UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO

Curso de Medicina Veterinária

Mariana Chiconello de Oliveira

AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO PROTEÍNA-CREATININA URINÁRIA EM CÃES SUBMETIDOS À TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO COM DOXORRUBICINA E/OU CARBOPLATINA

São Paulo

2016

Mariana Chiconello de Oliveira

AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO PROTEÍNA-CREATININA URINÁRIA EM CÃES SUBMETIDOS À TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO COM DOXORRUBICINA E/OU CARBOPLATINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro - UNISA como requisito parcial para obtenção do título bacharel em Medicina Veterinária
Orientador: Prof. Dra. Elizabeth Bohland

São Paulo

2016

Mariana Chiconello de Oliveira

AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO PROTEÍNA-CREATININA URINÁRIA EM CÃES SUBMETIDOS À TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO COM DOXORRUBICINA E/OU CARBOPLATINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro - UNISA como requisito parcial para obtenção do título Bacharel em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dra. Elizabeth Bohland

São Paulo ____ de _____ de 2016

Banca Examinadora

_____

Prof. Msc. Claudia de Prado Brito

Conceito Final

Dedico aos meus pais.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a minha orientadora e professora Elizabeth Bohland por ter me incentivado a participar de um projeto de iniciação cientifica, por ter me dado vários "empurrões" para seguir em frente e nunca a oportunidade de desistir, por ter me dado a oportunidade de participar do meu primeiro congresso e por toda a paciência durante o ano em que trabalhamos juntas, além dos conselhos, que foram essenciais para meu crescimento pessoal.

Agradeço também a minha melhor amiga, Carolina Pierotti, que esteve comigo desde o inicio deste trabalho, me ajudando em todos os sentidos. Por me forçar a resolver todos os problemas que apareceram no meio do caminho, por não me deixar desistir e por todos estes anos de amizade.

Agradeço ainda a todos os envolvidos neste trabalho e a todo o pessoal do HOVET UNISA por ter me ajudado a realizá-lo, em especial ao Gustavo Schiavi por todas os "puxões de orelha" que me deu e por me ajudar a escrever o trabalho, além de ter me ajudado muito no período de estágio obrigatório, que foi essencial para meu crescimento profissional. Ao Fábio Martorelli por toda a paciência em me ensinar a parte prática laboratorial para realização dos exames necessários e por todas as dicas que contribuíram para melhor desenvolvimento deste trabalho. E agradeço a Professora Claudia Brito pela oportunidade de me deixar trabalhar com animais do HOVET UNISA e por toda ajuda e paciência durante o período de estágio obrigatório.

Agradeço também a todos os professores que foram fundamentais para minha formação.

Agradeço as minhas amigas, Isabele e Renata que fizeram das minhas manhãs melhores, durante os 5 anos de faculdade e que ainda fizeram do meu estágio obrigatório, um trabalho mais divertido. À minha amiga/irmã Barbara, por todos os anos de amizade e por acreditar sempre em mim além de todas as broncas e conselhos que eu levo comigo para a vida.

E por fim, agradeço a minha mãe Mia, ao meu pai Sérgio e ao meu namorado Alexandre por toda paciência que têm comigo, por me ajudarem também no desenvolvimento deste trabalho e não me deixarem desistir nunca, por todo amor que me dão e por serem sempre meu porto seguro.

"A persistência é o caminho do êxito."

Charles Chaplin

RESUMO

Nos dias de hoje, a utilização de quimioterapia na medicina veterinária evoluiu consideravelmente devido ao aumento da incidência de casos de neoplasias em animais. Os fármacos quimioterápicos atuam sobre a morte celular, com o intuito de inibir a replicação e a divisão das células neoplásicas, a fim de evitar danos maiores para o organismo. No entanto, como todas as drogas, estes também têm efeitos colaterais e, por vezes, podem comprometer as funções básicas do animal. Este trabalho teve por finalidade avaliar o impacto do uso da doxorrubicina e da carboplatina sobre a função renal de animais tratados com estes quimioterápicos. Para tal, foram colhidas amostras de urina de cães atendidos no setor de cirurgia do Hospital Veterinário da Universidade Santo Amaro (HOVET UNISA) que receberam tratamento quimioterápico com as drogas supracitadas, durante o período de 01 de julho de 2015 a 15 de abril de 2016. Foram realizados os exames de relação proteína-creatinina urinária e urinálise, nos momentos: antes do início dos tratamentos (t0) e ao final de cada ciclo de 21 dias ou de tratamento quimioterápico. O período de acompanhamento dos animais foi de no máximo 6 meses a contar do tempo zero, podendo ter sido inferior a este período nos casos de interrupção do tratamento (por cura, óbito ou desistência). Sabe-se que muitas drogas antineoplásicas podem causar determinados tipos de nefrotoxicidade, no entanto de acordo com os resultados das amostras utilizadas neste projeto, não houve alterações renais significativas, que poderiam comprometer a fisiologia renal no organismo.

Palavras-chave: Relação proteína-creatinina urinária. Oncologia. Doxorrubicina. Carboplatina.

ABSTRACT

Nowadays, the use of chemotherapy in veterinary medicine has evolved considerably due to the increased incidence of neoplasia cases in animals. The chemotherapeutic drugs act on the cellular death, aiming to inhibit the replication and division of neoplastic cells, in order to prevent greater damage to the organisms. However, like all drugs, this also has side effects, sometimes compromising the animals basic functions. This work aimed at evaluating the impact of using doxorubicin and carboplatin in the kidney function of animals treated with these chemotherapeutic drugs. To accomplish this task, urine samples were collected from dogs that went though chemotherapy treatment using the drugs mentioned above at the Veterinary Hospital of the Santo Amaro University (HOVET UNISA), over the period from July the 1st 2015 to April the 15th 2016. Urine protein-to-creatinine ratio and urinalyses tests were performed, at times: before the beginning of treatments (t0) and at the end of each 21-day cycles or the end of chemotherapy treatment. The animals monitoring period lasted for six months at most, starting from time zero (t0), in some cases it was not possible to continue collecting samples due to patient discharge, death or discontinuation of treatment. It is known that many antineoplastic drugs can cause certain types of nephrotoxicity, however according to the results of the samples used in this project, there has been no significant renal alterations, that could compromise renal physiology in the organism.

Keywords: Urine protein-to-creatinine. Oncology. Doxorubicin. Carboplatin.

