^{Aa} (24.2– 185.5) [7.8 - 523.4]	7.8 ^{Ba} (7.8 – 36.1) [7.8 -232.3]
	MTerminal	44.1 ^A (40.5 – 46.6) [36.8 -47.1]	68.2 ^{Aa} (7.8 -88.4) [7.8 -122]	50.3 ^{Aa} (40 -73.15) [37.6 -317.1]
Leucócitos totais	M0	6.53 ^A (6.1 -7.87) [5.5 -9.8]	10.45 ^{Ba} (8.5 -10.875) [6.8 -15.4]	8.7 ^{ABa} (6.9 -10.8) [5.8 -10.8]
	MTerminal	6.53 ^A (6.1 -7.87) [5.5 -9.8]	14.7 ^{Bb} (11.575 -17.175) [10.99 -17.5]	8.6 ^{ABa} (5.9 -13.1) [4.6 -17.7]

Letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não houve diferença estatística entre os grupos, letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os grupos. Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença estatística entre os momentos, letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os momentos.

Figuras

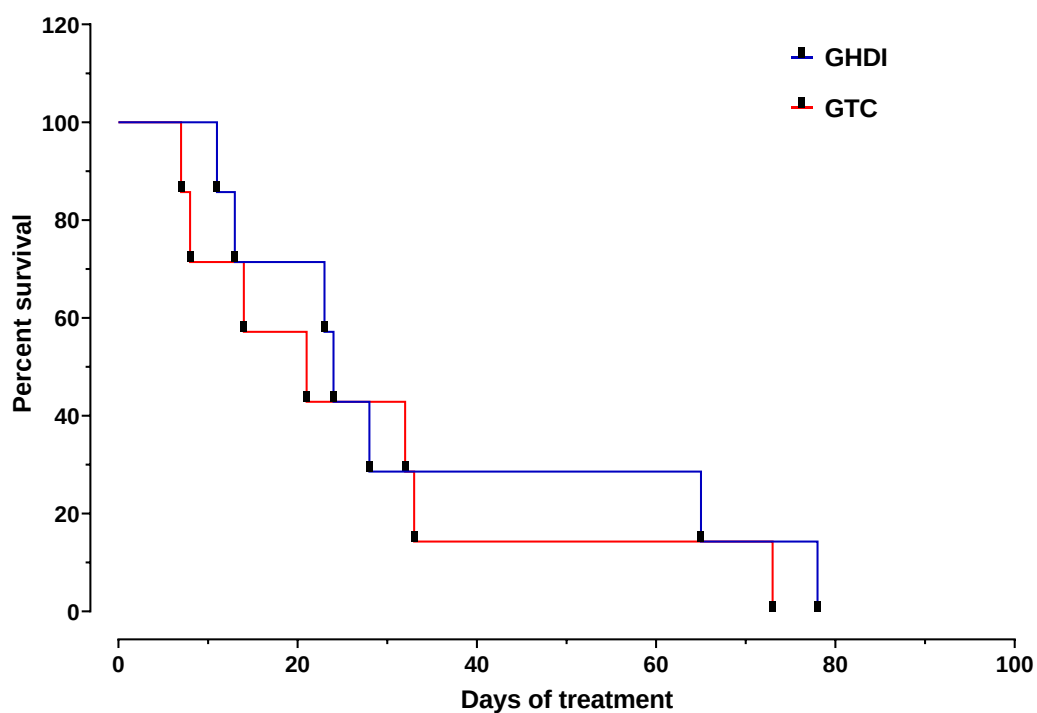


Figura 1. Gráfico de Kaplan-Meier demonstrando o percentual de sobrevivência dos cães DRC IV submetidos a hemodiálise intermitente (GHDI) e tratamento clínico (GTC).

