

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA**

**Efecto de la Asociación de Dieta, Omega Tres  
y Antioxidantes en Perros con Enfermedad  
Renal Crónica**

**Pillar Gomide do Valle**

**Belo Horizonte  
Escola de Veterinária – UFMG  
2014**

**PILLAR GOMIDE DO VALLE**

**Efecto de la Asociación de Dieta, Omega Tres  
y Antioxidantes en Perros con Enfermedad  
Renal Crónica**

Tesis de Maestría presentada ante el Programa de Posgrado en Medicina Veterinaria de la Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para la obtención del grado de Magíster en Medicina Veterinaria.

Área de conocimiento: Clínica Médica Veterinaria y Cirugía Veterinaria.

Prof. Tutor: Júlio César Cambraia Veado

**Belo Horizonte  
Escola de Veterinária – UFMG  
2014**

Tesis de Maestría defendida y aprobada el .../...../..... por la Comisión Examinadora compuesta por siguientes miembros:

---

**Profesor Tutor Júlio César Cambraia Veado**

---

**Profesor Vítor Márcio Ribeiro**

---

**Profesor Rubens Antônio Carneiro**

*“El animal camina hacia la condición de hombre, tanto como el hombre evoluciona tras las huellas de los ángeles”*

Emmanuel, 1988.

**DEDICATORIA** a mi familia, a mis amigos y a mi tutor. Dedico este trabajo, también, a los perros, que son la razón de este emprendimiento. Espero que este estudio sirva para abrir un nuevo camino en la calidad de vida de los pacientes que sufren enfermedades renales.

## AGRADECIMIENTOS

A mi padre, Pedro Maurício de Valle, y a mi madre, Patrícia Maria Gomide do Valle, que siempre participaron activamente en todos mis proyectos, haciendo todo más llevadero.

A mis hermanos, André y Arthur, por su amor y apoyo incondicional.

A toda mi familia, principalmente, a Glória Gomide, por ser ejemplo y fuente de inspiración para mi nuevo camino en la docencia.

A mi tutor y amigo, Júlio César Cambraia Veado, por la confianza, la oportunidad y por volver posible la realización de mis mayores sueños.

A mi gran compañero, Leonardo Henrique de Souza Soares.

A los miembros de la mesa examinadora, Vítor Márcio Ribeiro, Rubens Antônio Carneiro y Fabíola de Oliveira Paes Leme por el aprendizaje y colaboración.

En especial, a la Profesora Maria Isabel Vaz de Melo, por su inmensa colaboración en la parte estadística de este trabajo y por toda la atención que siempre brinda con tanto cariño.

Al laboratorio Labyes Especialidades Veterinarias, por la oportunidad y la confianza, que me permitió desarrollar esta investigación con un producto de su línea comercial.

A la CAPES por la beca que me concedieron.

Al Laboratorio Tecsá por la rapidez y disponibilidad en la atención, siempre cordial.

A los amigos Tathiana Mourão dos Anjos, Paulo César Coelho, Luiz Fernando Lucas Ferreira, Leonardo de Freitas Lucas, Kilder Alves Arantes, Renata Maria de Castro Leite y Kátia Lopes, por el apoyo que me brindaron para la construcción de este trabajo.

A todos los profesores de Medicina Veterinaria de la PUC-Betim y de la Escola de Veterinária da UFMG que contribuyeron y contribuyen a mi formación.

A los responsables de los animales, que posibilitaron la ejecución de esta investigación, y a sus perros, por la inmensa contribución.

A Duda, Zelda y Branca (*in memoriam*) por la total influencia en mi elección profesional y a Allegra, Marie y Yoshi, por formar parte de mi vida.

A los animales, por existir.

A todos los que, de algún modo, contribuyeron a esta construcción.

A Dios, Nuestra Señora y todos mis amigos espirituales que son mis guías e inspiración.

	RESUMEN .....	12
	ABSTRACT	
1.	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	12
2.	<b>REVISIÓN DE LA LITERATURA</b> .....	13
2.1.1.	Enfermedad renal crónica .....	13
2.1.2.	Etiopatogenia .....	13
2.1.3.	Diagnóstico y evaluación de laboratorio .....	15
2.1.4.	Establecimiento del estadio de la enfermedad renal crónica .....	18
2.1.5.	Tratamiento.....	19
2.1.6.	Ácidos Grasos Poliinsaturados en la terapia de la enfermedad renal crónica .....	21
2.1.7.	Antioxidantes en la terapia de la enfermedad renal crónica .....	26
3.	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	29
3.1.	Animales .....	29
3.2.	Alimentación.....	30
3.3.	Gerioox <sup>®</sup> .....	30
3.4.	Protocolo de estudio .....	31
3.5.	Análisis de los pacientes .....	31
3.5.1.	Admisión del paciente .....	31
3.6.	Recolección de materiales .....	32
3.6.1.	Evaluación de la TFG .....	33
3.7	Diseño experimental y análisis estadístico .....	34
4.	<b>RESULTADO Y DISCUSIÓN</b> .....	34
4.1.	Observaciones clínicas.....	34
4.2.	Alteraciones hematológicas .....	34
4.2.	Alteraciones bioquímicas séricas.....	37
4.3.	Alteraciones bioquímicas urinarias.....	41
4.4.	Evaluación de la correlación entre los exámenes realizados .....	47
5.	<b>CONCLUSIONES</b> .....	48
6.	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	49
7.	<b>ANEXOS</b> .....	55
	ANEXO I – Certificado del Comité de Ética en Experimentación Animal .....	55
	ANEXO II – Acuerdo de Consentimiento Libre e Informado .....	56
	ANEXO III – Prospecto Gerioox <sup>®</sup> .....	57
	ANEXO IV – Historia Clínica.....	58
	ANEXO V – Valores de Referencia.....	59

---

**LISTA DE TABLAS**

---

Pág.

Tabla 1	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de hematocrito de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	35
Tabla 2	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de plaquetas de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	36
Tabla 3	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de leucocitos de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	37
Tabla 4	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de urea sérica de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	38
Tabla 5	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de creatinina sérica de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	38
Tabla 6	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de fósforo sérico de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	39
Tabla 7	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de calcio sérico de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	40
Tabla 8	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de glucemia de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	41

Tabla 9	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de densidad urinaria de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	42
Tabla 10	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de pH urinario de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	42
Tabla 11	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de proteína urinaria de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	43
Tabla 12	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de creatinina urinaria de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	44
Tabla 13	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de la relación proteína creatinina urinaria de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	45
Tabla 14	Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de la tasa de filtración glomerular de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	46
Tabla 15	Correlaciones entre las evaluaciones de TFG y relación proteína creatinina urinaria, TFG y urea sérica, TFG y creatinina sérica, TFG y fósforo sérico, TFG y glucemia y relación proteína creatinina urinaria glucemia, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento	47

---

<b>LISTA DE FIGURAS</b>		Pág.
Figura 1	Principales funciones renales.....	16
Figura 2	Metabolismo de los ácidos grasos de las familias n-6 y n-3 .....	22

---

<b>LISTA DE CUADROS</b>		Pág.
Cuadro 1	Composición de Gerioox <sup>®</sup> y sus concentraciones.....	31
Cuadro 2	Momento de realización de las evaluaciones de los pacientes y exámenes .	32

---

## LISTA DE SIGLAS

---

AA	Ácido Araquidónico
ADHGL	Ácido Dihomo-Gamma-Linolénico
AG	Ácido Graso
AGE	Ácidos Grasos Esenciales
AGM	Ácidos Grasos Monoinsaturados
AGS	Ácidos Grasos Saturados
AL	Ácido Linoleico
ALN	Ácido Linolénico
AMP	Monofosfato Cíclico de Adenosina
ANOVA	Análisis de Varianza
Ccr	Clearence de Creatinina
COX	Ciclooxigenasa
Cu	Cobre
DBC	Diseño de Bloques al Azar
DHA	Ácido Docosaexanoico
dl	Decilitro
DRC	Enfermedad Renal Crónica
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
ERO	Especies Reactivas de Oxígeno
Fe	Hierro
IECA	Inhibidor de la Enzima Convertidora de Angiotensina
IRA	Insuficiencia Renal Aguda
IRC	Insuficiencia Renal Crónica
IRIS	<i>International Renal Interest Society</i>
Kg	Kilogramo
LT	Leucotrieno
MG	Miligramo
Min	Minuto
MI	Mililitro
Mn	Manganeso
PCI	Prostaciclina
PG	Prostaglandina
RPC	Relación Proteína Creatinina Urinaria
PTH	Hormona Paratiroidea
PUFA	Ácidos Grasos Poliinsaturados
PV	Peso Vivo
REM	Requerimiento Energético de Mantenimiento
Scr	Concentración Sérica de Creatinina
Se	Selenio
T	Tiempo
TFG	Tasa de Filtración Glomerular
TX	Tromboxano
Ucr	Concentración Urinaria de Creatinina
Uv	Volumen Urinario
Zn	Zinc
ω	Omega

## RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la contribución de la asociación medicamentosa de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina (Gerioox<sup>®</sup>), se estudiaron doce perros provenientes de la atención clínica ambulatoria del Hospital Veterinario de la UFMG, portadores de enfermedad renal crónica (DRC). Se realizaron exámenes de hemograma, medida de concentración sérica de calcio, fósforo, glucosa, urea y creatinina, análisis de orina, relación proteína creatinina urinaria y tasa de filtración glomerular (TFG) antes de iniciarse el experimento (T0), luego de 30 (T1), 90 (T2) y 120 días (T3). Hubo una correlación negativa significativa ( $P < 0,05$ ) entre la TFG y la relación proteína creatinina urinaria y la TFG y creatinina séricas. La mejoría del estado clínico de los pacientes estudiados se observó a través de los signos informados por sus responsables, respecto de mayor vitalidad y apetito, y a través de las observaciones clínicas, que dieron cuenta de mejorías en el estado general, del pelaje y de los parámetros analizados. De acuerdo con los resultados obtenidos para las condiciones establecidas para este experimento, puede concluirse que la asociación medicamentosa a base de omega 3 (Gerioox<sup>®</sup>) mejora el estado general de los portadores de DRC, mejora la excreción renal y no provoca aumento de la presión glomerular.

Palabras clave: ácidos grasos poliinsaturados, antioxidantes, renoprotección.

## ABSTRACT

In order to evaluate the contribution of the drug combination of omega 3, vitamin E, sodium selenite, copper gluconate, zinc gluconate, chondroitin sulfate and glucosamine (Gerioox<sup>®</sup>), twelve dogs from the outpatient service of the Veterinary Hospital UFMG, suffering from chronic kidney disease (CKD), were studied. Were performed exams blood count and measurement of serum calcium, phosphorus, glucose, urea and creatinine, urinalysis, urine protein creatinine ratio and glomerular filtration rate (GFR) before starting the experiment (T0), after 30 (T1), 90 (T2) and 120 days (T3). There was a negative correlation ( $P < 0.05$ ) between the GFR and urinary protein creatinine ratio and GFR and serum urea and creatinine. There was improvement in clinical status of patients studied signaling observed by tutors informing improves vitality and appetite and the clinical observations of improved overall health status, coat and parameters. According to the results obtained for the conditions for this experiment, it can be concluded that combination therapy based omega 3 (Gerioox<sup>®</sup>), improves the general condition of patients with CKD, improves renal excretion and not cause increased glomerular pressure.

Keywords: Polyunsaturated fatty acids, antioxidants, renoprotection.

## 1. Introducción

La enfermedad renal crónica (DRC) es una condición en la que los animales presentan riñones con características anatómicas y funcionales anormales. Esas alteraciones pueden ser causadas por malformaciones congénitas o genéticas o por procesos adquiridos; provocan incapacidad de ejercicio de una o más de sus funciones, manifestada por los animales de modo discreto o acentuado, y esa condición disminuye su tiempo de vida (Brown, 1999; Polzin, 2011; Veado, 2011; Bartges, 2012).

Las conductas para el manejo clínico de perros y gatos de edad madura con diagnóstico de DRC apuntan a maximizar la función renal residual, retardar la progresión de la enfermedad y aliviar los signos de uremia. Esos efectos se consiguen al mejorar la excreción, corregir el equilibrio electrolítico, ácido-básico, endocrino y nutricional (Hoskins, 2008; Veado, 2011; Bartges, 2012).

La terapia dietética permanece como base del tratamiento médico de estos animales. El objetivo principal del soporte nutricional de cualquier paciente con enfermedad crónica es el mantenimiento de la masa muscular magra y de la condición física ideal (Bartges, 2012).

A pesar de que se han propuesto protocolos estándar para el tratamiento de DRC, ha sido ampliamente discutido el uso de terapias auxiliares con acción renoprotectora, como es el caso de los efectos observados con el empleo de omega 3 (Brown *et al.*, 2000; Hernandez *et al.*, 2005; Veado, 2005).

Recientemente, salió a la venta en el mercado brasileño un medicamento que consiste en la asociación de omega ( $\omega$ ) 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina (Gerioox®), inicialmente desarrollado para la terapia geriátrica de perros y gatos, con acción antioxidante y condroprotectora. Se colocó la hipótesis de que esta asociación mejora la tasa de filtración glomerular, y disminuye la causa principal del avance de la DRC, la proteinuria.

Investigaciones intentan establecer qué efectos tiene el  $\omega$  3 sobre los riñones sanos, bajo agresión y enfermos. Además, no se ha agotado la evaluación acerca de los verdaderos efectos benéficos sobre los riñones de la asociación de  $\omega$  3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina (Gerioox®) (Veado *et al.*, 2013).

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la acción de  $\omega$  3 asociado con antioxidantes, como coadyuvante en perros portadores de DRC. Para tanto, se optó por un estudio clínico con la asociación medicamentosa de  $\omega$  3, vitamina E, selenio, cobre, zinc, sulfato de condroitina y glucosamina (Gerioox®).

## 2. Revisión de la Literatura

### 2.1.1. Enfermedad renal crónica

### 2.1.2. Etiopatogenia

La Enfermedad renal crónica consiste en una lesión renal y, en general, la pérdida progresiva e irreversible de las funciones renales. Se trata de una lesión renal persistente, por un período mínimo de tres meses, caracterizada por la pérdida definitiva e irreversible de masa funcional y/o estructural de uno o ambos riñones, observándose reducción de la tasa de filtración glomerular (TFG) (Polzin, 2011; Veado, 2011; Bartges, 2012).

A diferencia de lo que ocurre con la insuficiencia renal aguda (IRA), la causa de la DRC es difícil de determinar. En el riñón enfermo crónico, las nefronas presentan alteraciones que varían desde la atrofia grave y sustitución por tejido conjuntivo fibroso hasta la hipertrofia acentuada. Las alteraciones histopatológicas no son específicas para esta enfermedad y, por lo tanto, casi siempre la causa es desconocida (DiBartola, 2004; Grauer, 2010).