Lista de quadros

Quadro 1 - Protocolo Poliquimioterápico 17

Lista de Tabelas

Tabela 1: Animal 1 - Protocolo Carboplatina + Doxorrubicina 27
Tabela 2: Animal 2 - Protocolo Carboplatina 27
Tabela 3: Animal 3 - Protocolo Carboplatina 28
Tabela 4: Animal 4 - Protocolo Carboplatina 28

Lista de abreviaturas

DNA - Ácido desoxirribonucleico

HOVET - Hospital Veterinário

IRIS - International Renal Interest Society

RNA - Ácido ribonucleico

RPC - Relação proteína-creatinina

SID - Uma vez ao dia (*"semel in die"* no Latim)

SRD - Sem raça definida

T0 - Tempo Zero

T1 - Tempo 1

Tn - Tempo de acordo com a sessão quimioterápica

UNISA - Universidade de Santo Amaro

VO - Via Oral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13

2. REVISÃO DE LITERATURA 14
2.1. Doxorrubicina 14
2.2. Carboplatina 16
2.3. Exame de urina e Relação Proteína-Creatinina Urinária 17

3. OBJETIVOS 21

4. MATERIAIS E MÉTODOS 22
4.1. Coleta, preparo e metodologia de análise das amostras 22
4.2. Momento da realização dos exames laboratoriais 23

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 24

6. CONCLUSÃO 31

REFERÊNCIAS 32

1 INTRODUÇÃO

O tratamento do paciente oncológico na Medicina Veterinária teve início na década de 80 e vem evoluindo junto com o aumento da incidência de animais diagnosticados [1].

A quimioterapia é uma ferramenta para o tratamento de tumores sendo descrita, primeiramente, na Grécia antiga onde eram utilizadas substâncias cáusticas, alcaloides metais e sais em aplicações diretas. Na atualidade, os antineoplásicos são: antimetabólicos, antibióticos, agentes alquilantes, hormônios, L-asparginase, anti-inflamatórios esteroidais, cisplatina, carboplatina, mitotano e alcaloides de vinca [2]. Hoje, também existem protocolos poliquimioterápicos (quando faz-se a utilização de dois ou mais agentes antineoplásicos associados, evitando resistência de células antineoplásicas mutantes aos quimioterápicos). Para tal, os quimioterápicos são selecionados de acordo com alguns princípios, tais como: a) cada medicamento deve ser ativo contra um determinado tipo tumoral, b) cada um deve atuar por meio de mecanismos de ação diferentes e por fim c) não devem apresentar sobreposição de toxicidade. Essa técnica resulta em remissões mais sustentáveis e maior tempo de sobrevida aos animais [3].

As drogas mais utilizadas na quimioterapia atuam na morte celular, inibindo o mecanismo de síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA), impedindo a replicação celular e consequentemente divisão [2]. O efeito da quimioterapia ou toxicidade ocorre em todas as células tumorais ou saudáveis e nas células de divisão rápida como: células epiteliais cutâneas, vilosidades gastrointestinais e numa porcentagem de células da medula óssea [4].

É importante ressaltar que todas as drogas quimioterápicas possuem potencial de desencadear efeitos adversos, usualmente menos intensos em cães do que em humanos, onde em animais, os efeitos mais observados são episódios eméticos, diarréia e hiporexia. Portanto, é de fundamental importância que o clínico veterinário saiba reconhecer estes efeitos, para poder contorná-los e orientar os proprietários na identificação precoce destes [5].

Partindo deste contexto, este trabalho teve por finalidade avaliar o impacto do uso da doxorrubicina e da carboplatina sobre a função renal através da realização de exames que avaliem de forma mais precoce as possíveis alterações.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Neste capítulo, vamos abordar os antineoplásicos Doxorrubicina e Carboplatina e os exames utilizados para a avaliação da função renal.

2.1 Doxorrubicina

A doxorrubicina é um antibiótico antineoplásico antracicleno glicosídico, obtido do fungo *Streptomyces peucetius var caesius* [6], indicada para o tratamento de linfoma, hemangiossarcomas, osteossarcomas, carcinomas espinocelular, adenocarcinoma mamário, carcinoma de tireoide e testicular e leucemias linfóides e leucemóides, além de outros tumores sólidos. A dose preconizada no tratamento é de 30mg/m² em intervalos de 21 dias, por via intravenosa [7], devendo ser administrada durante aproximadamente 10 a 20 minutos [8] não devendo ultrapassar 6 administrações. Em cães, sua meia vida plasmática é de aproximadamente 60 minutos. Pode ser usada como protocolo monoquimioterápico ou poliquimioterápico [8]. Para neoplasias mamárias e em vários carcinomas, tem sido usada mais no protocolo de poliquimioterapia [9], associada à carboplatina. A poliquimioterapia contribui bastante para o aumento da sobrevida de pacientes acometidos pelos tumores citados anteriormente [10]. A doxorrubicina possui 3 fases de eliminação sendo elas: a) distribuição do fármaco para o fígado, pulmão, coração, rins e baço. b) liberação do fármaco desses órgãos para os compartimentos vasculares e tecidos. c) na fase final, ocorre a metabolização no fígado, excreção na bile e/ou fezes em sete dias, além de ser excretado na urina (5-10%) [11,12]. Ela atua inibindo a transcriptase reversa do RNA polimerase, além de alterar a estrutura do DNA ao ligar-se nele, intercalando entre os pares de bases adjacentes de um filamento e inibindo sua atividade original [13]. O efeito da doxorrubicina não é seletivo para as células neoplásicas, isto é, atua também em outras células do organismo, por exemplo nas células glomerulares epiteliais [14]. Segundo Haskell [11] e Ogilvie et al [15], os efeitos citotóxicos da doxorrubicina atuam durante a fase S (período de síntese do DNA) e G2 do ciclo celular (período de síntese de RNA e proteínas), reduzindo assim o índice mitótico. Por suas diversas indicações, é muito usada na medicina veterinária, possuindo várias vantagens, entre elas: ser utilizável em cães e gatos, ter fácil acesso, custo razoável e efeitos colaterais graves raros ou fáceis de prevenir [10].

Seu principal efeito colateral é a cardiotoxicidade pela liberação de radicais livres que lesionam o miocárdio, podendo ser de forma aguda na hora da aplicação ou após a toxicidade cumulativa crônica [4]. Os animais podem vir a apresentar arritmias, taquiarritmias, congestão do miocárdio e morte [8]. Também ocorre a liberação de mastócitos nos tecidos cardíacos, podendo ocasionar lesão no miocárdio e disfunção cardíaca em qualquer resposta anafilática que o animal apresentar [8]. Pode ainda, ocorrer glomerulopatias e fibrose intersticial por seu efeito nefrotóxico. Esses dois efeitos costumam ser mais exacerbados em gatos do que em cães. Como 5-10% da doxorrubicina é eliminada via renal [12], dependendo da dose administrada, pode haver clearance renal e presença de nefrotoxicidade [11]. Segundo Hauck et al [16], a administração de doxorrubicina promoveu lesões renais em cães acometidos por sarcomas e carcinomas. O efeito tóxico causado pela doxorrubicina nos rins, acontece devido a peroxidação lipídica nas membranas das células epiteliais glomerulares, causadas pelos radicais livre oxidativos [17] e devido ao transtorno na permeabilidade seletiva às proteínas do capilar glomerular pelos mediadores inflamatórios de células glomerulares [17]. Ainda, observa-se a diminuição do fluxo sanguíneo renal, assim como das taxas de filtração glomerular e reabsorção tubular [11,18]. As alterações da função renal podem ser observadas através dos níveis elevados de ureia e creatinina no sangue [18], além de alteração na coloração da urina. A nefrotoxicidade da doxorrubicina pode induzir ainda à síndrome nefrótica, que é indicada por alterações glomerulares, hipoproteinemia, proteinúria, anasarca, hipertensão, hipercolesterolemia e coagulopatias[17]. Estudos comprovaram que em gatos, a nefrotoxicidade é dose-dependente e em cães ocorre por doses cumulativas [8]. Outros efeitos incluem: alterações gastrintestinais como anorexia, náusea, êmese, diarréia, colite e perda de peso; reações anafiláticas; alterações dermatológicas como alopecia, urticária e prurido (bastante observados em cães da raça Cocker e Poodle), hiperpigmentação e a mielotoxicidade representada por leucopenia, anemia e trombocitopenia no seu nadir de sete a quatorze dias [8]. Esse agente não tem capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica [8].