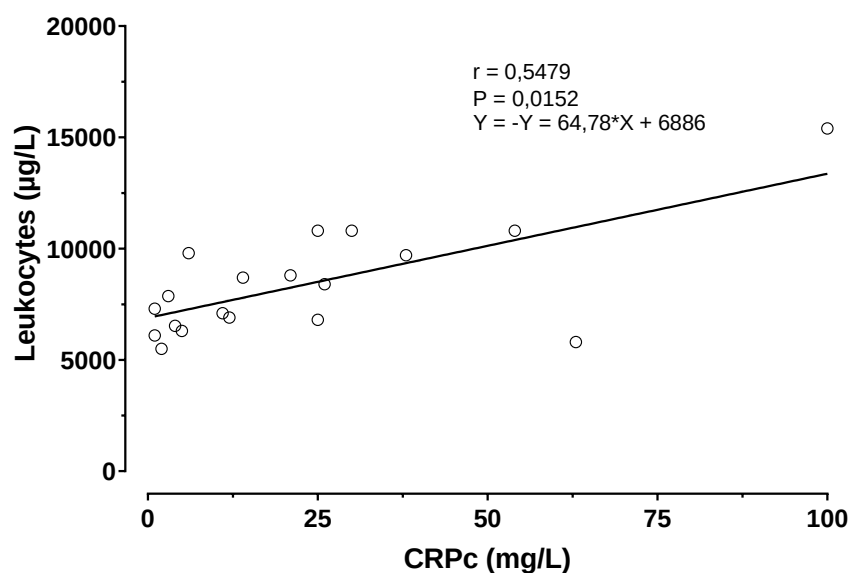


Figura 2: Concentração de CRPc e leucócitos totais apresentando correlação positiva moderada de cães com DRC IV submetidos a hemodiálise intermitente (GHDI) e tratamento clínico (GTC) no M0.

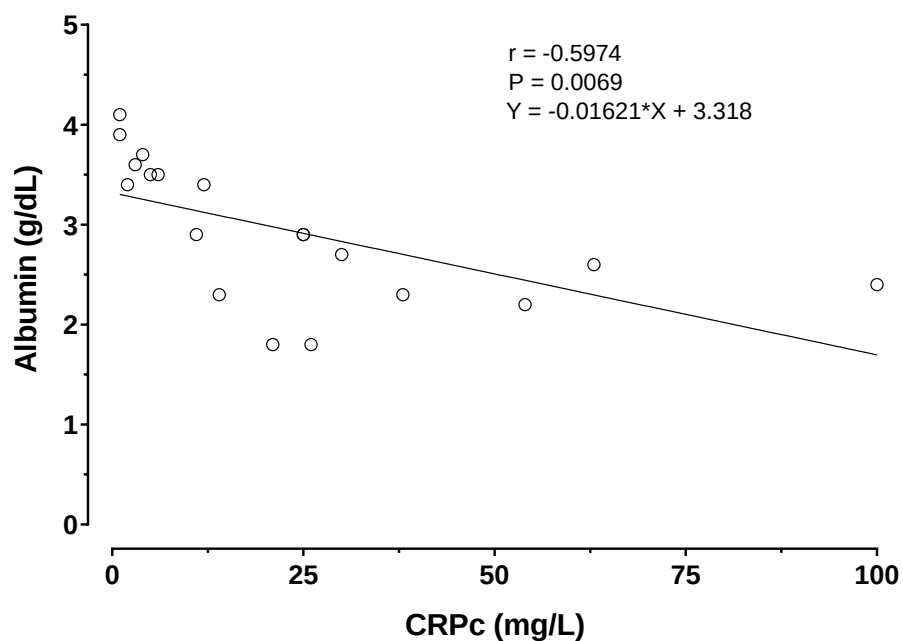


Figura 3: Concentração de CRPc e leucócitos totais apresentando correlação negativa moderada de cães com DRC IV submetidos a hemodiálise intermitente (GHDI) e tratamento clínico (GTC) no M0.