El origen de la DRC puede ser congénito, familiar o adquirido. En general, puede sospecharse que las causas sean congénitas o familiares sobre la base de la historia familiar y racial, la edad en que se manifestó la enfermedad renal o en los hallazgos a través de radiografías o ecografías (Grauer, 2010). La DRC adquirida puede ser el resultado de cualquier proceso patológico que cause

lesión a los glomérulos, túbulos, intersticios y/o vasos renales, y que provoque una pérdida irreversible de nefronas tal, que derive en insuficiencia renal primaria (Polzin, 2011). Entre las causas de DRC adquirida se destacan las enfermedades inmunológicas, amiloidosis, neoplasias, agentes nefrotóxicos, isquemia renal, causas inflamatorias o infecciosas, obstrucción del flujo urinario e idiopática. Estudios recientes han demostrado que las enfermedades glomerulares primarias son las principales desencadenantes de DRC en perros (Grauer, 2010).

Las lesiones asociadas con la pérdida masiva de nefronas conllevan la adaptación del parénquima renal, lo que promueve la hipertrofia e hiperplasia de las nefronas remanentes funcionales para compensar las nefronas lesionadas y perdidas (Polzin, 2011). La disminución gradual del número de nefronas compromete las funciones renales, lo que provoca varias alteraciones tales como la disminución de la excreción renal de fósforo, la pérdida del equilibrio ácido-básico y electrolítico, la disminución de la síntesis de eritropoyetina y calcitriol, la incapacidad de concentración urinaria y el compromiso de la TFG (Polzin *et al.*, 2005; Grauer, 2010).

La TFG de las nefronas hipertrofiadas aumenta, lo que genera sobrecarga y, así, la azotemia solo es detectada cuando hay pérdida del 75 % de las nefronas. La azotemia es el aumento de los niveles de residuos de nitrógeno no proteicos, tales como la urea y la creatinina en sangre (DiBartola, 2004; Polzin, 2011).

Según Brenner (1982), con la disminución del número de nefronas funcionales, los glomérulos remanentes sufren un proceso de hipertrofia debido a la hiperperfusión provocada por la reducción del lecho capilar glomerular total y la vasodilatación de sus arteriolas aferentes. La hiperperfusión genera hipertensión, hiperfiltración y lesión de las estructuras glomerulares. Estas alteraciones funcionales y morfológicas disminuyen la permeabilidad y selectividad glomerular, provocando el surgimiento de la proteinuria. Estas proteínas resultan lesivas para las estructuras tubulares, y estimulan la proliferación mesangial, al mismo tiempo en que las proteínas pasan a ser reabsorbidas, en gran escala, por el túbulo contorneado proximal. Según este autor, puede controlarse la progresión de la DRC disminuyendo la presión glomerular, con la modificación de la dieta del paciente o a través del uso de medicamentos.

Con relación al tejido renal, específicamente, la inflamación participa de forma activa en los mecanismos de avance de la lesión en esta enfermedad, independientemente de su etiología. En las enfermedades de acometimiento glomerular se postula, resumidamente, la siguiente secuencia de eventos (Vianna *et al.*, 2011):

Agresión glomerular con lesión persistente, que produce hipertensión capilar, aumento de la filtración glomerular y pasaje de proteínas al fluido tubular;

La proteinuria de origen glomerular aumenta la producción de angiotensina II y promueve la liberación de mediadores inflamatorios (citocinas y quimiocinas), que inducen la acumulación de células mononucleares en el intersticio renal;

El reclutamiento inicial de neutrófilos es sustituido por macrófagos y linfocitos T, que desencadenan la respuesta inmune, produciendo nefritis intersticial;

La respuesta de las células tubulares a este proceso inflamatorio por medio de lesión de la membrana basal y por la transición epitelial-mesenquimal, transformándose en fibroblastos intersticiales;

Los fibroblastos formados producen colágeno, que, a su vez, lesiona los vasos y túbulos renales, determinando eventualmente la formación de una cicatriz acelular.

Además de las glomerulopatías y enfermedades inmunomediadas, en las que el rol de la inflamación resulta evidente, los estudios han demostrado que también en otras etiologías de DRC la respuesta inflamatoria contribuye al avance de la lesión renal (Vianna *et al.*, 2011).

Entre los principales factores para el avance de la DRC se destacan: la hipertensión glomerular, la inflamación intrarrenal, la hiperlipidemia con peroxidación lipídica y la lesión renal inducida por el factor de crecimiento. Los lípidos oxidados, principalmente las partículas de lipoproteína de baja densidad, estimulan la proliferación de células mesangiales y la producción excesiva de matriz mesangial glomerular, este proceso es referido como glomeruloesclerosis (Brown, 1999).

Muchos de los cambios fisiopatológicos que ocurren en la DRC son consecuencias de mecanismos compensatorios. La TFG en las nefronas intactas hipertrofiadas aumenta en los animales portadores de DRC, en un intento de mantener una función renal adecuada; no obstante, la proteinuria y la glomerulosclerosis que tienen lugar en estas nefronas individuales conducen a daños y pérdida de mayor número de nefronas como consecuencia de esta hiperfiltración (Polzin, 2011; Grauer, 2010).

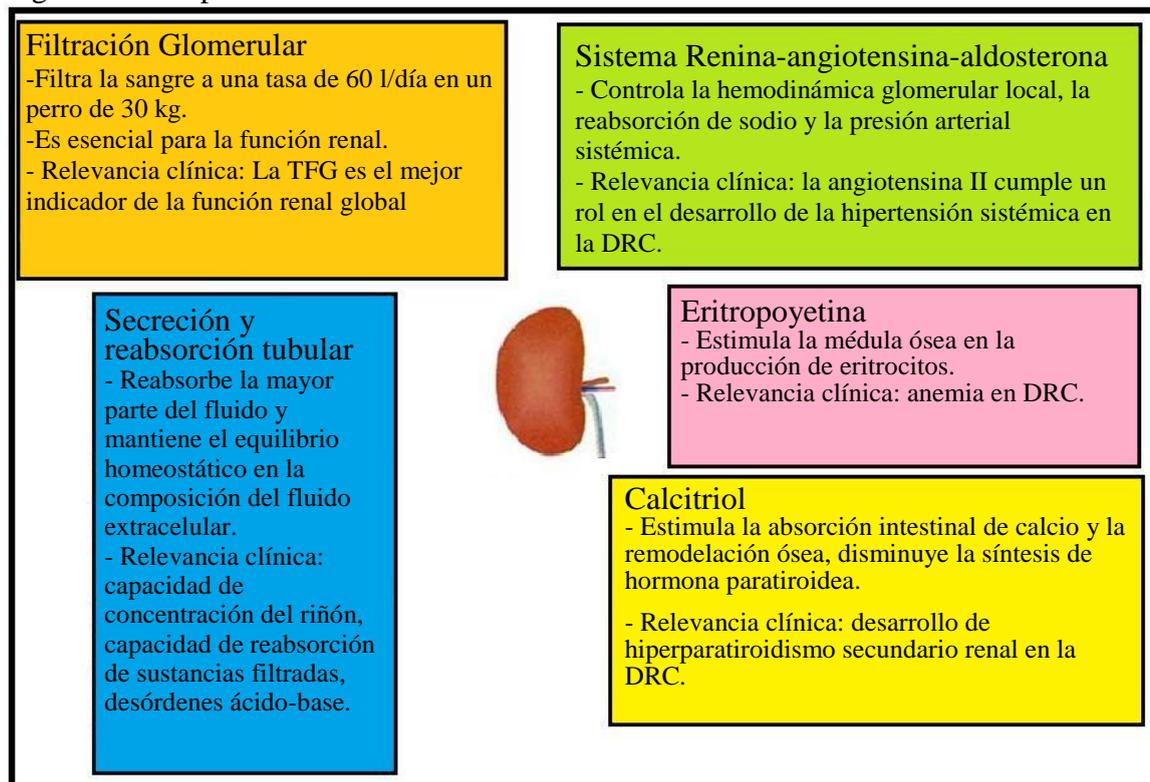
La hipertensión intraglomerular, el hiperparatiroidismo secundario renal, la hipertensión sistémica, la acidosis metabólica, las dislipidemias y las afecciones urinarias se consideran alteraciones importantes que también contribuyen al avance de la enfermedad, además del propio mecanismo compensatorio (Chew *et al.*, 2011; Polzin, 2011).

El comienzo y la gravedad de las alteraciones clínicas en pacientes con DRC pueden variar según la naturaleza, duración, presencia de enfermedad coexistente, edad del paciente y administración de agentes terapéuticos (Polzin *et al.*, 2005). La aparición de las manifestaciones clínicas es a consecuencia de la disminución de las funciones renales, acompañada de acumulación de metabolitos en el torrente sanguíneo, lo que constituye el síndrome urémico o, simplemente, uremia (Bergström, 1997 in Mafra *et al.*, 1999). Entre los componentes del síndrome urémico están: el desequilibrio hidroelectrolítico, la anemia, los desórdenes neurológicos, los desórdenes del tracto gastrointestinal, la osteodistrofia, la disfunción inmunológica y la acidosis metabólica (Grauer, 2010).

### **2.1.3. Diagnóstico y evaluación de laboratorio**

El diagnóstico de la DRC se realiza basado en la anamnesis, en el examen físico, en los hallazgos de laboratorio y, principalmente, por la presencia lesiones estructurales en los riñones (biopsia y/o diagnóstico por imagen) (Veado, 2011; Polzin, 2011). Aunque se considera que esta enfermedad afecta a los animales mayores, puede ocurrir a cualquier edad (DiBartola, 2004; Bartges, 2012).

Figura 1-Principales funciones renales



Fuente: Adaptado de Heiene y Lefebvre, 2007.

La evaluación de laboratorio junto con la anamnesis y el examen físico permiten la detección de las alteraciones y consecuencias de la DRC. Entre los signos específicos se encuentran el historial de pérdida de peso, la polidipsia, poliuria, la mala condición física y los riñones pequeños y de formas irregulares (Grauer, 2011). En los perros y gatos con DRC, la evaluación de laboratorio comúnmente muestra un aumento en la urea y creatinina sérica, hiperfosfatemia, acidosis metabólica y anemia no regenerativa. Generalmente, estos pacientes presentan densidad urinaria en el intervalo de variación isostenúrica (1,008 a 1,012) (Polzin *et al.*, 2005), además de hipocalcemia, hipercalcemia o hipocalcemia y proteinuria (Hoskins, 2008).

La proteinuria, albuminuria, es un importante indicador de la pérdida de permeabilidad de los capilares glomerulares. En la práctica, puede indicar daños tubulares y glomerulares de manera precoz (Polzin *et al.*, 2005, DiBartola, 2004). Barsanti y Finco (1979) sugieren que la determinación de la relación proteína creatinina urinarias (RPC) es mejor indicador de la pérdida de proteína que la medida de concentración de proteína en la orina aisladamente, ya que minimiza las alteraciones del volumen urinario. La determinación de RPC en una única recolección se considera sensible, rápida y segura para la detección y evaluación cuantitativa de la proteinuria. En muchos trabajos, la RPC aparece también bajo las siglas Pru:Cru, PU/CU o UPC (Grauer *et al.*, 1985).

Como se ha visto, el riñón tiene múltiples funciones (Figura 1) y una única prueba no logra evaluar todas simultáneamente. Existe, sin embargo, un consenso en nefrología humana y veterinaria acerca de que el medio de evaluación renal más sensible y relevante, en lo que se refiere a su capacidad depurativa, consiste en calcular la TFG (Heiene e Lefebvre, 2007).

La TFG (tasa de filtración glomerular, ultrafiltrado o depuración renal) se trata de la cantidad de filtración que pasa por unidad de tiempo y con un volumen de 2 a 4 ml/kg/min (Polzin, 2011). Para medir la TFG debe seleccionarse una sustancia que funcione como marcador. Esta sustancia debe estar presente en el torrente sanguíneo y debe ser excretada totalmente por los riñones. A través de una fórmula matemática y de los resultados de las concentraciones de la sustancia marcadora en la sangre y en la orina, se puede obtener el valor de TFG. Generalmente, se utiliza la creatinina como marcador de TFG (Brown *et al.*, 1997, DiBartola, 2004; Grauer, 2010).

Independientemente de la etiología de la enfermedad de base, el desenlace en pacientes con DRC está determinado por las complicaciones que, como ya fue mencionado, involucran anemia, acidosis metabólica, desnutrición y alteración del metabolismo del calcio y el fósforo, como consecuencias de la pérdida de la función renal (Kirsztajn *et al.*, 2011).

Estos datos dan cuenta de que los exámenes de laboratorio elegibles para el acompañamiento de la enfermedad son, básicamente, el hemograma completo, los valores séricos de calcio, fósforo, urea y creatinina, el análisis de orina y la relación proteína creatinina urinaria (Brown *et al.*, 1997).

En el hemograma completo, la alteración más frecuente es la anemia no regenerativa normocítica normocrómica (Scott, 2008; Brum *et al.*, 2012). La evaluación de proteínas plasmáticas totales concomitantes a la evaluación del volumen globular permite la detección precoz de la anemia en pacientes deshidratados. La hiperproteinemia también puede evaluarse en función de posibles enfermedades inflamatorias, infecciosas o neoplásicas, que pueden estar presentes simultáneamente con la enfermedad renal. Las alteraciones en los glóbulos blancos también pueden indicar infecciones (Scott, 2008; Chew *et al.*, 2011).

En el perfil bioquímico pueden detectarse alteraciones metabólicas como la hiperosfatemia, hipocalcemia, hipercalcemia o hipocalcemia. Además de las alteraciones metabólicas, es posible evaluar la TFG a través de las determinaciones de urea y creatinina sérica. Las interpretaciones de los resultados referentes a las concentraciones de urea y creatinina séricas deben ser criteriosas. Ambas pueden verse aumentadas indicando azotemia de tipo prerrenal, renal o posrrenal. La creatinina sérica es el principal indicador de TFG, y se encuentra alterada en la gran mayoría de los pacientes con enfermedad renal crónica. Los parámetros considerados normales en la concentración de creatinina sérica en perros son de 0,5 a 1,5 mg/dl. La urea no es un buen indicador del funcionamiento renal cuando se la compara con la creatinina, ya que puede verse alterada en función de la ingesta de proteína en la dieta. La concentración sérica normal de urea en perros es de 15 a 40 mg/dl (Grauer, 2010).

El análisis de orina provee datos importantes para el diagnóstico de DRC. Los valores de la densidad urinaria considerados normales en perros varían de 1,015 a 1,045. Una disminución en este valor y resultados entre 1,008 y 1,012 denotan el intervalo isostenúrico en que la densidad de la orina es igual a la del ultrafiltrado plasmático y ocurre, en la mayoría de las veces, cuando existe un proceso renal crónico en que las nefronas perdieron, parcial o totalmente, la capacidad de concentración de la orina debido a lesiones irreversibles (DiBartola, 2004; Polzin *et al.*, 2005).