Na maioria dos protocolos quimioterápicos, a doxorrubicina é administrada repetidamente, portanto é importante fazer a prevenção das reações de hipersensibilidade através da administração de anti-histamínicos e corticoesteróides. É recomendado também a administração de difenidramina 20 minutos antes da aplicação de doxorrubicina, para prevenir reações anafiláticas [8]. Por fim, é necessário

avaliar todos os tipos de medicamentos que são administrados no animal juntamente com o protocolo quimioterápico, a fim de evitar que tais medicações influenciem no efeitos da quimioterapia, como por exemplo a administração de barbitúricos, que podem diminuir os efeitos farmacológicos da doxorrubicina, por intensificarem o metabolismo hepático [8].

2.2 Carboplatina

A Carboplatina é um derivado platinado (da cisplatina) com efeito citostático, mais indicado como adjuvante ao tratamento cirúrgico de osteossarcomas, adenocarcinomas fibrossarcomas, melanomas e carcinomas de células escamosas [8]. Sua administração pode ser intratumoral ou intravenosa, onde a dose preconizada é de 300mg/m^2 a cada 3 semanas, devendo ser administrada durante 15 minutos. Sofre metabolização hepática e através da filtração glomerular, é excretada por via renal, 24 horas após a aplicação[8]. Seu nadir em cães é em 10 a 14 dias. A droga atravessa a membrana celular e sofre hidrólise dentro da célula, o que dará origem à sua forma ativa, que se ligará a ácidos nucleicos ou proteínas, que vão originar ligações intra e intercadeias, causando alterações estruturais no DNA. O efeito citotóxico é causado pela inibição da transcrição e replicação e induzindo a morte celular programada (apoptose). A síntese de proteínas e RNA também é afetada, mas em um grau menos acentuado.

A Carboplatina apresenta taxa de conversão mais lenta a espécies reativas e, como consequência, menor nefrotoxicidade, porém atividade antitumoral equivalente, com manutenção dos efeitos mielotóxicos [19]. Sendo assim, a mielotoxicidade é considerada um dos principais efeitos colaterais, sendo representada por neutropenia, trombocitopenia e anemia (a medula se recupera dentro de 30 a 40 dias). Esta droga apresenta menor toxicidade renal, quando comparada a cisplatina, mas alguns autores sugerem a utilização de diurese do mesmo modo em que é empregada nas administrações de cisplatina, já que esta droga quando associada a outros agentes antineoplásicos, tem seu nível de nefrotoxicidade aumentado [8]. A Carboplatina até pode ser administrada em pacientes com doenças renais preexistentes, já que tem baixa taxa de nefrotoxicidade, desde que os animais sejam rigorosamente monitorados [8]. Em humanos, sabe-se que os efeitos renais envolvem aumento dos níveis de ureia, creatinina, ácido úrico e diminuição do clearance de creatinina [8], além de hematúria e falência renal [20], porém estes efeitos não foram observados em cães.

Segundo Lin H et. al. [21], constatou-se que a Carboplatina aumenta os níveis de proteínas envolvidas na sinalização de apoptose e de inflamação nas células tubulares renais e que a L-carnitina protege as células renais desta injúria. Os demais efeitos colaterais possíveis que esta droga pode causar são efeitos gastrintestinais, tais como anorexia, êmese, diarréia, náuseas e constipação; efeitos neurológicos, mais observados em humanos, como neuropatias e ototoxicidade [22]; além de efeitos hepatotóxicos, (aumento de bilirrubina e fosfatase alcalina), alterações de eletrólitos, reações alérgicas, alopecia e astenia. Vale lembrar que antibióticos aminoglicosídeos e demais medicamentos nefro e ototóxicos podem aumentar o potencial para nefrotoxicidade da Carboplatina.

O tratamento deve ser instituído o mais cedo possível, para evitar a mutação celular [8]. Porém, é imprescindível que os animais submetidos aos tratamentos quimioterápicos realizem uma completa avaliação hematológica e bioquímica para determinar o tratamento específico e protocolo instituído [23]. Exames como radiografia simples e ultrassonografia são importantes para definir o tamanho e a área neoplásica [8], além da pesquisa de metástases.

Finalizando, a Carboplatina tem sido bastante utilizada em protocolos poliquimioterápicos, principalmente com a Doxorrubicina, para tratamento de Carcinomas. Para que ambos os fármacos possam ser administrados sem qualquer tipo de alteração grave nos animais, Rodaski e Nardi [8], recomendam o seguinte tipo de protocolo conforme mostra o quadro 1.

Quadro 1 - Protocolo poliquimioterápico (Doxorrubicina e Carboplatina) recomendado para tratamento de algumas neoplasias, por exemplo Carcinomas.

Dia	Doxorrubicina	Carboplatina
1º	X	
22º		X
43º	Repetir o esquema indicado acima num total de 4 ciclos	

Fonte: Rodaski e Nardi, 2008 [8]

2.3 Exame de urina e Relação Proteína-Creatinina Urinária (RPC)

O exame de urina é considerado um teste de triagem onde podem ser obtidas informações sobre muitos sistemas orgânicos. Seu valor no estudo dos rins está relacionado à detecção de componentes anormais na urina, que podem ter origem

renal (cilindros, proteínas) e avaliar a capacidade dos rins em concentrar a urina. Já a análise do sedimento urinário permite detectar alterações que refletem a presença de infecção, inflamação, irritação e neoplasia de qualquer porção do sistema urinário [24]. O mecanismo exato da nefrotoxicidade causada pelos quimioterápicos não está bem definido, porém autores sugerem que pode ocorrer devido a diminuição da filtração glomerular, o que pode causar necrose secundaria à ativação do sistema renina angiotensina aldosterona [8]. A toxicidade varia desde um leve aumento de ureia e creatinina, até uma insuficiência renal irreversível. O melhor tratamento para insuficiência renal induzida por quimioterápicos é a prevenção. Para isso, pode-se utilizar alguns protocolos de hidratação, induzindo a diurese no animal e amenizando a nefrotoxicidade causada por estas drogas ou então suspender todos os agentes nefrotóxicos. Ainda, é importante lembrar que a presença do tumor, dependendo qual for, também pode causar lesão renal, sendo esta não necessariamente causada pelo antineoplásico [8].