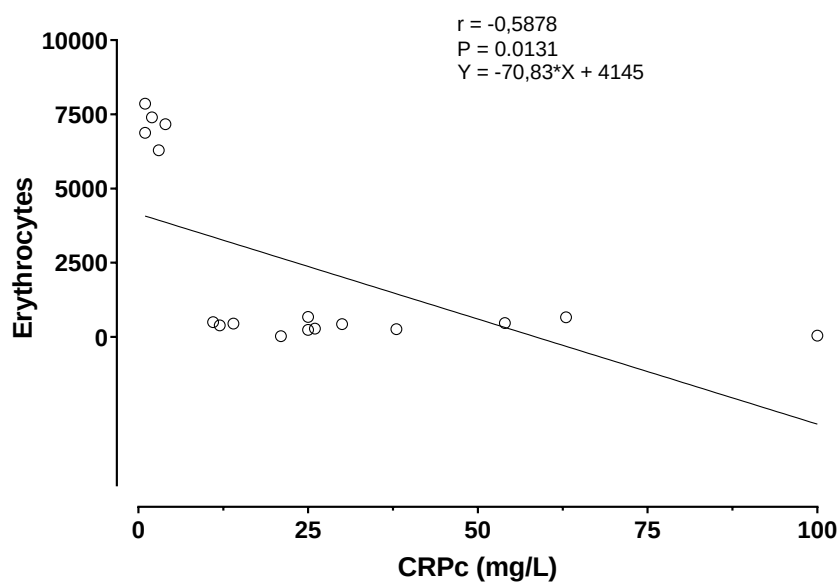


Figura 4: Concentração de CRPc e leucócitos totais apresentando correlação negativa moderada de cães com DRC IV submetidos a hemodiálise intermitente (GHDI) e tratamento clínico (GTC) no M0.

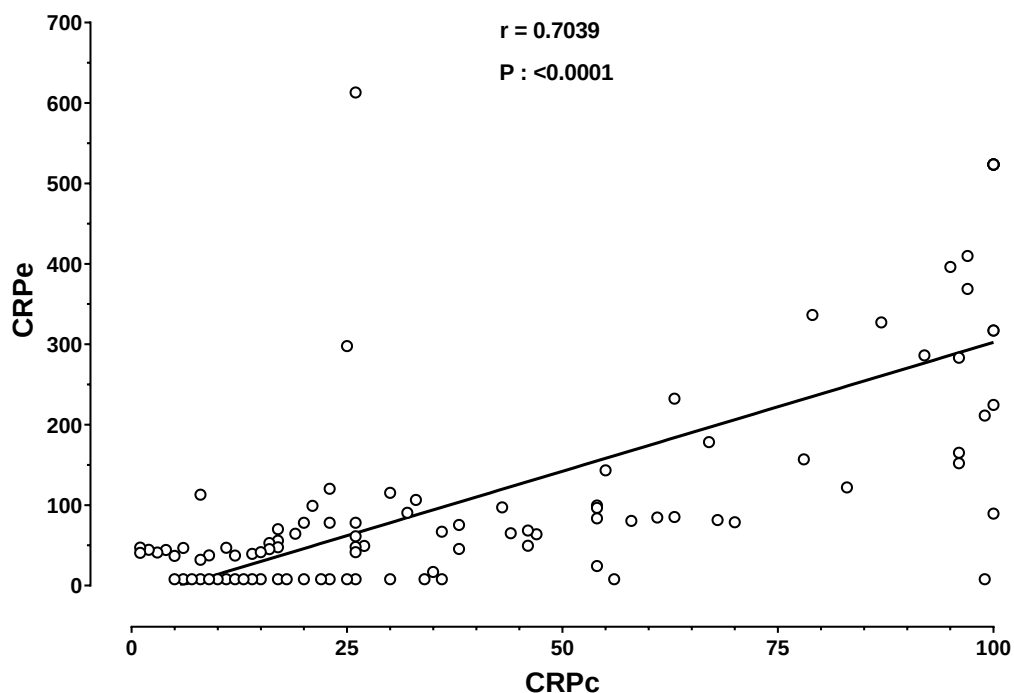


Figura 5. Gráfico regressão linear das Concentrações de proteína C reativa entre os dois métodos aplicados (CRPe - CRP obtidos pelo método ELISA) e (CRPc - obtida pelo aparelho Catalyst®) de cães com DRC IV submetidos a hemodiálise intermitente e tratamento clínico.