La pérdida de proteínas detectada a través del análisis de orina también debe analizarse junto con la densidad urinaria. La proteinuria se clasifica según el lugar de la pérdida de proteína o con los mecanismos que indujeron a esta pérdida, tales como las causas prerrenales, renales y posrrenales (Barsanti e Finco, 1979). La proteinuria renal patológica es persistente y clasificada en glomerular, tubular o intersticial. La de origen glomerular ocurre debido a lesiones en la barrera de filtración glomerular que permite el pasaje de proteínas de alto peso molecular (incluyendo la albúmina); la proteinuria tubular se caracteriza por proteínas de bajo peso molecular y ocurre debido a la no reabsorción de las proteínas por las células tubulares del segmento proximal; la de origen renal intersticial surge a consecuencia de procesos inflamatorios que promueven la liberación de proteínas al espacio urinario (Less *et al.*, 2005).

La clasificación del paciente como proteinúrico debe realizarse solo luego de haber identificado y excluido factores pre o posrrenales de pérdida urinaria de proteína e, incluso, la confirmación de su persistencia por la determinación de su valor de la razón proteína creatinina urinaria (RPC) en diferentes momentos

(dos a tres ocasiones con un intervalo mínimo de 15 días) (Polzin *et al.*, 2005). La determinación de la RPC es indicada debido a la necesidad de clasificar la magnitud de la proteinuria, lo que no es posible a través de las tiras reactivas del método de química seca (Lees *et al.*, 2005; Grauer, 2010). El uso de RPC en una única muestra de orina para prever la pérdida cuantitativa de proteína urinaria se basa en la premisa de que, a lo largo del día, la depuración proteica renal se de forma constante, y la excreción de creatinina urinaria también se presenta constante en presencia de la tasa de filtración glomerular estable (Finco, 1995; Lees *et al.*, 2005).

#### **2.1.4. Establecimiento del estadio de la DRC**

La Sociedad Internacional de Interés Renal (IRIS), integrada por profesionales Médicos Veterinarios interesados en el área de nefrología, propone una forma de clasificación de la DRC en perros y gatos dividida en cuatro estadios de evolución (IRIS Staging System of CKD, 2009), a fin de conocer mejor la gravedad de la enfermedad y facilitar el tratamiento y acompañamiento del paciente. Esos estadios se establecen según las concentraciones séricas de creatinina del paciente. La creatinina es también el marcador de TFG, considerado como la mejor variable de laboratorio para empleo en la rutina clínica (Polzin, 2011). Los valores de creatinina sérica deben obtenerse con el paciente en ayunas e hidratado. Es necesario descartar las variaciones de creatinina transitorias prerrenales o posrrenales, aunque exista un diagnóstico ya establecido de DRC, debiendo considerarse también la condición física del paciente, en particular, la masa muscular, para evitar incurrir en una clasificación errónea (Polzin, 2011).

El estadio I de la DRC se define por estado no azotémico. La alteración renal presente, motivo del diagnóstico de DRC, se identificó a través de diagnóstico por imágenes (riñones disminuidos, hiperecóticos y con pérdida de la relación y de la definición corticomedular), inhabilidad renal de concentración urinaria, proteinuria renal y/o biopsia (Polzin, 2011). A partir de este estadio, resultan más significativas la incapacidad de concentrar orina y la proteinuria (Veado, 2011).

El estadio II se caracteriza por la presencia de discreta azotemia en evaluaciones seriadas (creatinina sérica entre 1,4 mg/dl y 2,0 mg/dl en perros). Los pacientes en los estadios I y II no presentan manifestaciones clínicas de disfunción renal, con excepción de poliuria y polidipsia (Polzin, 2011).

El estadio III se define por la presencia de azotemia en grado moderado (creatinina sérica entre 2,1 mg/dl y 5,0 mg/dl en perros). El paciente podrá presentar manifestaciones sistémicas de pérdida de la función renal (Polzin, 2011).

El estadio IV se caracteriza por la presencia de intensa azotemia (creatinina sérica superior a 5,0 mg/dl en perros y gatos). En este estadio, el paciente presenta una pérdida importante de la función renal, que puede estar relacionada con la falla renal y presenta manifestaciones sistémicas de uremia, como, por ejemplo, alteraciones gastrointestinales, neuromusculares o cardiovasculares (Polzin, 2011).

Además, en la clasificación propuesta por IRIS, hay subestadios, que están relacionados con la proteinuria renal y

con la hipertensión arterial sistémica, considerados como factores independientes de avance de la DRC, que interfieren en el pronóstico y requieren intervención terapéutica específica (Polzin, 2011).

La división en estadios de IRIS es una guía que ayuda a establecer el diagnóstico, el pronóstico y la terapia, según cada estadio de evolución de la enfermedad; posibilita, así, brindar una mejor calidad de vida al paciente, al reducir la velocidad de avance de la enfermedad (Polzin, 2011).

### **2.1.5. Tratamiento**

La terapia específica para perros y gatos con diagnóstico de DRC apuntan a maximizar la función renal residual y retardar la progresión de la enfermedad, además de aliviar los signos de uremia. Esos efectos se consiguen al mejorar la nutrición, la excreción renal, la corrección del equilibrio electrolítico, ácido-básico y endocrino (Hoskins, 2008; Veado, 2011; Bartges, 2012).

Las instrucciones médicas generales para el manejo de estos animales se realizan de modo individual, según el estadio de la enfermedad y los signos que presente cada paciente. La terapia dietética, la fluidoterapia, los agentes ligantes intestinales de fósforo, el control del vómito y la náusea, la estimulación de la médula ósea, la administración de esteroides anabólicos y el control de la hipertensión son algunas de las instrucciones indicadas para el manejo de estos pacientes (Hoskins, 2008).

Tanto la proteinuria como la hipertensión deben ser tratadas siempre que aparezcan, como también la anemia. La transfusión de sangre se recomienda cuando el hematocrito fuere inferior al 20 %, para mantener los valores entre 38 y 48 % en perros. Se debe atender también las enfermedades concomitantes que favorezcan la pérdida de la función renal (Polzin, 2011).

La terapia dietética es la base del tratamiento clínico de estos animales. Según Hoskins (2008), las dietas renales preparadas comercialmente proveen mejor el soporte nutricional. La desnutrición es la mayor causa de mortalidad en perros y gatos con DRC en los estadios III y IV, por eso, la introducción de la dieta terapéutica es enfáticamente indicada (Polzin, 2005). La nutrición enteral y/o parenteral puede ser necesaria (Polzin, 2011).

La pérdida de apetito en el paciente renal no está relacionada solo a la acción irritante de la mucosa gástrica provocada por la acumulación de residuos nitrogenados. Así como en medicina humana, el aumento de metabolitos tóxicos y la pérdida, aunque sea parcial, de la función reguladora del equilibrio electrolítico, ácido-básico y hormonal pueden provocar reducción del apetito, desórdenes gastrointestinales, acidosis metabólica, resistencia a la insulina, hiperparatiroidismo secundario e inflamación. Estas condiciones están asociadas a la disminución de la ingesta de alimentos y al hiperatabolismo (Martins *et al.*, 2011).

Las dietas indicadas específicamente para perros y gatos con DRC difieren de las dietas típicas de mantenimiento en varios

aspectos –el tenor proteico, así como el tenor de fósforo y sodio son reducidos, hay incremento de vitamina B, densidad calórica y fibras solubles, además de suplementación de ácidos grasos poliinsaturados  $\omega$  3 y adición de antioxidantes (Bartges e Polzin, 2011).

Las proteínas de alto valor biológico, caracterizadas por tener una alta digestibilidad y una cadena noble de aminoácidos, garantizan una menor formación de compuestos nitrogenados no proteicos. La presencia de fibras fermentables es utilizada por las bacterias gastrointestinales que utilizan la urea como fuente de nitrógeno para su crecimiento, disminuyendo así la uremia (Elliott, 2006).

La probable función reducida del parénquima renal para mantener la homeostasis del sodio y su consecuente retención puede resultar en hipertensión, por eso, las dietas terapéuticas tienen bajo tenor de sodio. La restricción de fósforo se recomienda para todos los perros, con la finalidad de retardar el avance de la enfermedad provocado por la acumulación de fosfato en el organismo, disminuyendo los riesgos de calcificación del tejido blando. Con todo, en estadios más avanzados de la enfermedad, es probable la necesidad del uso de quelantes, de modo a disminuir la biodisponibilidad del fósforo alimentario (Hoskins, 2008).

Las grasas y carbohidratos deben usarse para proveer todos los requerimientos calóricos de estos animales, promoviendo de este modo la reducción del catabolismo, la pérdida de peso y la acumulación de residuos nitrogenados (Fioravanti, 2002). El enriquecimiento de

la dieta con antioxidantes y flavonoides minimiza el estrés oxidativo, que contribuye al avance de la lesión (Brown, 2002; Elliott, 2006).

Para abordar acciones que apunten a prevenir, proteger y controlar el avance de la DRC, se ha utilizado el término renoprotección. La terapia renoprotectora está asociada con el uso de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, sin embargo, esta prescripción aislada raramente detiene el avance de la enfermedad. Una alternativa enfáticamente sugerida ha sido complementar el tratamiento con medidas auxiliares como, por ejemplo, el uso de ácidos grasos poliinsaturados (Tassini *et al.*, 2011).

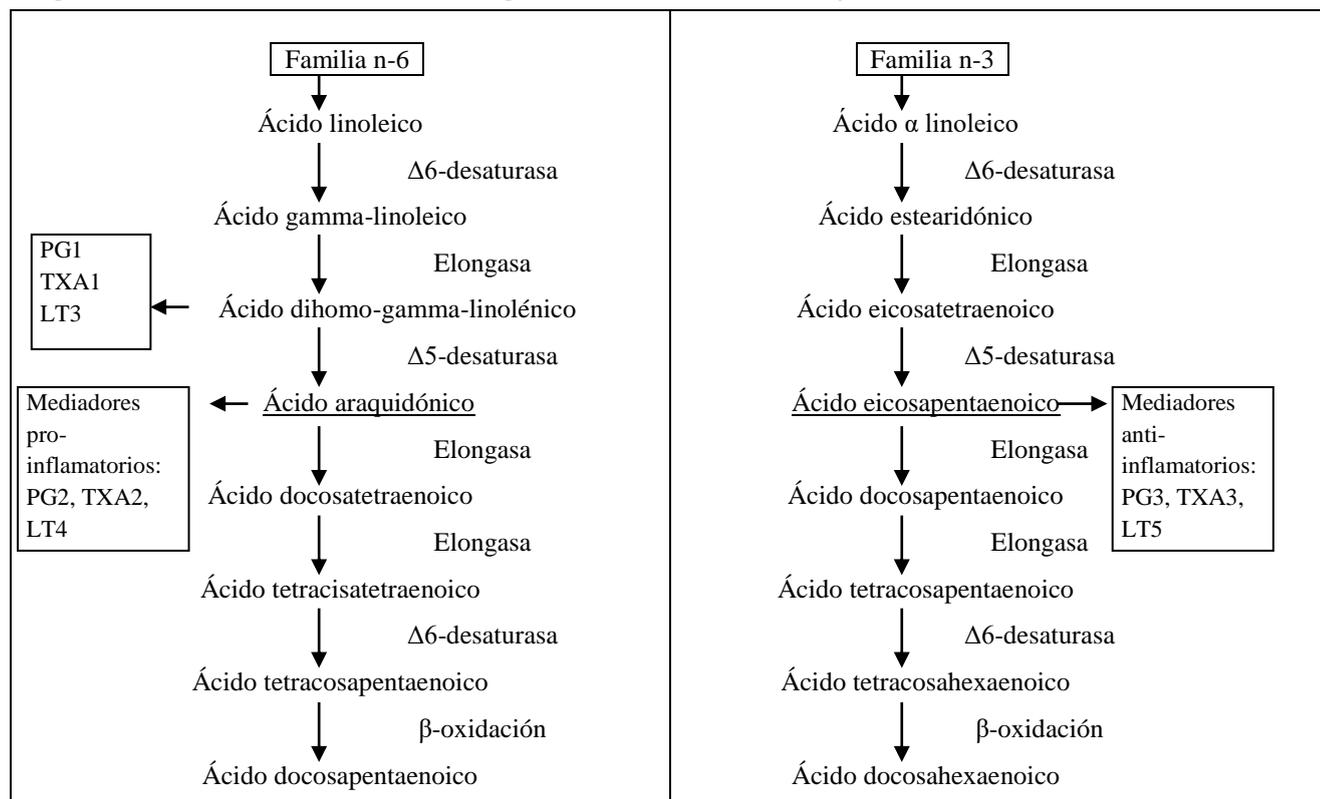
#### **2.1.6. Ácidos Grasos Poliinsaturados en la terapia de la enfermedad renal crónica**

Los ácidos grasos (AG) se clasifican según la presencia de dobles enlaces (insaturaciones) entre las cadenas de carbono. Se denominan Ácidos Grasos Saturados (AGS) en ausencia de dobles enlaces; Ácidos Grasos Monoinsaturados (AGMI) por la presencia de una insaturación o Ácidos Grasos Poliinsaturados (PUFA) por la presencia de dos o más insaturaciones (Perini, 2010).

Existen dos series de PUFA, que los animales y los humanos no pueden sintetizar y que deben suplirse con la dieta. La serie n-6 es derivada del Ácido Linoleico (AL) y la serie n-3, del Ácido Alfa-linolénico (ALN). A partir de estos PUFA se sintetizan los ácidos Araquidónico (AA), Eicosapentanoico (EPA) y Docosaenoico (DHA) (Souza, *et al.*, 2007; Perini *et al.*, 2010).

Los ácidos AL y ALN dan origen a otros PUFA a través de procesos de elongación (enzimas elongasas) y desaturación (enzimas desaturasas) de cadena carbónica, como se ilustra en la figura 2. Las desaturasas actúan oxidando dos carbonos de la cadena con formación de dobles enlaces y las elongasas actúan agregando dos átomos de carbono a la cadena. El proceso tiene lugar en el retículo endoplasmático, especialmente, en el hígado. Los AG  $\omega$  3 y  $\omega$  6 compiten por las mismas enzimas involucradas en las reacciones de desaturación y elongación, sin embargo, estas enzimas tienen mayor afinidad por los AG  $\omega$  3. Así, una dieta rica en  $\omega$  3 es capaz de disminuir la conversión del AL en AA, elevando la cantidad de EPA y DHA (Perini, 2010).

Figura 2: Metabolismo de los ácidos grasos de las familias n-6 y n-3



Fuente: Adaptado Perini, 2010.

Nota: PG1: prostaglandinas serie 1; PG2: prostaglandinas serie 2; PG3: prostaglandinas serie 3; TXA1: tromboxanos serie 1; TXA2: tromboxanos serie 2; TXA3: tromboxanos serie 3; LT3: leucotrienos serie 3; LT4: leucotrienos serie 4; LT5: leucotrienos serie 5.