A perda de proteinas plasmáticas na urina (proteinuria), principalmente a albumina, é um dos defeitos funcionais iniciais causados pela glomerulonefrite e pela hipertensão glomerular [25] e, quando associada à avaliação da taxa de filtração renal, são a base para avaliação da doença renal crônica. A presença de proteína na urina é indicativo de processo patológico em alguma porção do trato urinário ou secundário a contaminação genital. Para diferenciar os processos faz-se necessário a análise do sedimento urinário. Quando a análise do sedimento exclui alterações pós renais, a presença de proteína na urina é sugestiva de doença renal [26].

Contudo, a partir do momento em que se identifica proteínas na urina do animal, identifica-se um subgrupo de pacientes com elevado risco de dano progressivo renal [27] e aumento da morbidade cardiovascular [28]. O aumento da excreção de proteínas tem valor diagnóstico e/ou prognóstico na detecção inicial e confirmação de doença renal e pode ter valor considerável na avaliação da eficácia terapêutica e da progressão da doença renal [29]. Ainda, animais proteinúricos têm grande risco de desenvolver crise urêmica e óbito [30]. O método mais confiável para a determinação da proteinúria é quantificar a excreção de proteínas urinárias por meio de coleta da urina que é produzida durante 24 horas, sendo um método de difícil execução devido a necessidade do uso de gaiola metabólica, passagem repetida ou fixação de cateter uretral, que além de ser trabalhoso e ter alto custo, predispõem o animal a infecções iatrogênicas [31]. Como alternativa, a razão proteína-creatinina urinária de uma amostra

se correlaciona bem à excreção diária de proteínas podendo ainda ser avaliada em uma amostra aleatória de urina [25, 32, 33], pois a creatinina é produzida constantemente e é livremente filtrada pelo glomérulo e não sofre taxas significativas de secreção e reabsorção, logo, ao se dividir a concentração de proteína urinaria pela concentração de creatinina, o efeito do volume de urina sobre a concentração de proteína em uma amostra de urina é anulado. Esta razão é um método para ajustar o volume e a concentração de urina produzida durante o dia. Caso o volume seja elevado, a concentração de creatinina será baixa e vice-versa [25, 33].

Nos exames de rotina, não se avalia a RPC urinária em cães que apresentem piúria, hematúria ou bacteriúria devido a chances de aumento da albuminúria na amostra a ser avaliada [34], além de causar resultados falso positivos da relação por indicar presença de proteinúria não glomerular [35]. Há ainda outros testes para mensuração da proteinúria, como por exemplo o teste de precipitação em ácido sulfossalicílico. Porém trata-se de um método específico e pouco sensível, não sendo utilizado na clínica, mesmo como teste de triagem [36]. Ou então, as tiras reagentes para urinálise também fornecem informações rápidas e semi quantitativas de proteínas na urina, mas elas são mais sensíveis à albumina, não podendo serem usadas com confiabilidade para diagnosticar proteinúria [37]. Vale lembrar, que há diversos tipos de proteínas que podem ser excretadas pela urina, dependendo da etiologia da doença renal. Por exemplo, a excreção de albumina é mais frequente em diabéticos e em animais que tenham doenças renais hipertensivas e glomerulares; já a excreção de proteinas de baixo peso molecular é mais frequente em animais que tenham lesões de origem túbulo-intersticial [38].

A excreção de proteínas urinárias em cães é de 10 a 30 mg/kg durante 24 horas e a razão proteína-creatinina urinária é menor ou igual a 0,2. A razão entre 0,2 a 0,5 em cães é considerada limite. Proteinúria persistente que resulta em razão acima de 0,5 em cães, é significativa de doença renal crônica túbulo-intersticial ou glomerular, enquanto que a razão acima de 2,0 é sugestiva de doença glomerular [25]. Quando a proteinúria é detectada, é importante identificar sua causa de origem. A proteinúria pode ocorrer por causas fisiológicas, como por exemplo em situações de exercício intenso, convulsões, febre, exposição ao calor, frio ou estresse sendo geralmente transitória e corrigida quando se retira a causa, ou pode também ocorrer por causas não fisiológicas sendo de origem renal ou não renal. A proteinuria de origem renal ocorre devido a alterações da permeabilidade do capilar glomerular, por exemplo em

casos de hipertensão; também pode ocorrer por redução da reabsorção de proteínas plasmáticas filtradas devido a alterações túbulo-intersticiais e ainda pode ocorrer por desordens inflamatórias ou infiltravas dos rins, como por exemplo em caso de pielonefrite, leptospirose ou neoplasias, que frequentemente são acompanhadas por sedimento urinário ativo e alterações ultra-sonografias. E a proteinuria não renal pode ocorrer devido à associação de inflamação ou hemorragia do trato urinário inferior [37].

Cada vez mais pacientes são submetidos a tratamentos com quimioterápicos que tem como intuito desde o aumento da sobrevida ou a cura de neoplasias. Apesar das empresas farmacêuticas fornecerem informações sobre os efeitos colaterais dos mesmos, muitas vezes, estes são notados quando o paciente apresenta alterações significativas da função renal, onde não existem muitas alternativas de tratamento. Dessa forma, a avaliação da RPC urinária pode fornecer informações precoces para o clínico de pequenos animais que poderá optar pela continuidade ou não de um determinado tratamento, ou de alternativas para minimizar o impacto dessas drogas sobre a função renal diminuindo seus efeitos colaterais e possibilitando uma melhor qualidade de vida aos animais, visto que a mensuração da RPC auxilia a monitoração renal e quanto maior sua redução, menores as chances de perda da função renal [39].

3 OBJETIVOS

Geral:

Avaliar os efeitos da quimioterapia com doxorrubicina e/ou carboplatina sobre a função renal de cães com diagnóstico de neoplasias atendidos pelo setor de cirurgia do HOVET UNISA.

Específicos:

Avaliação da urinálise de cães durante o tratamento oncológico com quimioterápicos;

Avaliação da RPC urinária de cães durante o tratamento oncológico com quimioterápicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste estudo, foram utilizadas as amostras de urina de cães atendidos no HOVET UNISA com diagnóstico citológico e histopatológico de neoplasias epiteliais que foram tratadas utilizando protocolos com doxorrubicina e/ou carboplatina, durante o período compreendido entre 01 de julho de 2015 a 15 de abril de 2016.

4.1 Coleta, preparo e metodologia de análise das amostras

Em dias agendados, os animais foram ao HOVET UNISA e fizeram a coleta de urina, que era encaminhada ao Laboratório Veterinário de Patologia Clínica do HOVET UNISA.

A urina destinada à urinálise e a determinação da proteína e creatinina urinária, foi coletada por cistocentese. O volume de urina coletado foi entre 5,0 a 10,0 mL. As amostras foram transportadas ao Laboratório Veterinário de Patologia Clínica do HOVET UNISA para análise imediata. Inicialmente, foi realizado o exame físico da urina visando avaliar a cor e o aspecto por observação macroscópica, a densidade urinária utilizando um refratômetro manual ATAGO® URC-Ne (1,000 a 1,050) e o volume da amostra. O exame químico foi realizado de forma semi quantitativa com o auxílio de tiras reagentes Uriquest® Plus – Labtest Diagnostica AS, sendo analisados os seguintes parâmetros: nitrito, pH, sangue oculto, proteína, glicose, corpos cetônicos, urobilinogênio e bilirrubina. Após esses testes, a urina foi centrifugada a 1500 rpm por 10 minutos com o intuito de se obter o sedimento urinário que foi colocado entre lâmina e lamínula e analisado com o aumento de 100 a 400X em Microscópico óptico (Eclipse® E 200, Nikon), sob luz reduzida e realizada contagens dos elementos figurados por campo [26].