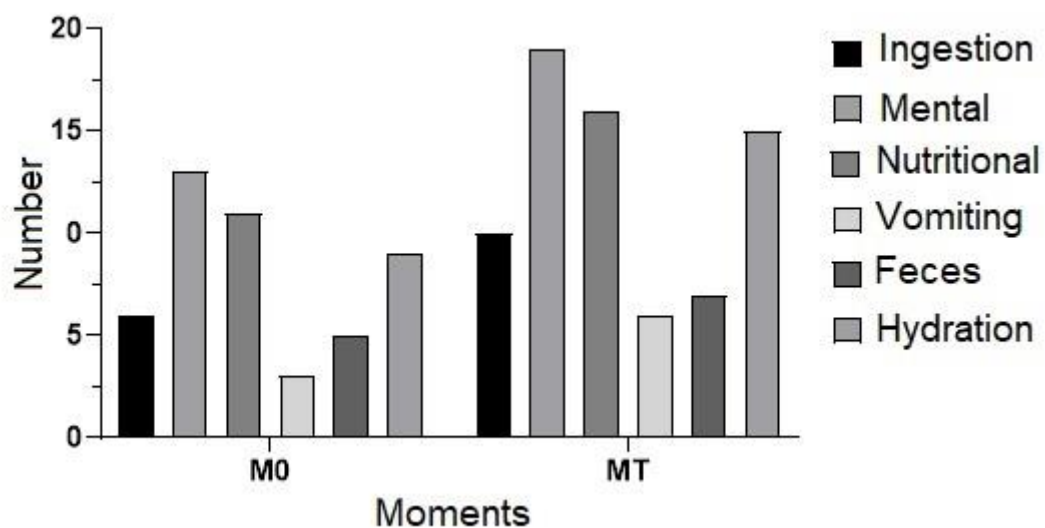


Figura 6. Gráfico do score clínico dos cães submetidos a hemodiálise intermitente (GHD) no M0 e no MTerminal.