Los eicosanoides son metabolitos oxigenados de los ácidos grasos esenciales y comprenden las prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX), leucotrienos (LT) y derivados de los ácidos grasos hidroxilados. Cada familia da origen a una serie diferente de eicosanoides. Los sustratos para la formación de los eicosanoides son los ácidos dihomo-gamma-linolénico (ADHGL), araquidónico (AA) y el ácido eicosapentaenoico (EPA). Para la síntesis de estas sustancias, el AG precursor es separado de los fosfolípidos de membrana por la acción de la fosfolipasa. Entonces, el AG resultante de la acción de la fosfolipasa es metabolizado. Cuando la vía de metabolización es la de la ciclooxigenasa, hay formación de endoperóxidos lábiles como los prostanoides: prostaglandinas

(PG), tromboxanos (TX) y prostaciclina (PGI) (Andrade e Carmo, 2006; Martins *et al.*, 2008).

Del metabolismo del AA, la ciclooxigenasa (COX) lleva la formación de PG y TX de la serie 2. Del metabolismo del EPA, la misma enzima es capaz de inducir la formación de las mismas eicosanoides, pero de la serie 3. Existen dos isoformas de COX: COX-1 enzima constitutiva y COX-2 inducible (König in Andrade e Carmo, 2006; Alexander in Martins *et al.*, 2008).

Los eicosanoides derivados de la familia ω 3 (EPA y DHA) compiten con el AA por el COX suprimiendo la formación de

los mediadores proinflamatorios LT y TX y favoreciendo la producción de las series con menor potencial inflamatorio. La variedad de efectos de los eicosanoides  $\omega$  3 y  $\omega$  6 han impulsado investigaciones sobre los efectos benéficos de alimentos ricos en PUFA en el tratamiento de condiciones inflamatorias (Alexander in Martins *et al.*, 2008)

Las prostaglandinas comprenden muchos subtipos, con diferentes funciones. La prostaglandina E (EPG) ha sido ampliamente investigada, en función de su importante rol como inmunomoduladora. Entre los tromboxanos, solo el tromboxano A (TXA) es activo, mientras el TXB es inactivo. Todos aquellos metabolitos formados a partir de AA reciben un sufijo "2" (PGE2, TXA2, PGI2) y aquellos oriundos del ácido EPA reciben el sufijo "3" (PGE3, TXA3, PGI3). El ADHGL da origen a prostaglandinas de tipo 1 (Andrade e Carmo, 2006).

Tanto la médula como el córtex renal sintetizan prostaglandinas. Los principales productos eicosanoides del córtex renal son la PGE2 y PGI2, ambos compuestos aumentan la liberación de renina, aunque esta liberación esté más directamente relacionada con los receptores  $\beta$  adrenérgicos. Las PGE2 y PGI2 aumentan la filtración glomerular gracias a sus efectos vasodilatadores. Estas prostaglandinas también aumentan la excreción de agua y sodio. No se sabe a ciencia cierta si el efecto natriurético es a causa de la inhibición directa de la reabsorción de sodio en el túbulo distal o por un aumento del flujo sanguíneo medular (Katzung, 2007).

Por un lado, las prostaglandinas, especialmente PGE2 y PGI2, ayudan a mantener el flujo sanguíneo renal y de la filtración glomerular, por otro lado, el tromboxano A2 (TXA2), otro metabolito de ciclooxigenasa, puede contribuir a la evolución de ciertas enfermedades renales. El TXA2 es un agente vasoconstrictor, que tiene una potente acción de agregación plaquetaria y de aglutinación de leucocitos, mientras que el TXA3 es biológicamente inerte (Scharschmid *et al.*, 1987).

El TXA2 provoca vasoconstricción intrarrenal resultando en la declinación de la función renal. El riñón normal sintetiza solo pequeñas cantidades de TXA2. No obstante, en condiciones renales que involucran infiltración de células inflamatorias, como en la glomerulonefritis, estas liberan cantidades considerables de TXA2. En teoría, los inhibidores de TXA2 sintasa o antagonistas de receptores deben mejorar la función renal de los pacientes con glomerulopatías (Katzung, 2007). Vale recordar que el  $\omega$  3 actúa inhibiendo la síntesis de mediadores proinflamatorios, derivados del AA como el TXA2, y aumenta la síntesis de mediadores antiinflamatorios como la PG3 (Caterina *et al.*, 1993, Bagga, 2003, Andrade e Carmo, 2006).

Otra vía de formación de eicosanoides es la vía de la lipooxigenasa, a la cual lleva la síntesis de leucotrienos. Del mismo modo que la formación de los prostanoïdes, los ácidos grasos esenciales (AGE) liberados de los fosfolípidos por las fosfolipasas son transformados en leucotrienos (LT) por la enzima 5-lipooxigenasa. De esta manera, tiene lugar

la formación del ácido hidroperóxido eicosanoico y del leucotrieno A, los que suceden la formación de los demás miembros activos de la familia de los leucotrienos, a saber, LTB, LTC, LTD y LTE. Los LT derivados de AA reciben un sufijo “4” y aquellos oriundos del ácido EPA reciben el sufijo “5”. Los LT derivados del ADHGL reciben el sufijo “3”, pero existe poca información disponible sobre su relevancia clínica y bioquímica (Andrade e Carmo, 2006).

La liberación de eicosanoides se ve estimulada por varias sustancias como las citocinas, complejos antígeno-anticuerpo, factores de crecimiento, radicales libres, colágenos y bradicininas. La disponibilidad de AGE es el regulador más importante de la formación de eicosanoides, los que competirán por las vías de ciclooxigenasa o de la lipooxigenasa (Parker in Andrade y Carmo, 2006).

Las funciones biológicas de los PUFA son muchas y, en su mayoría, no se encuentran bien definidas. Las funciones más importantes descritas en la literatura abarcan: mantenimiento de la integridad de las células endoteliales, prevención de aterosclerosis y alteraciones cardiovasculares; estimulación de la liberación de insulina; inhibición de la vasoconstricción y de la agregación plaquetaria; participación en el desarrollo normal de la placenta, del crecimiento fetal y desarrollo neuronal y participación en las funciones inmunomoduladoras (Andrade e Carmo, 2006).

Trabajos científicos relatan efectos renoprotectores del  $\omega$  3. Polzin (2011)

relata la disminución de la glomeruloesclerosis, de la fibrosis túbulo-intersticial y de infiltrados de células inflamatorias intersticiales en perros con suplemento de  $\omega$  3 en la dieta. Esos AG en la dieta pueden afectar la función renal a través de efectos sobre el metabolismo de eicosanoides renales (Scharschmid *et al.*, 1987, Brown 1999).

Además, el tratamiento con  $\omega$  3 ha sido asociado con una reducción clara del tromboxano, tanto en el plasma como en la orina, Caterina *et al.* (1993) propone que, debido a su acción vasoconstrictora, la reducción de la producción de tromboxanos renales puede estar ligada mecánicamente a la reducción observada de la proteinuria.

Lofgren *et al.* (1993) y Toft *et al.* (1995) relataron que el consumo de aceite de pescado, una importante fuente de  $\omega$  3, puede reducir la presión sanguínea por alteración de la síntesis de prostaglandina. Connor (2000) resalta la capacidad del  $\omega$  3 de reducir los riesgos de enfermedades cardiovasculares por sus propiedades hipolipemiantes y su capacidad de reducir la susceptibilidad del corazón –arritmia ventricular debido a las propiedades antiinflamatorias y antitrombóticas, que inhiben la síntesis de citocinas y agentes mitogénicos y estimulan el óxido nítrico derivado del endotelio, inhibiendo así la aterosclerosis.

De la misma forma, además de los efectos de reducción de la presión arterial, otro factor que puede estar relacionado con la disminución de glomeruloesclerosis es la acción del  $\omega$  3 en las prostaglandinas, en

la coagulación y en la reversión de la dislipidemia (Clark *et al.*, 1991).

Comparado con perros alimentados con dietas ricas en  $\omega$  6, aquellos que consumieron una dieta suplementada con  $\omega$  3 presentaron una menor mortalidad y mejor función renal. Las hipótesis acerca de este efecto son la tendencia del  $\omega$  3 a reducir las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos, su acción antioxidante, o el efecto que este AG tiene al limitar la calcificación intrarrenal, lo que impide el deterioro de la función renal y preserva su estructura (Brown *et al.*, 1998). La suplementación con  $\omega$  3 previno el deterioro de la filtración glomerular y preservó la estructura renal a través de la reducción de la hipertensión glomerular (Brown, 2002). En contrapartida, la suplementación con  $\omega$  6 promovió el avance de la enfermedad (Brown *et al.*, 1998).

El estudio de Wong *et al.* (2010) demostró que 12 semanas de suplemento de aceite de pescado en pacientes humanos con diabetes mellitus tipo 2 mejoró la función renal y redujo significativamente los niveles de triglicéridos séricos y de creatinina sérica. Clark *et al.* (1991), al estudiar ratones con DRC inducida, también demostraron la reducción de triglicéridos en el grupo en que había suplementación con aceite de pescado. La reducción en los triglicéridos, según los autores, puede cumplir algún rol en la reducción de la lesión vascular renal, ya que el grupo suplementado con aceite de pescado alcanzó índices de glomeruloesclerosis mucho menores que el grupo sin este suplemento. Los datos de este trabajo indican que el aceite de pescado inhibió el proceso de formación

de cicatrices, pero no la hiperfiltración. Además, este aceite aumenta la producción de prostaglandinas de la serie 3 y leucotrienos de la serie 5, que actúan predominantemente como vasodilatadores y antiplaquetarios, con la consecuente reducción de las reacciones inflamatorias.

La cuestión clave para Brown (1999) fue definir la proporción ideal de  $\omega$  6 :  $\omega$  3 en la dieta. En la composición dietética de ácidos grasos, la proporción de 0,2:1 a 5:1 ( $\omega$  6 :  $\omega$  3) se consideró un objetivo deseable para los perros con insuficiencia renal precoz. En 2002, Brown relata que la cantidad sugerida de  $\omega$  3 es de 0,5 a 1 grama para cada 100 kcal ingerida.

En un experimento realizado por Vaughn *et al.* (1994) con perros, se utilizaron relaciones dietéticas de  $\omega$  6: $\omega$  3 de 100:1, 50:1, 25:1, 10:1 y 5:1. Los autores verificaron que los neutrófilos de perros alimentados con la proporción de 10:1 y 5:1 sintetizaron 30 a 33 % menos leucotrienos B4 y 370 % a 500 % más leucotrieno B5. De ese modo, demostraron que solo en esas relaciones dietéticas de 10:1 y 5:1 los PUFA  $\omega$  3 modifican significativamente la producción de eicosanoides por neutrófilos de perros.

La posología ideal es de difícil determinación, ya que no existen trabajos que indiquen cuál sería la tasa de conversión del ALN ( $\omega$  3) para EPA y DHA y de AL ( $\omega$  6) para ADHGL y AA. Por ejemplo, una dieta con un 1 % de AL podría tener resultados diferentes de una dieta con 1 % de AA, ambos de la familia  $\omega$  6 (Carciofi *et al.*, 2002).

De este modo, es de esperarse que la asociación de  $\omega$  3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina contribuya a promover la reducción de la presión arterial y glomerular, inhibir la vasoconstricción y la agregación plaquetaria con la consecuente reducción de las reacciones inflamatorias, reducir los niveles de triglicéridos séricos, revertir las dislipidemias, limitar la calcificación intrarrenal e impedir así el deterioro de la función y preservar la estructura renal con la consecuente disminución de la glomeruloesclerosis (Clark *et al.*, 1991; Brown *et al.*, 1998; Brown, 2002; Andrade e Carmo, 2006).

### **2.1.7. Antioxidantes en la terapia de la enfermedad renal crónica**

Disminuir el avance de la DRC es crítico en la conducta a seguir en perros y gatos afectados. El estrés oxidativo renal es un factor hasta entonces desconocido en el avance de esta enfermedad en pequeños animales. El uso de drogas como antihipertensivos inhibidores de la enzima de conversión de la Angiotensina I en Angiotensina II (IECA), antagonistas de los canales de calcio, el uso del AG  $\omega$  3, además de otras terapias antiproteinúricas son comúnmente recomendados a estos pacientes. Con el uso de estas medidas terapéuticas, podría esperarse reducir el estrés oxidativo renal, disminuyendo la producción de especies de oxígeno reactivo (ERO) (Bartges y Polzin, 2011).

Tradicionalmente, el término estrés oxidativo describe el desequilibrio entre los oxidantes y los mecanismos antioxidantes de defensa (Scott, 2008;

Bartges y Polzin, 2011). En las células renales, una variedad de especies reactivas del metabolismo del oxígeno se produce en una condición basal a través del metabolismo aeróbico normal. Cuando existe hipertrofia e hipertensión glomerular, existe también aumento de la fosforilación oxidativa celular, lo que promueve el aumento de ERO, potencialmente lesivas para el tejido renal. La presencia de fibrosis intersticial en el tejido renal promueve la deficiencia en la actividad mitocondrial local, y también la generación de ERO (Galvão, 2009).

Las ERO cuya acción es importante para los riñones son el superóxido, el peróxido de hidrógeno, el radical hidroxilo, el ácido hipocloroso, el peróxido nitrito, el ácido peróxido nitroso y los hidroperóxidos, entre otras sustancias altamente reactivas, que cuando están en exceso dañan los lípidos, proteínas, ADN y carbohidratos, llevando a anomalías funcionales y estructurales, a la apoptosis celular y necrosis (Galvão, 2009). Las células glomerulares, tubulares y los macrófagos son potenciales generadores de estas ERO en el tejido renal (Galle, 2001; Scott, 2008). La activación crónica de sustancias oxidativas pasa a ser patológica, tal como sucede en la uremia, lo que contribuye al daño celular y del tejido sistémico (Bartges e Polzin, 2011). El aumento de la producción de ERO en la uremia ha sido propuesta como posible factor que contribuye a la anemia y a la aterosclerosis en la insuficiencia renal crónica (IRC) en humanos (Mafra *et al.*, 1999).

En investigaciones realizadas con pacientes humanos que presentan IRC, se comprobó el aumento de la peroxidación

lipídica, como también la reducción de enzimas y vitaminas antioxidantes, así como de elementos traza (Selenio, Zinc) (Mafra *et al.*, 1999). Probablemente, lo mismo ocurra en perros, ya que los animales con DRC frecuentemente presentan condiciones simultáneas que aumentan la generación de ERO, como la edad avanzada, la activación del sistema renina angiotensina-aldosterona y desórdenes sistémicos diversos (Scott, 2008, Bartges y Polzin, 2011).

No obstante, aún no hay resultados conclusivos acerca del motivo del aumento de la peroxidación lipídica en los pacientes renales. Algunos autores se refieren al aumento del consumo de oxígeno por parte de las nefronas remanentes y el consecuente aumento en la producción de ERO. Otros autores proponen que la uremia altera las concentraciones de antioxidantes como la vitamina E y de elementos traza, favoreciendo así un desequilibrio entre la formación de especies reactivas de oxígeno y la protección antioxidante (Mafra *et al.*, 1999).