Para a determinação da RPC urinária, foi utilizado o volume sobrenadante obtido após a centrifugação da urina. As amostras foram acondicionadas em eppendorfs e congeladas a -20°C até a realização dos testes [40]. Os exames foram processados no analisador semi-automático de bioquímica – BIO 200L®, Bioplus. A dosagem de proteína urinária foi realizada com o Kit reagente Sensiprot® - Labtest Diagnostica SA, utilizando o princípio do vermelho de pirogalol, em reação de ponto final e leitura em comprimento de onda de 620nm. Para a dosagem de creatinina

urinária, a urina foi primeiramente diluída em água destilada na proporção de 1:25 de forma a atingir o valor de linearidade do teste, sendo posteriormente corrigido o valor final. O método foi a reação do picrato alcalino, reação cinética de 2 pontos em comprimento de onda de 510 nm, utilizando o kit reagente Creatinina K® - Labtest Diagnostica SA. A RPC urinária foi obtida calculando-se a razão entre os valores de proteína e creatinina expressos em mg/dL.

4.2 Momento da realização dos exames laboratoriais

Os exames laboratoriais dos animais submetidos à quimioterapia com doxorrubicina e carboplatina foram realizados no período compreendido entre 01 de julho de 2015 a 15 de abril de 2016 nos seguintes momentos:

Tempo zero (t0): antes do início do tratamento quimioterápico

Tempo 1 (t1) a “n” (tn): realizado ao final de cada ciclo completo de tratamento quimioterápico.

O período de acompanhamento dos animais em tratamento quimioterápico foi de no máximo seis meses a contar do tempo zero, podendo ter sido inferior a este em caso de interrupção do tratamento (por cura, óbito ou desistência).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de desenvolvimento do projeto, foram coletados dados de quatro animais, que foram diagnosticados com neoplasias epiteliais cujo tratamento incluía o uso de doxorrubicina e/ou carboplatina. Como o total de animais participantes foi menor do que o esperado no projeto inicial, optou-se por fazer uma análise descritiva dos resultados. Os dados obtidos foram tabulados de acordo com o tempo das coletas, como citado anteriormente. Por questões de protocolos quimioterápicos diferentes, as amostras de urina foram colhidas ao final de cada ciclo completo do tratamento.

O animal 1 (Poodle, fêmea, 10 anos) foi atendido no HOVET UNISA com histórico de neoformação em região inguinal e em cadeia mamaria, 20 dias após dar cria. À palpação notou-se formação inguinal de aproximadamente 7cm, firme e aderida, palpável ao toque vaginal, além de diversas formações em ambas cadeias mamárias, modulares, parcialmente aderidas e não ulceradas, sendo a maior de aproximadamente 1cm. O animal foi submetido a citologia, a qual sugeriu tumor de células basais. Foi solicitado exames de triagem para melhor estadiamento das formações (perfil oncológico o qual envolve hemograma completo, função renal, função hepática, glicemia, raio X de tórax, ultrassom abdominal e urina 1), descartando-se a presença de metástases. O animal foi submetido à ovariohisterectomia e mastectomia parcial. As formações foram submetidas à histopatológico, o qual diagnosticou Carcinoma mamário grau III. Após melhora de pós operatório, foi indicada quimioterapia no animal com Doxorrubicina (1mg/kg) e Carboplatina (300mg/m²) seguindo a seguinte ordem: Primeira sessão administrado Doxorrubicina, segunda sessão administrado Carboplatina e demais sessões seguindo esta mesma ordem com alternância dos quimioterápicos, conforme recomenda RODASKI e NARDI [8]. De acordo com o proprietário, após a primeira sessão de quimioterapia, o animal apresentou episódios eméticos por quatro dias e prostração, notando posterior melhora, sem demais alterações. Durante o tratamento, houve queixa de cansaço fácil. Ao exame radiográfico, foi revelado presença de metástase pulmonar. O tratamento quimioterápico foi mantido até o final. O exame de urina revelou a ocorrência de cistite não bacteriana após a quarta e quinta sessão de quimioterapia, porém não houve alterações na análise de RPC. O animal foi

acompanhado por um período de 5 meses após quimioterapia, sendo este interrompido, já que o mesmo veio à óbito.

O animal 2 (Cocker Spaniel, fêmea, 9 anos) foi encaminhada ao HOVET UNISA após pós operatório de mastectomia em colega. A cadeia mamária retirada foi submetida ao histopatológico, o qual diagnosticou Carcinoma complexo grau III. Foram feitos exames de triagem no animal para melhor estadiamento do tumor, o qual descartou suspeitas de metástases. A quimioterapia foi indicada ao animal, sendo esta administrada com Carboplatina (300mg/m² na diluição de 1:20 mL) e Piroxicam (0,3 mg/kg VO SID). Ainda, havia presença de cistite no animal, a qual foi primeiramente tratada, para depois iniciar a quimioterapia. O animal apresentou apatia após as sessões de quimioterapia, porém alterações mais graves não foram observadas. Durante o tratamento, o animal apresentou cistite bacteriana após a última sessão de quimioterapia, porém esta também não alterou a análise de RPC. Após termino de tratamento quimioterápico, o animal foi acompanhado por um período de 6 meses, onde começou a apresentar convulsões tônico-clônicas, suspeitando-se de metástase cerebral e o mesmo está em acompanhamento no HOVET UNISA até o presente momento.

O animal 3 (Lhasa Apso, fêmea, 10 anos) foi atendido no HOVET UNISA com queixa de claudicação em membro pélvico, sendo esta diagnosticada como ruptura de ligamento cruzado cranial. Durante o exame físico, observou-se formação em 5ª mama esquerda, de aproximadamente 3cm, firme, não ulcerada e não aderida. Foram feitos exames de triagem (perfil oncológico) para melhor estadiamento tumoral, descartando-se a presença de metástases. O animal foi submetido à mastectomia parcial; a amostra foi levada para análise (histopatológico) a qual revelou Adenocarcinoma tubular grau II e mastite supurativa. Foi indicado quimioterapia com protocolo monoquimioterápico apenas com Carboplatina (300mg/m² na diluição de 1:20 mL). Devido ao recesso de final de ano do HOVET UNISA, não foi colhida a urina referente à segunda sessão de quimioterapia. No período entre a segunda e terceira sessão de quimioterapia, o animal apresentou quadro de leucopenia, sendo este corrigido através da administração de Timomodulina (1 cápsula VO SID). Não foram relatadas outras alterações. Os exames de urinálise revelaram a presença de traços ou 1+ de proteína em todas as coletas, porém estas não revelaram alterações importantes ao exame de RPC. O exame de urina referente à segunda sessão de quimioterapia acusou cistite, mas este achado também não interferiu no resultado da

análise de RPC. Ao término do protocolo quimioterápico, o animal foi acompanhando por um período de 6 meses e nesse período não houve recidiva tumoral.