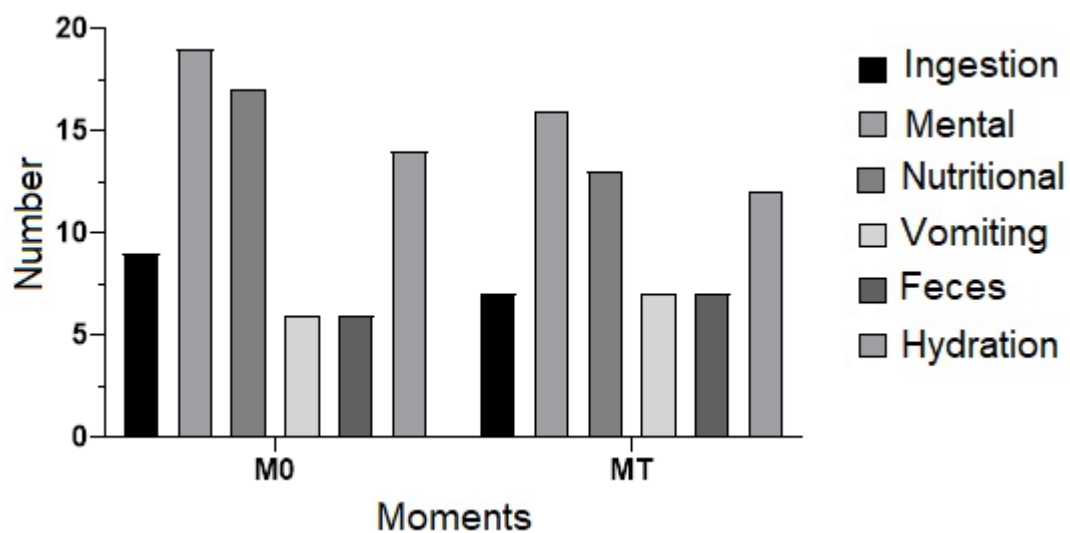


Figura 7. Gráfico do score clínico dos cães submetidos ao tratamento clínico (GTC) no M0 e no MTerminal.

CAPÍTULO III

CONCLUSÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou a presença de uma resposta inflamatória em animais DRC IV submetidos à hemodiálise intermitente, demonstrando que a proteína C reativa pode ser utilizada na avaliação da resposta inflamatória dos pacientes com doença renal crônica IV.

Os métodos utilizados demonstraram ser eficazes na mensuração da proteína C reativa em cães com doença renal crônica IV.

Mesmo com a alta taxa de mortalidade em pacientes com doença renal crônica IV, observou-se uma melhora das variáveis laboratoriais e melhora clínica dos pacientes.

REFÊRENCIAS

ACIERNO, M. J. et al. ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 6, p. 1803–1822, 2018.

BARTGES, J. W. Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 42, n. 4, p. 669–692, 2012.

BLOOM, C. A.; LABATO, M. A. Intermittent Hemodialysis for Small Animals. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 41, n. 1, p. 115–133, 2011.

BROWN, S. et al. Consensus Recommendations for Standard Therapy of Glomerular Disease in Dogs. **Journal of veterinary Internal Medicine**, v. 27, p. 27–43, 2013.

CERÓN, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: Current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 2, p. 85–99, 2005.

CHAUVEAU, P. et al. C-reactive protein and procalcitonin as markers of mortality in hemodialysis patients: A 2-year prospective study. **Journal of Renal Nutrition**, v. 13, n. 2, p. 137–143, 2003.

CHEW, D. J.; DIBARTOLA, S. P.; SCHENCK, P. A. Chronic renal failure. In: **Canine and feline nephrology and urology**. 2 edition ed. St. Louis: Elsevier/Saunders, 2011. p. 526.

CHRISTENSEN, M. B.; ERIKSEN, T.; KJELGAARD-HANSEN, M. C-reactive protein: Quantitative marker of surgical trauma and post-surgical complications in dogs: A systematic review. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57, n. 1, p. 1–10, 2015.

CORTADELLAS, O.; TALAVERA, J.; FERNÁNDEZ DEL PALACIO, M. J. Evaluation of the Effects of a Therapeutic Renal Diet to Control Proteinuria in Proteinuric Non-Azotemic Dogs Treated with Benazepril. **J Vet Intern Med**, v. 28, p. 30–37, 2014.

COWGILL, L. D. Urea Kinetics and Intermittent Dialysis Prescription in Small Animals. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 41, n. 1, p. 193–225, 2011.

COWGILL, L. D.; FRANCEY, T. **Hemodialysis and Extracorporeal Blood Purification**. 4. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2012.

COWGILL, L. D.; GUILLAUMIN, J. Extracorporeal renal replacement therapy and blood purification in critical care. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 23, n. 2, p. 194–204, 2013.

COWGILL, L. D.; LANGSTON, C. E. Role of hemodialysis in the management of dogs and cats with renal failure. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 26, n. 6, p. 1347–1378, 1996.

CRAY, C.; ZAIAS, J.; ALTMAN, N. H. Acute Phase Response in Animals- A Review. **Comparative medicine**, v. 59, n. 6, p. 517–526, 2009.

CRISPE, I. N. Hepatocytes as Immunological Agents. **The Journal of Immunology**, v. 196, p. 17–21, 2016.