Carciofi *et al.* (2002) refuerzan la importancia de la vitamina E cuando relatan que el consumo de PUFA por largos períodos de tiempo puede aumentar la peroxidación lipídica. Los autores explican que el uso prolongado de PUFA debe ser compensado con una mayor suplementación de vitamina E. Relaciones  $\omega$  6: $\omega$  3 más estrechas, como 1,3:1 están asociadas a la disminución de la respuesta inmune mediada por células en perros y a la reducción de las concentraciones plasmáticas de vitamina E. Por cada gramo de aceite de pescado que se agregue a la dieta en perros, se debe

agregar 10 UI de vitamina E sobre las necesidades dietéticas mínimas (AAFCO, 2000 in Carciofi *et al.*, 2002).

Existen dos vías por las que pueden surgir más radicales libres. Una de ellas es a través de los hidroperóxidos, que resultan en productos menores y más estables, los aldehídos. Otro camino es a través de los endoperóxidos, que resulta en malondialdehído y alcoholes. El fenómeno de la peroxidación de un PUFA se da, justamente, debido a la existencia de varias insaturaciones en su molécula – es en el doble enlace que el radical peróxido se introduce, formando, entonces un lipoperóxido. La vitamina E actúa en este paso, reduciendo nuevamente los carbonos del doble enlace. La presencia de esta vitamina bloquea la transferencia de electrones de una molécula a otra, atenuando una serie de daños e impidiendo el inicio de la propagación de la peroxidación de los lípidos. Esta puede ser iniciada por el hidrógeno y los peróxidos orgánicos, metabolitos celulares que quedan inactivos por el glutatión peroxidasa. Así, la vitamina E actúa como un protector de la membrana celular (Locatelli *et al.*, 2003; Galvão, 2009).

El componente lipídico de la membrana eritrocitaria se ve también sujeto a la agresión oxidativa. En consecuencia, la peroxidación de los fosfolípidos provoca aumento de la rigidez y deformidad de las membranas de los hematíes que, a su vez, aumenta la susceptibilidad de estos a la hemólisis (Ongajooth *et al.*, 1996). Los productos de esta lipoperoxidación pueden inducir el estrés oxidativo intracelular y, si la defensa antioxidante se encuentra deficiente, habrá hemólisis, lo que

contribuirá a la aparición de anemia en los pacientes renales (Ferreira y Matsubara, 1997). La presencia de anemia también exacerba la agresión oxidativa, ya que la hipoxia aumenta la generación de especies reactivas del metabolismo del oxígeno, y el eritrocito posee acción antioxidante renal (Scott, 2008).

Estudios realizados por Nath y Salahudeen (1990) describen que ratones que fueron sometidos a ablación renal, con restricción de vitamina E y de selenio en la dieta, presentaron proteinuria más intensa y aumento de la presión arterial. Los antioxidantes pueden ser enzimáticos (glutatión, superóxido dismutasa, catalasa), o no enzimáticos, como los flavonoides y las vitaminas C y E. El primer antioxidante endógeno que actúa en la defensa celular es el tior (componente sulfhidrilo), tal como el glutatión, que es el antioxidante endógeno más importante –su forma reducida, el glutatión peroxidasa, reacciona con los radicales, formando glutatión oxidado y agua. En el estrés oxidativo, hay reducción de la actividad del sistema del glutatión. La actividad del glutatión peroxidasa depende en forma crítica del selenio, en cuya presencia ocurre la transcripción regular del ARN mensajero para la formación del glutatión peroxidasa. Además, la deficiencia de selenio provoca el aumento de la degradación de vitamina E (Nath y Salahudeen, 1990).

Existen otras vitaminas antioxidantes además de la vitamina E, como la vitamina C y el  $\beta$ -caroteno, que interrumpen la cadena de peroxidación. El organismo dispone también de enzimas antioxidantes que poseen en sus

estructuras minerales como: Zinc (Zn), Selenio (Se), Cobre (Cu), Hierro (Fe) y Manganeso (Mn), que actúan removiendo el  $O_2$  - y  $H_2O_2$  (Mafra *et al.*, 1999, Head *et al.*, 2008).

Santos (2009) explica que varias moléculas en los sistemas biológicos tienen la capacidad de “limpiar” los organismos de los radicales libres, aunque no sea esta su función principal. Durante el estrés oxidativo, el aumento de la concentración de estas moléculas parece ser una respuesta biológica que, en sinergismo con otros sistemas de defensa antioxidante pueden proteger a las células de la oxidación. Entre estas, se encuentra el sulfato de condroitina, que ha sido objeto de estudios como agente reductor de daños provocados por los radicales libres. El esquema de sulfatación específica parece cumplir un rol central en la actividad inhibitoria de las moléculas de radicales libres, ya que el mecanismo sugerido es la quelación de los cationes metálicos, como  $Fe^{2+}$  y  $Cu^{2+}$ . La protección que brinda el sulfato de condroitina se encuentra en varias células de diferentes órganos. Estudios *in vitro* demostraron que la condroitina es capaz de reducir los daños biológicos y la generación de radicales libres en casos de estrés oxidativo inducido por daños en cultivos celulares. El autor afirma que el sulfato de condroitina podrá utilizarse en el futuro como agente terapéutico en enfermedades en que haya radicales libres involucrados. El efecto heparinoide del sulfato de condroitina, semejante al de los glucosaminoglucanos polisulfatados, también ha sido citado en la literatura (Huber y Bill, 1994).

Los datos de la literatura, aunque no sean todavía conclusivos respecto de la necesidad de suplementación vitamínica o mineral en pacientes con DRC, sugieren que un desequilibrio de estos antioxidantes en la alimentación favorece el efecto pernicioso de los radicales libres, afectando, así, el estado nutricional (Mafra *et al.*, 1999).

Brown (2008) afirma que la combinación de PUFA en la proporción de 5:1 ( $\omega$  6:  $\omega$  3) con antioxidantes parece ser más eficaz que cualquier administración aislada de  $\omega$  3 o solo de antioxidantes.

En la actualidad, el uso de nutrientes inmunomoduladores asociados con antioxidantes, con la finalidad de estabilizar el catabolismo y reducir los daños peroxidativos, ha arrojado resultados promisorios (Garófolo y Petrilli, 2006). Tomados en conjunto, estos resultados justifican una recomendación de suplementación alimentaria con  $\omega$  3 y antioxidantes para perros con DRC, a fin de retardar el avance de la enfermedad (Brown, 2008).

Este trabajo tuvo por objetivo evaluar la contribución de la asociación medicamentosa Gerioox<sup>®</sup> en perros portadores de DRC, observando su contribución a la función excretora renal, función electrolítica y sus efectos sobre la proteinuria.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Animales

El presente trabajo fue aprobado por el Comité de Ética en Experimentación Animal de la Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), protocolo número 267/2012 (ANEXO I).

Todos los responsables de los animales sometidos a esta investigación firmaron el Acuerdo de Consentimiento Libre e Informado (ANEXO II).

Se estudiaron 12 perros provenientes de la atención clínica ambulatoria especializada en nefrología veterinaria del Hospital Veterinario de la UFMG, entre ellos, siete machos y cinco hembras (tres poodles, tres shih-tzu, un lhasa apso, un maltés, un bichón frisé, un pastor alemán y dos perros sin raza definida), con edades entre los 3 y los 12 años, y peso corporal entre 5 y 25 kilogramos.

Fueron diagnosticados como portadores de DRC a través de los signos relevados en ecografías, con riñones reducidos, hiperecoicos y con pérdida de la relación corticomedular. Durante el experimento, los animales permanecieron en sus casas, no obstante, en cuatro momentos, los animales fueron sometidos a internación de 24 horas en el Hospital Veterinario de la UFMG para la recolección de muestras para los exámenes y evaluación.

Todos los animales contaban con el protocolo de vacunación y desparasitación anual actualizado, y se

presentaban libres de enfermedades infecciosas para la admisión en este estudio. Durante el experimento, no se administró ninguna terapia adicional para DRC, fuera de la dieta específica y Gerioox®.

Los pacientes fueron clasificados según los criterios propuestos por IRIS para determinar el estadio de la DRC. Siete animales se encontraban en el estadio 1, tres en el estadio 2, uno en el estadio 3 y uno en el estadio 4.

### 3.2. Alimentación

Los animales fueron alimentados con dieta específica para nefrópatas<sup>1</sup>. Las dietas fueron ajustadas al momento de la admisión del animal al estudio, buscando el mejor balance energético, como también los mejores tenores de minerales, vitaminas y proteínas. La dieta fue introducida en forma gradual, con una transición alimentaria durante el período de una semana.

La cantidad de alimento ofrecida a los animales del experimento se estimó por medio del cálculo de requerimiento energético de mantenimiento, a través de la siguiente fórmula:

$$\text{REM} = 140 \times \text{PV}^{0,75} \text{ kcal}$$

REM = Requerimiento energético de mantenimiento

PV = Peso vivo en kilogramos

$\text{PV}^{0,75}$  = Peso metabólico

<sup>1</sup> Alimento Renal – Farmina Vetlife®

### 3.3. GERIOOX®

Asociación medicamentosa desarrollada como una especialidad geriátrica destinada a perros y gatos, con acción inmunomoduladora, antioxidante y condroprotectora. Actúa a nivel orgánico mejorando las funciones vitales por la acción del  $\omega$  3 asociado con antioxidantes.

**Cuadro 1-** Composición de Gerioox® y sus concentraciones por comprimido

Aceite con alto tenor de Ácidos Grasos Omega 3 (lino, pescado, aceite de borraja o aceite de rosa de primavera)	0,200 ml
D. Glucosamina	0,140 g
Sulfato de Condroitina “A”	0,150 g
Gluconato de Cobre	0,003 g
Gluconato de Zinc	0,020 g
Selenito de Sodio	0,005 mg
Vitamina E	0,050 g
Excipientes c.s.p	1,800 g

Fuente: Prospecto Gerioox® (ANEXO III)

### 3.4. Protocolo de estudio:

Durante 30 días, los animales recibieron solo la dieta específica, para, a continuación, recibir durante 60 días Gerioox® en dosis de medio comprimido cada 12 horas. Al finalizar este período (60 días), se prescribió Gerioox® por 30 días más en dosis de medio comprimido al día. Se respetó la posología propuesta por el fabricante.

### 3.5. Análisis de los pacientes:

#### 3.5.1 Admisión del paciente

Los perros fueron seleccionados a partir de los signos característicos de DRC en el examen ecográfico. La evaluación ecográfica constó de la determinación del tamaño renal, el contorno, la ecogenicidad, la ecotextura y la definición del límite corticomedular, además de la evaluación de la pared y contenido vesical. Los animales que presentaron los signos ecográficos de riñones reducidos,

hiperecoicos y con pérdida de la relación corticomedular, fueron clasificados como portadores de DRC.

Luego de ser admitidos en el experimento, los animales fueron evaluados clínicamente según los parámetros semiológicos clásicos y la medida de frecuencia cardíaca, respiratoria y temperatura rectal. Se realizaron exámenes bioquímicos de hemograma, glucemia, perfil renal (urea y creatinina sérica), calcio y fósforo séricos, análisis de orina y relación proteína creatinina urinaria, como también las evaluaciones clínicas, en cuatro momentos: antes de iniciarse el experimento (T0), luego de 30 (T1), 90 (T2) y 120 días (T3).

T0 corresponde al inicio del experimento; T1 corresponde a 30 días de dieta únicamente; T2 corresponde a 90 días de dieta y 60 días de uso de Gerioox® en dosis de medio comprimido cada 12 horas; T3 corresponde a 120 días de dieta y 30 días de uso de Gerioox® en media dosis posológica.

Para el análisis estadístico se consideraron cuatro tratamientos, que corresponden a los cuatro momentos de evaluación de los pacientes.

Todos los datos y resultados de los exámenes de estos animales se registraron en historias clínicas y se organizaron de manera descriptiva (ANEXO IV).

**Cuadro 2** - Momento de realización de las evaluaciones de los pacientes y exámenes

Antes Tiempo 0 (T0)	Luego de 30 días Tiempo 1 (T1)	Luego de 90 días Tiempo 2 (T2)	Luego de 120 días Tiempo 3 (T3)
Alimento balanceado Renal	Luego de 30 días de Alimento balanceado Renal	Luego de 60 días de Alimento balanceado Renal + Gerioox <sup>®</sup> dosis de ataque	Luego de 90 días de Alimento balanceado Renal + Gerioox <sup>®</sup> dosis de mantenimiento

### 3.6. Recolección de materiales

En cada intervalo de tiempo estudiado (cuadro 2), los animales fueron sometidos a internación de 24 horas en el Hospital Veterinario da UFMG para evaluación clínica y recolección de material para los exámenes.

Los perros fueron ubicados en jaulas individuales, de tipo metabólicas, con pantalla en el fondo y bandeja debajo de esta, para recolectar la orina y obtener el volumen urinario, para la evaluación de la TFG. El volumen total de orina fue retirado de la bandeja cada ocho horas y registrado el volumen producido. Parte de este volumen, cerca del 10 %, fue almacenado en heladera. Pasado el período de 24 horas, fue realizado el cateterismo uretral aséptico, con sonda uretral flexible en los machos y por cistocentesis guiada en las hembras para recoger toda la orina residual almacenada en la vejiga. Las muestras reservadas en heladera fueron colocadas en partes de

10,0 ml, para la realización de exámenes de orina, proteínas y creatinina urinarias. Estas muestras de orina fueron recolectadas en frascos estandarizados provistos por el laboratorio, identificadas inmediatamente después de su obtención y refrigeradas inmediatamente hasta ser enviadas al laboratorio (TECSA Laboratorios), ubicado en Belo Horizonte, en el plazo máximo de seis horas.

Durante el período en que los animales estuvieron confinados en jaula metabólica, recibieron alimento balanceado al inicio del confinamiento (luego de la extracción de sangre) y después de 12 horas, y agua *ad libitum*. El examen clínico fue realizado antes de ser colocados en las jaulas, durante el período de la mañana.

La recolección de sangre fue realizada por venopunción de la yugular luego de ayuno alimentario de ocho horas, al momento de la llegada de los animales, y se utilizó jeringa de 3,0 ml. De la

recolección, 0,6 microlitros de sangre fueron utilizados para el examen de glucemia, una parte de aproximadamente 2,0 ml se colocó en tubo tipo al vacío con EDTA para la realización del hemograma, leucograma y recuento de plaquetas, y otra de 1,0 ml en tubo tipo al vacío sin anticoagulante para la realización de los exámenes bioquímicos séricos. Las muestras fueron identificadas inmediatamente después de su obtención y refrigeradas hasta ser enviadas en hielo al laboratorio, en un plazo máximo de 12 horas.

Fueron realizados los siguientes exámenes: hemograma (método: citometría de flujo con recuento diferencial en frotis sanguíneos con tinción panóptica), urea (método enzimático), creatinina (método colorimétrico) y determinación de calcio (método: ensayo de punto final/Arsenazo III) y fósforo séricos (método: ensayo fotométrico ultravioleta/Daly y Estingshausen modificado). Todos los exámenes fueron realizados en el laboratorio TECSA, con excepción del examen de glucemia, que fue realizado inmediatamente después de la extracción de sangre, en un único equipo glucómetro portátil (Optium Xceed).