O animal 4 (SRD, macho, 12 anos) veio para o HOVET UNISA com queixa de disquesia, hematoquesia e sangramento em região anal a esclarecer. Ao exame físico, notou-se sensibilidade em região perianal e mucosa retal hiperêmica. Ao toque retal, notou-se irregularidade da mucosa. Suspeitou-se de neoplasia retal ou doença intestinal inflamatória. O animal foi submetido à citologia esfoliativa da região, a qual sugeriu adenocarcinoma. Foram feitos exames de triagem (perfil oncológico) para melhor estadiamento tumoral, onde descartou-se a presença de metástases. O animal foi submetido à intervenção cirúrgica para biópsia e colonoscopia. O resultado da análise (histopatológico) confirmou a suspeita citológica de adenocarcinoma anal tipo viloso. Logo, o animal foi encaminhado para quimioterapia, onde foi administrado apenas Carboplatina (300mg/m² na diluição de 1:20 mL). O animal apresentou apatia após algumas sessões de quimioterapia, porém o proprietário negou alterações mais severas. No exame de urinálise, em todas as amostras foi encontrado traços ou 1+ de proteína., mas isto também não revelou alterações ao exame de RPC. Em algumas amostras havia presença de sangue oculto, 2+ de bilirrubina e nas amostras coletadas após a primeira e a segunda sessão de quimioterapia, havia cistite, mas estes achados também não interferiram nos resultados da análise de RPC. Ao término do protocolo quimioterápico, o animal foi acompanhado por um período de 4 meses, sendo este interrompido, devido à óbito. Ao resultado da necropsia, a causa mortis foi Choque hipovolêmico, devido à dilatação e torção gástrica.

As tabelas de 1 a 4, mostram os protocolos quimioterápicos utilizados, os tempos em que foram coletadas as amostras de urina (t1, t2, t3...) e os resultados obtidos para proteína urinária, creatinina urinária e RPC, para cada um dos animais utilizados neste estudo. As urinas foram coletadas de acordo com as sessões de quimioterapia, que só foram realizadas quando os animais não apresentassem alterações graves, isto é, estivessem hígidos, aptos a receber uma nova dose do quimioterápico, sendo T0 a amostra coletada antes do início do tratamento quimioterápico e os posteriores tempos às amostras coletadas ao final de cada ciclo da quimioterapia.

Tabela 1: Animal 1 – Protocolo: Carboplatina + Doxorrubicina Momento da coleta de urina e resultados de Proteína urinária (mg/dL), Creatinina urinária (mg/dL) e Relação Proteína-Creatinina Urinária (RPC), São Paulo, 2016.

Momento da coleta	Proteína urinária (mg/dl)	Creatinina urinária (mg/dl)	RPC
T0	- *	-	-
T1 (22 dias após t0)	10,7	211,7	0,05
T2 (20 dias após t1)	12,9	181,7	0,07
T3 (27 dias após t2)	6,0	96,7	0,06
T4 (14 dias após t3)	-	-	-
T5 (28 dias após t4)	5,5	103,5	0,05
T6 (13 dias após t5)	10,7	193,5	0,05

* amostra não coletada

Tabela 2.: Animal 2 – Protocolo: Carboplatina Datas das coletas de urina e resultados de Proteína urinária (mg/dL), Creatinina urinária (mg/dL) e Relação Proteína-Creatinina Urinária (RPC), São Paulo, 2016.

Momento da coleta	Proteína urinária (mg/dl)	Creatinina urinária (mg/dl)	RPC
T0	4,2	80,5	0,05
T1 (28 dias após t0)	- *	-	-
T2 (39 dias após t1)	5,2	76,0	0,06
T3 (20 dias após t2)	-	-	-
T4 (15 dias após t3)	7,4	39,0	0,18
T5 (20 dias após t4)	12,6	78,2	0,16

* amostra não coletada

Tabela 3.: Animal 3 – Protocolo: Carboplatina Datas das coletas de urina e resultados de Proteína urinária (mg/dL), Creatinina urinária (mg/dL) e Relação Proteína-Creatinina Urinária (RPC), São Paulo, 2016.

Momento da coleta	Proteína urinária (mg/dl)	Creatinina urinária (mg/dl)	RPC
T0	- *	-	-
T1 (14 dias após t0)	3,9	130,0	0,03
T2 (20 dias após t1)	-	-	-
T3 (27 dias após t2)	82,1	143,2	0,57
T4 (28 dias após t3)	3,2	147,0	0,02
T5 (13 dias após t4)	7,4	143,0	0,05
T6 (22 dias após t5)	6,9	172,0	0,04

* amostra não coletada

Tabela 4.: Animal 4 – Protocolo: Carboplatina Datas das coletas de urina e resultados de Proteína urinária (mg/dL), Creatinina urinária (mg/dL) e Relação Proteína-Creatinina Urinária (RPC), São Paulo, 2016.

Momento da coleta	Proteína urinária (mg/dl)	Creatinina urinária (mg/dl)	RPC
T0	18,3	267,0	0,06
T1 (24 dias após t0)	27,7	297,0	0,09
T2 (18 dias após t1)	21,5	213,0	0,1
T3 (20 dias após t2)	21,8	218,0	0,09
T4 (21 dias após t3)	12,9	156,5	0,08
T5 (21 dias após t4)	17,8	296,0	0,06
T6 (14 dias após t5)	25,1	252,0	0,09

Para o desenvolvimento desde projeto, inicialmente o mesmo foi apresentado aos proprietários quando era explicada a importância do estudo. A partir daí, os proprietários que estivessem de acordo autorizavam a participação de seus animais por meio de um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO I). Os animais utilizados neste estudo foram escolhidos de acordo com o diagnóstico de neoplasia com indicação de uso dos protocolos de quimioterapia utilizando doxorrubicina e/ou carboplatina.

Acredita-se que a baixa adesão de proprietários tenha ocorrido pela falta de ciência do estudo, pois nem sempre a primeira abordagem ao proprietário dos animais em quimioterapia com as drogas utilizadas neste estudo foi realizada por membros do projeto.

Durante o acompanhamento dos animais do estudo verificamos que algumas amostras de urina não foram coletadas. Este fato pode ser atribuído a alguns fatores abaixo relacionados. Por se tratar de um Hospital Escola, ocorre um rodízio tanto de estagiários como de residentes no setor de cirurgia. Dessa forma, o acompanhamento desses animais nem sempre é realizado por um mesmo médico veterinário. Ainda nesse contexto, muitos proprietários não tinham disponibilidade de tempo para aguardar a coleta da urina, que por vezes poderia demorar, pois muitos animais tem o hábito de urinar antes de entrar no HOVET. E por fim, cabe ressaltar que houve um período de recesso do Hospital Veterinário da UNISA por motivos de datas festivas, de modo que algumas das sessões de quimioterapia foram realizadas por colegas que não coletaram material para esse estudo.