ECKERSALL, P. D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. **Revue De Medecine Veterinaire**, v. 151, p. 577–584, 2000.

ECKERSALL, P. D. **Proteins , Proteomics , and the Dysproteinemias**. 6th. ed. [s.l: s.n.].

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **Veterinary Journal**, v. 185, n. 1, p. 23–27, 2010.

ELLIOTT, D. A. Hemodialysis. **Clinical techniques in small animal practice**, v. 15, n. 3, p. 136–148, 2000.

FIOCCHI, E. H. et al. The Use of Darbepoetin to Stimulate Erythropoiesis in the Treatment of Anemia of Chronic Kidney Disease in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 2, p. 476–485, 2017.

FRANCEY, T.; SCHWEIGHAUSER, A. Regional Citrate Anticoagulation for Intermittent Hemodialysis in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 1, p. 147–156, 2018.

GABAYC, C.; KUSHNER, I. Acute-phase protein response in dogs with experimentally induced gastric mucosal injury. **The New England Journal of Medicine**, v. 11, p. 448–454, 1999.

GERSHWIN, L. J. Clinical Veterinary Immunology. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). . **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th Editio ed. [s.l.] Academic Press, 2008. p. 157–172.

INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY. IRIS Staging of CKD (modified 2019). p. 1–5, 2019a.

INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY. Treatment Recommendations for CKD in Dogs (2019). p. 1–16, 2019b.

JABS, W. J. et al. The kidney as a second site of human C-reactive protein formation in vivo. **Eur. J. Immunol**, v. 33, p. 152–161, 2003.

KOREVAAR, J. C. et al. Effect of an increase in C-reactive protein level during a hemodialysis session on mortality. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 15, n. 11, p. 2916–2922, 2004.

LANGSTON, C. Managing Fluid and Electrolyte Disorders in Renal Failure. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 38, n. 3, p. 677–697, 2008.

LEFEBVRE, S. Clinical findings in cats and dogs with chronic kidney disease. **Veterinary Focus**, v. 23, n. 3, p. 26–27, 2013.

LI, G. et al. CRP , IL - 2 and TNF - α level in patients with uremia receiving hemodialysis. **MOLECULAR MEDICINE REPORTS**, v. 17, p. 3350–3355, 2018.

LIBETTA, C. et al. Oxidative stress and inflammation: Implications in uremia and hemodialysis. **Clinical Biochemistry**, v. 44, n. 14–15, p. 1189–1198, 2011.

LUNN, K. F. The Kidney in Critically Ill Small Animals. **Veterinary Clinics of**

North America Small Animal Practice, v. 41, n. 4, p. 727–744, 2011.

MASTRORILLI, C. et al. Clinicopathologic Features and Outcome Predictors of *Leptospira interrogans Australis* Serogroup Infection in Dogs: A Retrospective Study of 20 Cases (2001–2004). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 3–10, 2007.

MCCLURE, V. et al. Evaluation of the use of serum C-reactive protein concentration to predict outcome in puppies infected with canine parvovirus. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 243, n. 3, p. 361–366, 2013.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, n. July, p. 428–435, 2008.

MOLD, C. et al. C-Reactive Protein Mediates Protection from Lipopolysaccharide Through Interactions With Fc R. **The Journal of Immunology**, v. 169, n. 12, p. 7019–7025, 2002.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. **Veterinary Journal**, v. 168, n. 1, p. 28–40, 2004.

MURPHY, K.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. Innate Immunity. In: **Janeway's Immunobiology**. 7th editio ed. New York: Garland Science, 2008. p. 39–108.

PEPYS, M. B.; HIRSCHFIELD, G. M. C-reactive protein: a critical update. **The journal of clinical investigation**, v. 12, n. 111, p. 1805–1812, 2003.

PERONDI, F. et al. Evaluation of a prognostic scoring system for dogs managed with hemodialysis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 28, n. 4, p. 340–345, 2018.