### 3.6.1. Evaluación de la TFG

La creatinina endógena aún es considerada la mejor variable de laboratorio para evaluar la TFG en la rutina clínica (Finco, 1995; Grauer, 2010; Polzin, 2011). La creatinina se filtra libremente en el glomérulo y no hay reabsorción ni excreción significativas en los túbulos. Con todo, para evaluar la

TFG, es necesaria una recolección exacta del volumen urinario producido, de cateterismo vesical y solo una extracción de sangre, ya que la producción de creatinina es prácticamente constante durante todo el día (Finco, 1995).

Las muestras de suero obtenidas al momento de la llegada del animal y la parte de las muestras de orina recolectadas durante el período de 24 horas, se usaron para obtener las concentraciones de creatinina sérica y urinaria, respectivamente. El volumen (en ml) de orina recolectado en este período se dividió por 1440 (número de minutos en 24 horas), multiplicado por el peso, para calcular la TFG por minuto. Los datos (volumen de orina, creatinina sérica y urinaria) fueron sometidos a la siguiente fórmula para el cálculo de la TFG (Finco, 1995; Grauer, 2010):

$$TFG = \frac{Cr_u \text{ (mg/dl)} \times Vol_u \text{ (ml)}}{Cr_{ser} \text{ (mg/ml)} \times T \text{ (min)} \times PV \text{ (kg)}}$$

Donde:

TFG = Tasa de filtración glomerular

$Cr_u$  = concentración urinaria de creatinina

$Vol_u$  = volumen de orina

$Cr_{ser}$  = concentración sérica de creatinina

T = tiempo en minutos (1440 minutos)

PV = Peso vivo

### 3.7. Diseño experimental y análisis estadístico

El tratamiento estadístico que se aplicó al experimento fue a través de estadística básica descriptiva y de correlación. El experimento fue conducido bajo diseño en bloques al azar (DBC), tomando como

bloque al animal (este pasó por todos los tratamientos). Los resultados fueron tabulados y sometidos al análisis de varianza (ANOVA).

Los promedios fueron comparados a través de la prueba de Tukey con significación ( $P < 0,05$ ) por secuencia de normalidad. La normalidad fue probada a través del método de Kolmogorov Smirnov, siendo que las variables con distribución normal abarcaron eritrocitos, hematocritos, leucocitos, densidad urinaria, fósforo y calcio. Las variables plaquetas, pH urinario, proteína urinaria, creatinina urinaria, relación proteína creatinina urinaria, uremia y creatinina séricas, glucemia y TFG no presentaron distribución normal y debieron ser transformadas por medio de la función logarítmica ( $\log_{10}$ ), pasando a presentar distribución normal.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Observaciones clínicas

Conforme el relato de los responsables de los animales del estudio y de acuerdo con las observaciones clínicas, hubo una expresiva mejoría en el estado general de los pacientes debido al efecto sistémico determinado por el uso de Gerioox<sup>®</sup>. Los signos de aumento del apetito, con la consecuente mejoría en la calidad de vida, demostrada por una mayor vitalidad, fueron relatados por los responsables, que manifestaron que sus animales estaban más animados, con mayor agilidad y alegría. Al momento del examen clínico,

esta mejoría pudo constatararse debido al mejor aspecto de la piel y el pelo y del estado nutricional de estos pacientes. Ya que los animales no presentaban condiciones de descenso de peso, no hubo modificaciones en sus registros físicos.

### 4.2. Alteraciones hematológicas

Una consecuencia común que se encuentra en la DRC es la anemia, que generalmente es normocítica y normocrómica arregenerativa, que puede variar de moderada a severa, y es responsable por gran parte de las alteraciones presentes en los pacientes urémicos (Brum *et al.*, 2012). La anemia del enfermo renal es de carácter multifactorial y las causas incluyen deficiencia de eritropoyetina, desórdenes nutricionales, pérdidas sanguíneas y depresión de la médula ósea debido a la acumulación de toxinas urémicas (Scott, 2008). Las deficiencias de hierro, folatos y vitamina B también son citadas como causa y, además, la expectativa de vida eritrocitaria puede verse reducida debido a los elevados niveles de paratohormona (PTH) y a la reducción del glutatión eritrocitario, un potente antioxidante intracelular (Galvão, 2009).

A pesar de que se encuentra comúnmente en estos pacientes, la anemia solo fue detectada en un animal del presente estudio. Esto se justifica fácilmente a raíz del grupo estudiado, ya que solo un animal pertenecía al estadio IV de clasificación IRIS. Polzin (2011) explica que la anemia compromete la calidad de vida de los perros y gatos en los estadios III a IV de la DRC. El animal que pertenecía al estadio III no presentó

anemia, lo que demuestra que las complicaciones de la DRC son inherentes a cada paciente y a cada estadio de la clasificación IRIS.

En la TABLA 1, a continuación, se presentan los promedios con las

respectivas desviaciones estándar, medianas y coeficientes de variación de los resultados de hematocrito analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento.

TABLA 1. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de hematocrito de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coficiente de Variación
T 0	46,06	8,32 <sup>AA</sup>	45,80	18,07
T 1	42,86	10,28 <sup>AA</sup>	44,35	23,98
T 2	44,74	8,55 <sup>AA</sup>	45,95	19,12
T 3	43,81	8,97 <sup>AA</sup>	45,35	20,47

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento. Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

No hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P > 0,05$ ) a lo largo del tiempo, sin embargo, solo un animal del grupo presentaba anemia, no siendo posible, por lo tanto, evaluar el efecto de la asociación de  $\omega$  3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina en ese aspecto.

Brum *et al.* (2012) explican que, además de las hemorragias en el tracto gastrointestinal debido a la enterogastropatía urémica, otra causa que predispone al paciente urémico a las hemorragias son los desórdenes de coagulación. A pesar de haber

trombocitopenia, generalmente esta es discreta, por lo tanto, la disfunción plaquetaria es la alteración hemostática más importante. Los mecanismos propuestos para la disfunción plaquetaria en perros son la disminución de tromboxano A<sub>2</sub>, la concentración intracelular anómala de monofosfato cíclico de adenosina (AMP cíclico) y la movilización anómala de calcio intracelular. Estas alteraciones impiden la adhesión subendotelial y la agregación plaquetaria, aumentando la tendencia al sangrado (Polzin *et al.*, 2005).

Solo dos animales en este estudio presentaron trombocitopenia, uno de ellos pertenecía al estadio I y el otro al estadio IV –en ambos, la trombocitopenia fue

justificada por hemoparasitosis. En el paciente en el estadio I, luego de tratada la hemoparasitosis, pudo revertirse el cuadro, normalizándose el recuento de plaquetas. El paciente en el estadio IV no obtuvo mejoría y su deceso se produjo 30 días luego de concluida esta investigación.

En la tabla 2, a continuación, se presentan los promedios aritméticos con la respectiva desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de los resultados de plaquetas, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento.

TABLA 2. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de plaquetas de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coficiente de Variación
T 0	317,00	125,99 <sup>AA</sup>	298,50	39,75
T 1	307,92	122,02 <sup>AA</sup>	280,00	39,63
T 2	295,75	109,94 <sup>AA</sup>	266,50	37,17
T 3	318,50	154,94 <sup>AA</sup>	263,00	48,65

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento.

Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

En la evaluación del número de plaquetas, los valores no difirieron significativamente ( $P > 0,05$ ) a lo largo del tiempo estudiado.

En relación con la evaluación de los leucocitos, solo el animal perteneciente al estadio IV de la clasificación IRIS

presentó leucopenia. Según Jaber *et al.* (2001) las toxinas urémicas producidas en la DRC pueden afectar a los leucocitos, en especial, a los neutrófilos –tornándolos más susceptibles a la apoptosis celular y fortaleciendo la hipótesis de que los perros con enfermedad renal ven comprometida su inmunidad innata.

TABLA 3. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de leucocitos de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento.

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coficiente de Variación
T 0	9820,83	3187,15 <sup>AA</sup>	9350,00	32,45
T 1	9253,33	1862,85 <sup>AA</sup>	9350,00	20,13
T 2	9405,83	2316,94 <sup>AA</sup>	9185,00	24,63
T 3	9266,67	2754,94 <sup>AA</sup>	9200,00	29,73

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento.

Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

No hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P > 0,05$ ) a lo largo del tiempo en el estudio del número de leucocitos, sin embargo, así como para la anemia, solo un animal del grupo presentó alteración del número de leucocitos, no siendo posible, por lo tanto, evaluar el efecto de la asociación de  $\omega$  3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina en ese aspecto.

#### 4.3. Alteraciones bioquímicas séricas

Como se ha visto, la azotemia es una complicación común en los pacientes renales, caracterizada por el aumento de los niveles de residuos de nitrógeno no proteicos, tales como la urea y la creatinina en sangre (DiBartola, 2004; Polzin, 2011). Diez animales en el estudio presentaron urea por encima de los valores de referencia, y de estos, solo cuatro presentaban los valores de

creatinina también por encima de la referencia en el T0. Los valores de referencia considerados en este estudio fueron de 15 a 40 mg/dl para urea y de 0,5 a 1,5 mg/dl para creatinina (Grauer, 2010).

Siete animales, de los 12 estudiados, presentaron mejoría de los valores de urea, y dos mantuvieron los valores sin cambios durante el estudio. De los siete que presentaron mejorías, seis vieron mejorados también sus valores de creatinina, un animal no tuvo ningún cambio en su valor de creatinina, a pesar de haber presentado mejorías en urea.

En las tablas 4 y 5, a continuación, se presentan los promedios aritméticos con la respectiva desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de los resultados de urea y creatinina séricas, respectivamente, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento.

TABLA 4. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de urea sérica de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coficiente de Variación
T 0	91,26	57,65 <sup>AA</sup>	79,50	63,17
T 1	71,03	46,02 <sup>AA</sup>	49,50	64,79
T 2	80,75	46,12 <sup>AA</sup>	66,50	57,12
T 3	79,33	47,47 <sup>AA</sup>	63,50	59,84

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento. Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

La diferencia presentada entre T0 y T1 demuestra la importancia de la dieta en el tratamiento de la DRC, no obstante, debido a las diferencias individuales, que se ven reflejadas en la desviación estándar y en el coeficiente de variación, el análisis estadístico no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos.

En la tabla 5 puede constatar una disminución de los valores de creatinina encontrados, principalmente, al comparar T0 con T2, mostrando un efecto significativo cuando el animal fue evaluado individualmente, sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P > 0,05$ ) en relación con los tratamientos.

TABLA 5. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de creatinina sérica de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coficiente de Variación
T 0	1,74	2,01 <sup>AA</sup>	1,09	115,94
T 1	1,76	2,04 <sup>AA</sup>	1,00	115,54
T 2	1,34	0,91 <sup>AA</sup>	1,00	68,19
T 3	1,56	1,30 <sup>AA</sup>	0,92	83,14

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento. Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

Al comparar los resultados de urea y de creatinina séricas puede notarse una disminución más evidente en los valores de urea. La dieta utilizada en este experimento se compone de proteína de alto valor biológico, que facilita la disminución de la formación de urea, y que puede justificar la reducción del valor de este catabolito. Además, se compone con fibras de remolacha, que estimulan el crecimiento de bacterias dependientes del nitrógeno, disminuyendo aún más la producción de urea. En vista de que la creatinina sérica no presentó disminución entre T0 y T1, como la urea sérica, se cree que esta disminución de la urea está más relacionada con una disminución en la producción que con una mejoría en la excreción. No obstante, cuando se evalúa el promedio y la mediana de los valores de urea y creatinina séricas, se constata una disminución de los valores entre los tiempos T0 y T3. Brown *et al.* (1998) y Wong *et al.* (2010) también relatan la disminución de creatinina sérica en estudios realizados en perros y humanos suplementados con  $\omega$  3. Aunque el análisis estadístico no presente esta

diferencia como significativa, la correlación entre estas variables, como se verá posteriormente, muestra una diferencia significativa entre la TFG, urea y creatinina.

La hiperfosfatemia también es un hallazgo frecuente en perros con DRC, siendo ocasionada por la disminución de la excreción renal de fosfato y, también, como consecuencia de la reducción en la síntesis del calcitriol (Grauer, 2010). Según Grauer (2010), el aumento sérico en la cantidad de PTH está relacionado con la hiperfosfatemia, indicando el hiperparatiroidismo secundario renal. Lazaretti *et al.* (2006) determinaron concentraciones séricas de PTH intacto, fósforo y calcio en perros con DRC. Estos autores observaron correlación entre PTH y fósforo, lo que no ocurrió entre PTH y calcio.

En las tablas 6 y 7 se presentan los valores de fósforo y calcio séricos, respectivamente.

TABLA 6. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de fósforo sérico de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coficiente de Variación
T 0	6,30	1,86 <sup>AA</sup>	6,05	29,53
T 1	5,20	1,27 <sup>AA</sup>	5,15	24,48
T 2	6,12	2,00 <sup>AA</sup>	6,35	32,79
T 3	5,88	1,20 <sup>AA</sup>	5,85	20,35

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento.

Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

La variación de normalidad de valores considerada para el fósforo sérico fue de 2,5 a 5,5 mg/dl (Grauer, 2010). En T0, ocho animales presentaban valores séricos de fósforo mayores que los valores normales; seis de ellos experimentaron una disminución significativa en T3. Cuatro de esos seis animales presentaron los valores de fósforo disminuidos en T2 y los dos animales restantes presentaron los valores de fósforo disminuidos en T3. Al evaluar el comportamiento del promedio y de la mediana de valores del fósforo sérico, se constata que en T0 estos se encontraban por encima de los valores normales y que en T1 ya estaban dentro de estos. Este comportamiento se ve

modificado nuevamente al introducir Gerioox<sup>®</sup>, presentando un aumento en los primeros 60 días, para disminuir luego en la evaluación a los 90 días, con tendencia, no obstante, a encuadrarse en los valores normales.

El calcio sérico total puede presentar valores altos, bajos o normales en pacientes urémicos (Grauer, 2010). Los valores considerados normales de calcio fueron de 9,0 a 11,3 mg/dl (Grauer, 2010). Todos los animales presentaron los valores de calcio dentro de los límites normales durante todo el estudio, como puede observarse en la tabla 7.

TABLA 7. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de calcio sérico de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coficiente de Variación
T 0	9,40	1,56 <sup>AA</sup>	9,50	16,65
T 1	10,29	1,38 <sup>AA</sup>	10,30	13,36
T 2	10,27	2,01 <sup>AA</sup>	10,20	19,56
T 3	9,69	1,08 <sup>AA</sup>	9,85	11,17

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox<sup>®</sup> dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox<sup>®</sup> dosis de mantenimiento. Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

La existencia de compromiso renal fue relatada en cerca del 60% de los perros diabéticos estudiados por Kaneko *et al.* (1979). No obstante, según este autor, la nefropatía diabética se presenta con poca frecuencia en animales de pequeño porte. En el presente estudio, los valores considerados normales de glucosa sérica estuvieron entre 60 y 110 mg/dl (Kaneko *et al.* 1979). Solo un animal presentó glucemia mayor que 110 mg/dl en el T0, sin embargo, durante el estudio y sin que se

aplicara ninguna otra terapia adicional, este animal volvió a presentar valores normales de glucemia.