Dentre os animais presentes neste projeto, três deles apresentavam Carcinoma mamário em diferentes graus de malignidade e um único cão apresentava Adenocarcinoma anal. Em apenas um dos animais foi utilizada a associação poliquimioterápica (carboplatina + doxorrubicina). Além disso, durante o tratamento quimioterápico, não houve outras medicações administradas nos animais, tanto via oral, intramuscular ou intravenosa, que pudessem alterar a função renal, como por exemplo anti-inflamatórios, e/ou que pudessem causar resultados falso-positivos na análise das amostras, salvo o uso de protetores gástricos, durante e após a administração da quimioterapia.

Ao fazer a urinálise destes animais (de cada amostra) verificamos, em alguns momentos, a presença de proteína na urina, cistite, sangue oculto ou presença de cristais. A cistite, por exemplo, é um fator que poderia desencadear um resultado falso-

positivo em relação à amostra [41], porém isto não foi observado, visto que o resultado da RPC nessas amostras se manteve dentro dos parâmetros esperados para um animal sem alteração renal de acordo com o estadiamento proposto pela International Renal Interest Society (IRIS) [42]. A presença de sangue em algumas amostras, pode ser causado por alguns fatores, como o método de coleta por cistocentese, presença de uma cistite, glomerulonefrite, infecção urinaria, cálculos vesicais, traumas, trombocitopenia, coagulopatias, parasitas renais e entre outros [43]. A presença de proteína na urina, chamada de proteinúria, primeiramente pode ser classificada em causas pré renais, renais ou pós renais e pode estar associada com a presença de hemoglobina na urina, em casos de hemólise, ou significar um caso mais grave, indicando uma glomerulonefrite, infecção, inflamação, neoplasia ou doenças metabólicas ou cardiovasculares [42]. Dentre as causas pré renais, a febre, o exercício intenso, convulsões ou excesso de frio ou calor se destacam. Já as causas renais estão relacionadas à danos na barreira de filtração glomerular e normalmente há vários tipos de proteínas presentes na urina. Por fim, a proteinuria pós renal pode ser associada a inflamações em alguma porção do trato urinário [44]. No entanto, nenhum desses achados revelou alterações importantes, que comprometessem a fisiologia renal do animal. Além disso, sabe-se que existem alguns fatores externos ao uso das drogas que também podem influenciar os resultados da análise, como por exemplo a malignidade dos tumores, desidratação ou certos tipos de dieta [8].

Finalizando, sabe-se que muitas das drogas antineoplásicas utilizadas em protocolos de quimioterapia causam certo tipo de nefrotoxicidade [8], porém de acordo com os resultados analisados, não houve nenhuma alteração digna de nota na relação proteina-creatinina urinaria desses animais. Observou-se que o animal três, apresentou um aumento na relação proteína-creatinina urinaria, de 0,03 mg/dl (2ª sessão de quimioterapia) para 0,57 mg/dl (4ª sessão de quimioterapia), o que poderia classificá-lo como proteinúrico, no entanto, na seguinte urina analisada, este valor diminuiu bruscamente (0,02 mg/dL), voltando aos valores normais de referência para a espécie, não justificando uma alteração renal ou apenas uma alteração renal transitória que não comprometeu a fisiologia renal e de outros sistemas do animal, conforme é observado em humanos, onde é possível, em algumas situações como por exemplo exposição ao frio ou calor, ocorrer uma proteinúria transitória sem causar lesão glomerular ou tubular pela ação da angiotensina II ou norepinefrina que podem aumentar a permeabilidade glomerular [45] chamada de proteinúria funcional.

6 CONCLUSÃO

O crescimento do atendimento de pacientes oncológicos no HOVET UNISA, bem como a utilização de diferentes protocolos quimioterápicos, justifica o desenho deste estudo. O tempo de desenvolvimento do projeto, considerando o número de sessões de quimioterapia, foi escasso o que fez com que fosse prorrogado o período de coleta até a finalização de todos os protocolos quimioterápicos. No entanto, de acordo com os testes realizados, não foram observados efeitos adversos da quimioterapia com doxorrubicina e/ou carboplatina na função renal dos animais avaliados. São necessários maiores estudos, envolvendo um maior número de animais participantes e mais tempo para melhor desenvolvimento do projeto, visto que este realizado em 12 meses não foi suficiente para concluir definitivamente que o uso dos antineoplásicos citados não causem alterações renais nos pacientes.

REFERÊNCIAS

[1] Santos FV. Principais antineoplásicos utilizados em cães e gatos e seus efeitos tóxicos. Revisão de literatura. Trabalho apresentado para o cumprimento de atividades referentes ao curso de Especialização Lato sensu em Clínica Médica e Cirúrgica em Pequenos Animais - UNIP, Juiz de Fora, 2009

[2] Pereira DM. Toxicidade de antineoplásicos. Revista científica eletrônica de medicina veterinária. Ano VI, nº 11, 2008

[3] Nelson RW, Couto CG. Prática da quimioterapia. Medicina interna de pequenos animais. 5ª ed, Rio de Janeiro, Ed. Elsevier, 2015, p. 1138-1142

[4] Nelson RW, Couto CG. Complicações da quimioterapia. Medicina interna de pequenos animais. 2ª ed, Rio de Janeiro, Ed. Guanabara, 2001

[5] Macewen EG, Young KM. Canine lymphoma and lymphoid leukemias. In: WITHROW SJ, MacEWEN EG. Small Animal Clinical Oncology, 2ª ed, Philadelphia. Saunders Company, 1996

[6] De Marco A, Gaetani M, Scarpinato B. Adriamycin: a new antibiotic with anti tumor activity. Cancer Chemotherapy Report, 1969

[7] Moore SA. Recent advances in chemotherapy for nonlymphoid malignant neoplasms. Small animal oncology, 1993

[8] Rodaski S, Nardi RB. Quimioterapia antineoplásica em cães e gatos. 1ª ed. Curitiba, Ed. MedVet, 2008

[9] Khanna C et al. Randomized controlled trial of doxorubicin versus dactinomycin in a multiagent protocol for treatment of dogs with malignant lymphoma. Journal of the American Animal Hospital Association, 1998.

[10] Rangel MMM, Cogliati B, Ubukata R, Costa-Casagrande TA. Aspectos gerais sobre os principais antineoplásicos utilizados na clínica veterinária de cães e gatos - revisão, 2009 p.38-52

[11] Haskell CM. Principles and practice of cancer chemotherapy. In: _____. Cancer treatment. Philadelphia, Saunders, 1990.

[12] Ogilvie GK. Cancer chemotherapy in veterinary medicine. In: _____. Clinical veterinary oncology handbook. Colorado, 1992

[13] Myers C. Anthracyclines and DNA intercalators. In: HOLLAND JF et al. Cancer medicine. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993

[14] Van-vleet JF et al. Effect of selenium-vitamin E and adriamycin induced cardiomyopathy in rabbits. American Journal Veterinary Research, 1978, v. 9, p. 997-1010

[15] Ogilvie GK et al. Weekly administration of low-dose doxorubicin for treatment of malignant lymphoma in dogs. Journal of the American Animal Hospital Association, 1991

[16] Hauck ML et al. Phase I trial of doxorubicin-containing low temperature sensitive liposomes in spontaneous canine tumors. Clinica Cancer Research, 2006

[17] Chiarri MG et al. Involvement of tumor necrosis factor and platelet-activating factor in the pathogenesis of experimental nephrosis in rats. Laboratory Investigation, 1994

[18] Garnick MB. Urologic complications. In: HOLLAND JF et al. Cancer medicine. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993

[19] Spinosa HS, Górniak SL, Bernardi MM. Farmacologia aplicada à medicina veterinária, 5ª ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2011.