POEPPEL, K.; LANGSTON, C. E.; CHALHOUB, S. Equipment Commonly Used in Veterinary Renal Replacement Therapy. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 41, n. 1, p. 177–191, 2011.

POLZIN, D. J. Chronic Kidney Disease in Small Animals. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 41, n. 1, p. 15–30, 2011a.

POLZIN, D. J. Chronic kidney disease. In: JOE BARTGES; DAVID J. POLZIN (Eds.). . **Nephrology and Urology of Small Animals**. Iowa: John Wiley & Sons Ltd, 2011b. p. 433–471.

POLZIN, D. J. Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 23, n. 2, p. 205–215, 2013.

POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A. Conservative medical management of chronic renal failure. In: OSBORNE, C. A.; FINCO, D. R. (Eds.). . **Canine and feline nephrology and urology**. [s.l.] Williams & Wilkins, 1995. p. 508–538.

QUIMBY, J. M. Update on Medical Management of Clinical Manifestations of Chronic Kidney Disease. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 46, n. 6, p. 1163–1181, 2016.

RAFAJ, R. B. et al. Markers of Coagulation Activation, Endothelial Stimulation, and Inflammation in Dogs with Babesiosis. **J Vet Intern Med**, v. 27, p. 1172–1178, 2013.

RAILA, J.; SCHWEIGERT, F. J.; KOHN, B. C-reactive protein concentrations in serum of dogs with naturally occurring renal disease. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 23, n. 4, p. 710–715, 2011.

ROSS, S. Anticoagulation in Intermittent Hemodialysis: Pathways, Protocols, and Pitfalls. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 41, n. 1, p. 163–175, 2011.

SABRY, A. A. et al. The level of C-reactive protein in chronic hemodialysis patients: A comparative study between patients with noninfected catheters and arteriovenous fistula in two large Gulf hemodialysis centers. **Hemodialysis International**, v. 18, n. 3, p. 674–679, 2014.

SEGEV, G. et al. Validation of a Clinical Scoring System for Outcome Prediction in Dogs with Acute Kidney Injury Managed by Hemodialysis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 3, p. 803–807, 2016.

SHIMADA, T. et al. Monitoring C-reactive Protein in Beagle Dogs Experimentally

Inoculated with Ehrlichia canis. **Veterinary Research Communications**, v. 26, p. 171–177, 2002.

SILVESTRINI, P. et al. Iron status and C-reactive protein in canine leishmaniasis. **Journal of Small Animal Practice**, v. 55, n. 2, p. 95–101, 2014.

STENVINKEL, P. The role of inflammation in the anaemia of end-stage renal disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 16, n. SUPPL. 7, p. 36–40, 2001.

VADEN, S. L.; ELLIOTT, J. Management of Proteinuria in Dogs and Cats with Chronic Kidney Disease. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 46, n. 6, p. 1115–1130, 2016.

VOLANAKIS, J. E. Human C-reactive protein expression, structure, and function. **Molecular immunology**, v. 38, p. 189–197, 2001.

WOOLEY, J. A.; BTAICHE, I. F.; GOOD, K. L. Metabolic and nutritional aspects of acute renal failure in critically ill patients requiring continuous renal replacement therapy. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 20, n. 2, p. 176–191, 2005.

YAMAMOTO, S. et al. Serum C-Reactive Protein And Immune Responses In Dogs Inoculated With Bordetella Bronchiseptica (Phase I Cells). **Veterinary Research Communications**, v. 18, p. 347–357, 1994.

YAMASHITA, T. et al. Canine Acute Phase Response Relationship between Serum Cytokine Activity and Acute Phase Protein in Dogs. **J Vet Med Sci.**, v. 3, n. 56, p. 487–492, 1994.

YUE, C. C. et al. Identification of a C-reactive protein binding site in two hepatic carboxylesterases capable of retaining C-reactive protein within the endoplasmic reticulum. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 36, p. 22245–22250, 1996.