Este comportamiento de disminución de la glucemia fue relatado en otros estudios (Andrade y Carmo, 2006), y era, de cierto modo, esperado. Aun cuando los valores estuviesen siempre dentro de los límites de normalidad para casi todos los animales, los valores del promedio y de la mediana fueron disminuyendo entre los tiempos T0 y T3.

TABLA 8. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de glucemia de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coefficiente de Variación
T 0	104,97	86,25 <sup>AA</sup>	81,05	82,16
T 1	79,76	13,65 <sup>AA</sup>	79,50	17,12
T 2	81,92	18,51 <sup>AA</sup>	76,50	22,60
T 3	76,00	12,65 <sup>AA</sup>	75,00	16,64

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento.

Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

#### 4.4. Alteraciones bioquímicas urinarias

A pesar de que la densidad urinaria varíe mucho entre y en los individuos en condiciones saludables, esta es una manera práctica y sensible de evaluar la función renal, ya que la disminución de la capacidad de concentración urinaria frecuentemente es consecuencia de daños renales (Brown *et al.*, 1997; Grauer, 2010). La presencia de solutos orgánicos tales como proteínas, glucosa y

aminoácidos puede conducir a un aumento del valor de la densidad urinaria; no obstante, sus efectos son relativamente pequeños y raramente producen cambios clínicamente significativos en la práctica. Los animales estudiados presentaron una densidad urinaria promedio con valores cercanos al valor más bajo dentro de los límites normales. No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa ( $P > 0,05$ ) en relación con los tratamientos, como puede observarse a continuación en la tabla 9.

TABLA 9. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de densidad urinaria de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coefficiente de Variación
T 0	1,014	3,77 <sup>AA</sup>	1015,00	0,37
T 1	1,015	4,26 <sup>AA</sup>	1015,00	0,42
T 2	1,013	3,11 <sup>AA</sup>	1015,00	0,31
T 3	1,015	3,02 <sup>AA</sup>	1015,00	0,30

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento.

Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

El pH urinario considerado normal para perros varía dentro de los límites de normalidad entre 5,5 a 7,5. En el presente estudio, todos los animales presentaron el pH dentro de ese límite, no habiendo

ninguna diferencia estadísticamente significativa ( $P > 0,05$ ) en relación con los tratamientos, como puede observarse a continuación en la tabla 10.

TABLA 10. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de pH urinario de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coefficiente de Variación
T 0	6,58	1,31 <sup>AA</sup>	6,50	19,92
T 1	6,54	1,30 <sup>AA</sup>	6,25	19,95
T 2	6,08	1,16 <sup>AA</sup>	6,00	19,14
T 3	6,08	1,00 <sup>AA</sup>	6,00	16,38

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento.

Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

La proteinuria ha recibido mucha atención en nefrología de pequeños animales en los últimos años, y es considerada la causa principal de avance de la DRC. Se ha

demostrado que la proteinuria puede disminuir con el tratamiento con inhibidores de la ECA en humanos y en perros (Lees *et al.*, 2005; Grauer, 2010).

Cabe destacar que se considera normal la presencia de una pequeña cantidad de proteína en la orina. Estas se originan a partir de proteínas plasmáticas con bajo peso molecular, que atraviesan el glomérulo o que provienen de los túbulos o del tracto genitourinario. La orina también puede contener proteínas secretadas activamente para el lumen tubular, como la mucoproteína de Tamm-Horsfall y la inmunoglobulina A (Finco, 1995; Rego *et al.*, 2001).

Además, la proteína puede estar presente en la orina debido a la piuria, como

consecuencia de una infección en el tracto urinario. Así, es importante destacar que los resultados deben interpretarse siempre en conjunto con el análisis del sedimento urinario (Grauer, 2010). La proteinuria relevante es la albuminuria significativa y persistente. Se considera que la mejor forma de cuantificar la albuminuria es a través del promedio de la relación proteína creatinina urinarias (Lees *et al.*, 2005) (Tabla 13).

En la tabla 11, se presentan los valores de la concentración urinaria de proteína en los tiempos estudiados.

TABLA 11. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de proteína urinaria de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coefficiente de Variación
T 0	49,10	36,64 <sup>AA</sup>	38,00	74,62
T 1	55,27	52,01 <sup>AA</sup>	35,00	94,10
T 2	40,67	32,40 <sup>AA</sup>	33,00	79,68
T 3	40,08	23,64 <sup>AA</sup>	38,00	58,98

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento. Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

En la tabla 12, se observa el aumento del promedio de creatinina urinaria, indicando una mayor excreción de este metabolito.

TABLA 12. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de creatinina urinaria de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coficiente de Variación
T 0	123,77	102,79 <sup>AA</sup>	79,21	83,05
T 1	133,75	86,56 <sup>AA</sup>	116,73	64,72
T 2	128,07	98,73 <sup>AA</sup>	91,85	77,09
T 3	139,52	102,90 <sup>AA</sup>	99,06	73,75

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento.

Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

Según Grauer (2010), la proteína debe ser cuantificada a través de la medida de la relación proteína creatinina urinaria. Este examen presenta una fuerte relación estadística con la determinación de la proteinuria de 24 horas. Entre las ventajas de la realización de este examen, se destaca que puede usarse una pequeña muestra de orina obtenida a cualquier hora del día, generando poca interferencia en los resultados. Además, este examen también se mostró sensible en la detección de la enfermedad glomerular discreta (Araújo, 2007). Los valores de referencia para el índice de relación proteína creatinina urinaria deben ser menores que 0,2, considerándose que valores entre 0,2 y 0,5 constituyen un punto límite en perros; con todo, si estos animales fueren azotémicos, se los considera proteinúricos en este margen de variación (Polzin, 2011).

Siete de ellos presentaban una relación mayor que 0,4 y fueron considerados proteinúricos. Once animales presentaron disminución del valor de la relación

proteína creatinina urinaria en el transcurso del estudio. También para esta variable, a pesar de las diferencias individuales reflejadas en el promedio de los tiempos, no hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P > 0,05$ ) en relación con los tratamientos (Tabla 13).

Los resultados de la RPC relacionados con los diferentes tiempos son sugestivos de disminución de la albuminuria. Los animales de esta investigación tienen como característica común que son portadores de hipertensión glomerular. Esta hipertensión provoca estrés en el endotelio vascular, desencadenando reacciones inflamatorias, glomeruloesclerosis y proteinuria. Estas consecuencias de la hipertensión glomerular son consideradas los principales factores que provocan el avance de la DRC. Por lo tanto, el control de la proteinuria es un objetivo importante del tratamiento conservador del paciente renal, y se trata de uno de los conceptos más modernos de control del avance de la enfermedad. En el presente

estudio, la disminución de la proteinuria es un resultado que por sí solo justifica el uso de esta asociación, ya que, al

controlar la proteinuria, se controla unos de los factores importantes de avance de la DRC.

TABLA 13. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de la relación proteína creatinina urinaria de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coficiente de Variación
T 0	0,87	0,80 <sup>AA</sup>	0,90	91,89
T 1	0,81	1,14 <sup>AA</sup>	0,27	141,03
T 2	0,69	0,73 <sup>AA</sup>	0,42	104,99
T 3	0,58	0,53 <sup>AA</sup>	0,49	91,16

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento.

Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

Existe consenso en nefrología humana y veterinaria sobre que la TFG es el mejor indicador de la función excretora renal. La estimativa de TFG es simplemente un proceso especial de medir la depuración de una sustancia a partir del cuerpo (Grauer, 2010). Según DiBartola (2004), la creatinina no es metabolizada y es excretada por los riñones casi enteramente por filtración glomerular. En estado de equilibrio, su velocidad de excreción es relativamente constante y la concentración sérica de creatinina varía inversamente con la TFG, siendo así, la determinación de la eliminación de la creatinina es una buena forma de estimar la TFG.

Estudios poblacionales aún son necesarios para definir valores de corte de la TFG. El valor de corte depende del método de depuración y del laboratorio. Los valores de referencia más publicados en perros y gatos son entre 2 y 4 ml/min/kg (Heiene y Lefebvre, 2007; Polzin, 2011).

Seis animales presentaron la TFG menor que 2 ml/min/kg al inicio del experimento y, a pesar de que permanecieron con estos resultados, todos presentaron cierto grado de aumento de la TFG, conforme fue reflejado en el promedio del grupo demostrado en la tabla 14. Con todo, no hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P > 0,05$ ) en relación con los tratamientos.

TABLA 14. Valores de promedio, desviación estándar, mediana y coeficiente de variación de la tasa de filtración glomerular de perros sometidos a la asociación de omega 3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

	Promedio	Desviación Estándar	Mediana	Coeficiente de Variación
T 0	2,37	2,44	1,75	102,68
T 1	2,00	1,24	1,98	61,99
T 2	2,98	2,43	1,76	81,57
T 3	2,65	1,79	2,55	67,54

T 0 = Antes de iniciar el experimento; T 1 = 30 días después del inicio: efecto dieta; T 2 = 90 días después del inicio, 60 días después de T 1: efecto dieta más Gerioox® dosis de ataque; T 3 = 120 días después del inicio, 90 días después de T 1, 30 días después de T 2: efecto de la dieta más Gerioox® dosis de mantenimiento.

Para la variable analizada, las letras minúsculas codifican el análisis estadístico en cada línea y las letras mayúsculas codifican el análisis estadístico en cada columna. Valores seguidos de al menos una letra igual son equivalentes ( $P < 0,05$ ).

Los riñones de perros portadores de DRC presentan pocas nefronas. Estas nefronas remanentes hipertrofian debido a la mala distribución de la sangre en el parénquima renal. El mismo volumen de sangre entra a los riñones por la arteria renal, aun cuando estos cuenten con pocos glomérulos para recibirlo. Esto provoca la hipertensión glomerular y consecuente aumento de la TFG (Brenner, 1982). Los animales de este experimento presentaron tendencia a la mejoría de la excreción (observado por los resultados de urea y creatinina), de la disminución de la proteinuria y el aumento discreto de la TFG. Esta mejoría de la TFG refleja también la mejoría del clearance de creatinina, que se asocia a la mejoría de la calidad del endotelio vascular y no por un mayor esfuerzo de la filtración, observado también por Brown (2002). Si el aumento de la TFG fuese debido a un mayor esfuerzo, habría un incremento de la proteinuria, consecuencia obvia del aumento de la filtración glomerular en estos pacientes, lo que no se observa en este experimento. Aumentar aún más la TFG sería una mejoría indeseada, ya que

se aumentaría el esfuerzo y, en consecuencia, también el estrés sobre el glomérulo, lo que disminuiría drásticamente su tiempo de vida. Esta mejoría en la calidad de vida del endotelio glomerular es esperada, ya que es consecuencia del efecto antiinflamatorio del  $\omega$  3, que contribuye suprimiendo la formación de los mediadores proinflamatorios. Además de esto, los PUFA participan del mantenimiento de la integridad de las células endoteliales y dan origen a las prostaglandinas que aumentan la filtración glomerular gracias a sus efectos vasodilatadores. El sulfato de condroitina, como la vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre y gluconato de zinc son capaces de reducir los daños biológicos y la generación de radicales libres en casos de estrés oxidativo, aumentando el tiempo de vida y mejorando la calidad de las células glomerulares.

#### 4.4. Evaluación de la correlación entre los exámenes realizados

Las pruebas de correlación aplicadas en este experimento fueron fundamentales para señalar comportamientos coherentes de evaluaciones importantes, que fueron capaces de confirmar la eficacia del tratamiento propuesto. Por el hecho de que los resultados tratados a través de análisis estadísticos clásicos no acusaron diferencias significativas entre los tratamientos, el análisis de la correlación fue de suma importancia para mostrar que el comportamiento de algunos elementos analizados sí presentó cambios importantes.

Cuando se evalúa el resultado de una correlación se constata que la modificación de un determinado analito está directa o inversamente relacionada con la modificación de otro análisis.

Para el experimento, fueron consideradas todas las posibilidades de correlaciones entre la evaluación de TFG, urea, creatinina y fósforo séricos, relación proteína creatinina urinaria y glucemia. La posibilidad de correlación entre estos exámenes fue evaluada a través de la prueba de Pearson.

En la Tabla 15, están representadas las correlaciones que presentaron un grado significativo menor o igual a 0,05 en el presente experimento. Se encuentran demostradas también las correlaciones entre TFG versus el fósforo sérico y TFG versus glucemia que, a pesar de que el grado de significación fue mayor que 0,05, demostraron la interferencia de una variable sobre otra y también un comportamiento semejante entre ellas. Las demás correlaciones se presentaron de baja magnitud en el presente experimento, por eso no fueron destacadas.

TABLA 15. Correlaciones entre las evaluaciones de TFG y relación proteína creatinina urinaria, TFG y urea sérica, TFG y creatinina sérica, TFG y fósforo sérico y TFG y glucemia, analizados en el Tiempo 0, 30, 90 y 120 días de tratamiento

Variables	Correlaciones	
	Correlación (r)	Significación (P)
TFG x relación proteína: creatinina urinaria	-0,56	< 0,0001
TFG x urea sérica	-0,52	0,0002
TFG x creatinina sérica	-0,45	0,0014
TFG x fósforo sérico	-0,12	0,4334
TFG x glucemia	-0,07	0,6193

Hubo correlación negativa significativa ( $P < 0,05$ ) entre la TFG versus la relación proteína creatinina urinaria. Este resultado revela que cuando hubo aumento de la TFG, hubo disminución de

la RPC. Si el aumento de la TFG estuviese relacionado con el aumento de la presión glomerular –aumento totalmente indeseado– habría, también, aumento de la RPC. La correlación sería, entonces,

positiva. Aumentar la TFG y reducir la proteinuria es uno de los resultados más importantes del experimento, visto que se ha demostrado que la asociación de  $\omega$  3, vitamina E, selenito de sodio, gluconato de cobre, gluconato de zinc, sulfato de condroitina y glucosamina parece haber contribuido a lo que podría llamarse “ambiente renal”, inhibiendo la vasoconstricción y la agregación plaquetaria con la consecuente reducción de las reacciones inflamatorias en el endotelio glomerular y en otros vasos renales. Debido a las alteraciones observadas en los resultados de este experimento, como, por ejemplo, la mejoría de la TFG y la disminución de la proteinuria, puede sospecharse que, así como fue observado por otros autores, puede haber ocurrido una o más de las siguientes alteraciones: disminución de la presión glomerular, del espesor de la pared del glomérulo, de la viscosidad de la sangre, mejoría de la producción de prostaglandinas, reducción de las concentraciones séricas de triglicéridos, reversión de las dislipidemias, limitación de la calcificación intrarrenal impidiendo el deterioro de la función y preservación de la estructura renal con la consecuente disminución de la glomeruloesclerosis, y también la reducción del estrés oxidativo renal (Clark *et al.*, 1991; Brown *et al.*, 1998; Brown, 2002; Andrade e Carmo, 2006, Bartges e Polzin, 2011), entre otras varias posibilidades de beneficios esperados con el uso de estos compuestos por separado o en asociación.