[20] Agraharkar M, Nerenstone S, Plamisano J, Kaplan A. Carboplatin related hematuria and acute renal failure. University of Texas Medical Branch, Nov 1998.

[21] Lin H, Sue YM, Chou Y, Cheng CF, Chang CC et al. Activation of a nuclear factor of activated T-lymphocyte-3 (NFAT3) by oxidative stress in carboplatin-mediated renal apoptosis. Br J Pharmacol, 2010

[22] Lavalle GE, Bertagnolle AC, Cassali GD. Uso de carboplatina associada a inibidor de COX-2 no tratamento de carcinoma da glândula mamária de cadela com metástase em linfonodo, 2008

[23] Dagli MLZ. Agentes antineoplásicos. In: SPINOSA HS, GÓRNIAK SL, BERNARDI MM. Farmacologia aplicada à medicina veterinária, 5ª ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2011

[24] Dibartola SP. Urinary System. In: ETTINGER SJ, FELDMAN EC. Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat. St Louis. Saunders Elsevier, 2010. Cap 308, p. 1955-1966.

[25] Less et al. Assessment and Management of Proteinuria in Dogs and Cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (Small Animal). Journal of veterinary internal medicine, 19º ed, 2005, p.377-385.

[26] Chew, Dennis J, Dibartola, Stephen P, Schenck, Patricia A, Urologia e nefrologia do cão e do gato. 2 ed, Rio de Janeiro. Elsevier: 2011

[27] Ruggenenti P, Perna A, Mosconi L, Pisoni R, Remuzzi G. Urinary protein excretion rate is the best independent predictor of ESRF in non- diabetic proteinuric chronic nephropathies. *Kidney International*, New York, 1998, v. 53, n. 5, p. 1209-1216.

[28] Brantsma AH; Bakker SJ; De Zeeuw D; De Jong PE; Gansevoort RT. Extended prognostic value of urinary albumin excretion for cardiovascular events. *Journal of the American Society of Nephrology*, Baltimore, 2008, v. 19, n. 9, p. 1785-1791.

[29] Forterre S, Raila J, Schweigert FJ. Protein pro ling of urine from dogs with renal disease using ProteinChip analysis; *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2014, v. 16, n. 4, p. 271-277.

[30] Jacob F, Polzin DJ, Osborne CA, Neaton JD, Kirk CA, Allen TA et al. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Ithaca, 2005, v. 226, n. 3, p. 393-400.

[31] Finco DR. Kidney function. In: KANEKO JJ, HARVEY JW, BRESS ML. Clinical biochemistry of domestic animals. California: Academic Press, 1997. Cap. 17. p. 441-479.

[32] Moore FM, Brum SL, Brown L. Urine protein determination in dogs and cats: comparison of dipstick and sulfosalicylic acid procedures. *Veterinary Clinical Pathology*, Baton Rouge, 1991, v. 20, n. 4, p. 95-97

[33] Syme HM. Proteinuria in cats – prognostic marker or mediator? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, London, 2009, v. 11, n. 3, p. 211-218.

[34] Vaden SL, Pressler BM, Lappin MR, Jensen WA. Effects of urinary tract in ammation and sample blood contamination on urine albumin and total protein concentrations in canine urine samples. *Veterinary Clinical Pathology*, Baton Rouge, 2004, v. 33, n. 1, p. 14-19.

[35] Stockham SL, Scott MA. Urinary system. In:_____. Fundamentals of veterinary clinical pathology. Ames: Blackwell publishing, 2008. Cap.8. p.433-487.

[36] Welles EG, Whatley EM, Hall AS, Wright JC. Comparison of Multistix PRO dipsticks with other biochemical assays for determining urine protein (UP), urine creatinine (UC) and UP:UC ratio in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, Baton Rouge, 2006, v. 35, n. 1, p. 31-36.

[37] Grauer GF. Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 2005.
_____. Measurement, interpretation, and implications of proteinuria and albuminuria. Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice, Philadelphia, 2007, v. 37, n. 2, p. 283-295.
_____. Proteinuria: measurement and interpretation. Topics in Companion Animal Medicine, New York, 2011, v. 26, n. 3, p. 121-127.

[38] Vassalotti JA, Stevens LA, Levey AS. Testing for chronic kidney disease: a position statement from the National Kidney Foundation. *American Journal Kidney Diseases*, Philadelphia, 2007, v. 50, n. 2, p. 169-180.

[39] Rossing P, Hommel E, Smidt UM, Parving HH. Reduction of albuminuria predicts beneficial effect on diminishing the progression of human diabetic nephropathy during antihypertensive treatment. *Diabetologia*, Bristol, v. 37, n. 5, p. 511-516, 1994.

[40] Castro et al. Avaliação da relação proteína-creatinina urinária em gatos com doença renal crônica. Pesquisa Veterinária Brasileira 2009, p.605-609.

[41] Trall MA. Hematologia e Bioquímica Veterinária. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007

[42] IRIS - International renal interest society

[43] Feitosa FLF. Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico. 2ª ed, São Paulo: Ed. Roca, 2008

[44] Reine NJ, Langston CE. Urinalysis interpretation: how to squeeze out the maximum information from a small sample. Clinical techniques in small animal practice. New York, 2005 v.20, n. 2-10.

[45] Riella MC. Princípios de nefrologia e distúrbios eletrolíticos; 5ª ed. 2010 p. 284-286

ANEXO I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisadores responsáveis: Elizabeth Bohland, Mariana Chiconello de Oliveira, Claudia Prado de Brito, Fábio Novelli, Martorelli, Gustavo da Silva Schiavi
Telefone para contato: (11) 21418858

Sua colaboração é importante e necessária para o desenvolvimento da pesquisa.

- A pesquisa analisa o efeito de drogas utilizadas nos tratamentos oncológicos sobre a função renal dos cães atendidos pelo serviço de oncologia do HOVET UNISA e será realizada através da coleta de sangue e urina do animal;

- Você poderá solicitar informações ou esclarecimentos sobre o andamento da pesquisa em qualquer momento com o pesquisador responsável, sendo o resultado do exame informado por e-mail ou telefone;

Eu, _____ como voluntária da pesquisa, afirmo que fui devidamente informada respeito dos procedimentos a serem realizados para colheita de material biológico (sangue e urina) com o animal acima identificado, o qual sou responsável e proprietário de seu domicílio, e reconheço ainda a importância deste trabalho para avaliar os efeitos do tratamento quimioterápico sobre a função renal e saúde do animal sob meus cuidados. Meu nome não será divulgado de forma nenhuma e terei a opção de retirar meu consentimento a qualquer momento.

São Paulo, ___ de _____ de 201___

_____

(Assinatura do representante legal (proprietário) do sujeito de pesquisa)

_____

Assinatura do pesquisador