Esta correlación negativa también fue observada entre la TFG versus urea y creatinina sérica, es decir, cuando la TFG se presentaba aumentada, la urea y creatinina séricas se encontraban en concentraciones bajas. Este resultado confirma que, además de que el alimento

controló y disminuyó la concentración sérica de urea, el Gerioox<sup>®</sup> mejoró la excreción de sustancias.

A pesar de la correlación negativa entre la TFG versus el fósforo sérico, y TFG versus glucemia, estas presentaron un grado de significación mayor que 0,05, por lo tanto, sin diferencia estadísticamente significativa. Mientras las concentraciones séricas de fósforo se encuentran dentro de los límites de valores normales, no es esperable una disminución muy significativa de sus valores en el torrente sanguíneo, aun cuando la TFG mejore. En este experimento, este comportamiento fue observado. El discreto aumento de la TFG no fue suficiente para modificar significativamente la excreción de fósforo.

## 5. CONCLUSIONES

Según las condiciones en que se realizó esta investigación y de acuerdo con los resultados obtenidos, puede concluirse que:

- El período de 90 días de estudios parece haber sido suficiente para evaluar los efectos benéficos de la asociación sobre los riñones, en lo tocante a la mejoría de la función excretora.
- Al probarse la significación de cada fuente de variación del modelo (Animal y Tratamiento), se observó que el efecto del animal fue significativo, sin embargo, el efecto del tratamiento no presentó resultados significativos en ninguna de las variables analizadas.

- De acuerdo con los resultados de las correlaciones, se nota que cuando aumenta la tasa de filtración glomerular disminuye a proteinuria y la urea y creatinina séricas.

- La tendencia al aumento de la TFG con disminución de la proteinuria significa que hubo una mejoría en la calidad de la excreción, y no un aumento de la excreción, debido a un aumento indeseado de la presión glomerular.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, P. A. Avaliação da relação proteína/creatinina urinária como método de escolha para diagnóstico precoce de lesão glomerular em cães (canis familiaris). Rio De Janeiro. Especialização Latu sensu - UCB 38, p., 2007.

ANDRADE, P. M.; CARMO, M. G. T. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanóides, inflamação e imunidade. *Metabólica*, v. 8, n. 3, p. 135-143, 2006.

BAGGA, D.; WANG, L.; FARIAS, EISNER, R., et al. Differential effects of prostaglandin derived from n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 100, n. 4, p.1751-1756, 2003.

BARSANTI, J. A.; FINCO, D. R. Protein Concentration in Urine of Normal Dogs. *Am. J. Vet. Res*, v. 40, n. 11, p.1583-1588, 1979.

BARTGES, J. W. Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. *Vet Clin North Am Pract Small Anim*, n. 42, p. 669-692, 2012.

BARTGES, J. W; POLZIN, D. J. Upper urinary tract disorders. *Nephrology and Urology of Small Animals*. Ed: Willy Blackwell, 1 ed, section5, p.431-616, 2011.

BRENNER, B.M.; MEYER, T.W.; HOSTETTER, T.H. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N Engl J Med*. v.307, n.11, p.652-659, 1982.

BROWN, S. A.; BROWN, C, CROWELL, W. et al. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid supplementation in early renal insufficiency in dogs. *J Lab Clin Med*, v.135, n. 3, p. 275-286, 2000.

BROWN, S.A.; CROWELL, W. A., BROWN J.A., et al. Pathophysiology and Management of Progressive Renal Disease. *Vet. J.* n. 154. p. 93-10, 1997.

BROWN, S.A. Diagnóstico y tratamiento de la insuficiencia renal crónica en perros. *Revista Waltham focus: Estudio Del Tracto urinario*, Edición especial, p.14-17, 2002.

BROWN, S. A. Effects of Dietary Lipids on Renal Function in Dogs and Cats. Supplement to *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v. 21. n.11. p.11-14, 1999.

BROWN, S.A.; FINCO, D. R.; BROWN, C. A. Is There a Role for Dietary Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation in Canine Renal Disease?. *The Journal of Nutrition*, v.128, p. 2765-2767,1998.

BROWN, S.A. Oxidative stress and chronic kidney disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, v. 38, p.157-166, 2008.

BRUM, A. M.; CINTRA, P. P.; MAMÃO, L. D. Perfil eritrocitário e leucocitário de cães com doença renal crônica em relação à severidade da azotemia. *Vet. Not.*, Uberlândia, v.18, n.1, p. 64-73, 2012.

CARCIOFI, A. C.; BAZOLLI, R.S.; PRADA, F. Ácidos graxos poliinsaturados  $\omega 6$  e  $\omega 3$  na alimentação de cães e gatos. *Rev. educ. contin. CRMV-SP*. São Paulo, v.5, p. 268-277, 2002.

CATERINA, R.; CAPRIOLI, R.; GIANNESI, D. et al. n-3 fatty acids reduce proteinuria in patients with chronic glomerular disease. *Kidney International*, v. 44, p. 843-850, 1993.

CHEW, D. J.; DIBARTOLA, S. P.; SCHENCK, P. A. Cystitis and Urethritis: Urinary Tract Infection. *Canine and Feline Nephrology and Urology*, ed: Elsevier, 2 ed, cap. 8, p.240-271, 2011.

CLARK, W.; PARBTANI, A.; PHILBRICK, D. J. et al. Chronic Effects of  $\omega 3$  fatty acids (Fish Oil) in a Rat 5/6 Renal Ablation Model. *J. Am. Soc. Nephrol*, v. 1, p.1343-1353, 1991.

CONNOR, W. E. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am J Clin Nutr*. Printed in USA. American Society for Clinical Nutrition, v. 71, p. 171-175, 2000.

DIBARTOLA, S. P. Abordagem clínica e avaliação laboratorial da doença renal. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 5. ed. São Paulo: Manole, p.1686-1701, 2004.

ELLIOT, D. A. Nutritional management of chronic renal disease in dogs and cats. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*. Ed: Philadelphia, v. 36, p. 1377-1384, 2006.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.43, n.1, p.61-68, 1997.

FINCO, D.R. Urinary protein loss. In: OSBORNE, C.A.; FINCO, D.R. *Canine and feline nephrology and urology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 2.ed, p.211-215, 1995.

FIORAVANTI, M. C. S. Suporte nutricional de pacientes nefropatas. In: *Simpósio De Nefrologia Veterinária*, 2002, Belo Horizonte. *Anais...Belo Horizonte: UFMG*, 2002.

GALLE, J. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v.16, n.11, p.233-235, 2001.

GALVÃO, A. L. B. Estresse oxidativo nos estágios finais Da doença renal crônica em pequenos animais. *Archives of Veterinary Science*, v.14, n.3, p.178-186, 2009.

GARÓFOLO, A.; PETRILLI, A. S. Balanço entre ácidos graxos ômega-3 e 6 na resposta inflamatória em pacientes com câncer e caquexia. *Revista de Nutrição*. Campinas, v. 19, n.5, p.611-621, 2006.

GERIOOX. Carlos D. Corrales. Buenos Aires: LABYES, Laboratório de Especialidades Veterinárias em Pequenos Animais. Bula, 2005.

GRAUER, G. F. Insuficiência renal aguda e doença renal crônica. In: NELSON, N.W.; COUTO, C.G. *Medicina interna de pequenos animais*. Rio de Janeiro: Elsevier, p.647-662, 2010.

GRAUER, G. F.; THOMAS, C. B.; EICKER, S. W. Estimation of quantitative proteinúria in the dog, using the protein-to-creatinine ration from a random, voided sample. *Am. J. Vet. Res*, v. 46, n. 10, p. 2116-2119, 1985.

HEAD, E.; ROFINA, J.; ZICKER, S. Oxidative Stress, Aging and CNS disease in the Canine Model of Human Brain Aging. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, v. 38, n.1, p. 1-10, 2008.

HEIENE, R.; LEFEBVRE, H. P. Assessment of renal function. In: ELLIOTT, J.; GRAUER, G. F. *BSAVA Manual of Canine And Feline Nephrology And Urology*. Ed: Elsevier. 2 ed., cap. 9, p. 117-126, 2007.

HERNÁNDEZ, D.; S. GARCÍA, S.; A. GONZÁLEZ, A. et al. Eficacia de los ácidos grasos omega-3 en las enfermedades renales: ¿está justificado su empleo? *Nefrología*, v. 25, n.3, p.221-232, 2005.

HOSKINS, J. D. Sistema Urinário. In: *Geriatría e Gerontologia do Cão e Gato*. 2 ed. São Paulo: Roca, p. 351-360, 2008.

HUBER, M. L.; BILL, R. L. The use of polysulfated glycosaminoglycan in dogs. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, v. 16, p.501-506, 1994.

IRIS Staging of CKD, 2009. Disponível em: <[http://www.iris-kidney.com/guidelines/en/staging\\_ckdl](http://www.iris-kidney.com/guidelines/en/staging_ckdl)>. Fecha de acceso: 15 fev. 2012.

JABER, B. L.; CENDOROGLO, M.; BALAKRISHNAN, V. S. Apoptosis of leukocytes: Basic concepts and implications in uremia. *Journal of Leukocyte Biology*, Bethesda, v. 69, p.1006-1012, 2001.

KANEKO, J. J.; MATTHEEUWS, D.; ROTTIERS, R. P.; et al. Renal clearance, insulin secretion and glucose tolerance in spontaneous diabetes mellitus of dogs. *The Cornell Veterinarian*, Cornell, v.69, n.4, p.b375-383, 1979.

KATZUNG, B. G. Os eicosanóides: Prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos. In: *Farmacologia Básica e Clínica*. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 18, p. 263-274, 2007.

KIRSZTAJN, G. M.; Souza, E.; Romão J. E. et al. Doença Renal Crônica (Pré-terapia Renal Substitutiva): Diagnóstico. Projeto Diretrizes. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, p. 1-22, 2011.

LAZARETTI, P.; KOGIKA, M. M.; HAGIWARA, M. K.; LUSTOZA, M. D.; MIRANDOLA, R. M. S. Concentração sérica de paratormônio intacto em cães com insuficiência renal crônica. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 58, n. 4, p.489-494, 2006.

LESS, G. E.; BROWN, S. A.; ELLIOTT, J.; GRAUER, G.F. VADEN, S. L. Assessment and Management of Proteinuria in Dogs and Cats: 2004

ACVIM Forum Consensus Statement (Small Animal). ACVIM Consensus Statement. Vet Intern Med. n. 19, p.377-385, 2005.

LOCATELLI, F.; CANAUD, B.; ECKARDT, K.U. et al. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. Nephrology Dialysis Transplantation, v.18. n.7, p.1272-1280, 2003.

LOFGREN, R. P.; WILT, T. J.; NICHOL, K. L. The Effect of Fish Oil Supplements on Blood Pressure. American Journal of Public Health, v. 83, p. 267-269, 1993.

LULICH, J.P.; OSBORNE, C.A. Interpretation of urine protein-creatinine ratios in dogs with glomerular and nonglomerular disorders. Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian, v.12, n.1, p.59-72, 1990.

MAFRA, D.; ABDALLA, D. S. P.; COZZOLINO, S. M. F. Peroxidação lipídica em pacientes com insuficiência renal crônica. Rev. Nutr., Campinas, v.12, n.3, p.205-212, 1999.

MARTINS, C.; CUPPARI, L.; AVESANI, C.; et al. Terapia nutricional para pacientes na fase não-dialítica da doença renal crônica. Projeto Diretrizes Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, p. 1-10, 2011.

MARTINS, M. B.; SUAIDEN, A. S.; PIOTTO, R.F. et al. Propriedades dos ácidos graxos poliinsaturados – Omega 3 obtidos de óleo de peixe e óleo de linhaça. Rev Inst Ciênc Saúde, v. 26, n. 2, p. 153-156, 2008.

NATH, K.A.; SALAHUDEEN, A.K. Induction of renal growth and injury in the intact rat kidney by dietary deficiency of antioxidants. The Journal of Clinical Investigation, v.86, n. 4, p.1179-1192, 1990.

ONGAJOOTH, L.; ONGAJYOOOTH, S.; LIKIDLILID, A.; et al. Role of lipid peroxidation, trace elements and antioxidant enzymes in chronic renal disease patients. Journal of the Medical Association of Thailand, Bangkok, v.79, n.12, p.791-800, 1996.

PERINI, J. A. L.; STEVANATO, F. B.; SARGI, S. C. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. *Rev. Nutr.*, Campinas, v. 23, n.6, p. 1075-1086, 2010.

POLZIN, D. J. Chronic Kidney Disease in Small Animals. *Veterinary Clinical Small Animal*, v.41, p.15-30, 2011.

POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A.; ROSS, S. Chronic renal failure. In: ETTINGER S.J.; FELDMAN E.C. (ed.) *Textbook of veterinary internal medicine*. 6th. Philadelphia: W. B. Saunders, v.2, p.1756-1785, 2005.

REGO, A.B.A.S.; KOGIKA, M.M.; SANTORO, M.L. et al. Eletroforese das proteínas urinárias de cães normais e cães com doença renal em gel de sódio-dodecil-sulfato poliacrilamida (SDS-PAGE). *Veterinária Notícias*, v.7, n.2, p.65-72, 2001.

SANTOS, C. V. Sulfato de condroitina: da matéria-prima à terapêutica. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul. Monografia. Faculdade de Veterinária. Porto Alegre, 80p., 2009.

SCHARSCHMIDT, L. A.; GIBBONS, N. B.; MCGARRY, L. et al. Effects of dietary fish oil on renal insufficiency in rats with subtotal nephrectomy. *Kidney International*, v. 32, p. 700-709, 1987.

SCOTT, A.N.D. Oxidative stress and chronic kidney disease. *J. Vet. Clin. North Small Anim. Pract*, v. 38, p.157-166, 2008.

SOUZA, S. M. G.; ANIDO, R. J. V.; TOGNON, F. C. Ácidos graxos Ômega-3 e Ômega-6 na nutrição de peixes – fontes e relações. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, Lages, v.6, n.1, p. 63-71, 2007.

TASSINI, L. E. S.; VEADO, J. C. C.; VALLE, P. G. et al. Ômega-3 como terapia renoprotetora na doença renal crônica. In: *Simpósio Internacional de Nefrologia e Urologia Veterinárias*, 1.Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: SINUV, 2011. CD- ROM.

TOFT, I.; BONAA, K. H.; INGEBRETSEN, O. C. et al. Effects of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Glucose Homeostasis and Blood Pressure in Essential Hypertension: A Randomized, Controlled Trial. *Ann Intern Med*. v.123, n.12, p. 911-918, 1995.

VAUGHN, D. M. et al. Evaluation of effects of dietary n-6 to n-3 fatty acid ratios on leukotriene B synthesis in dog skin and neutrophils. *Veterinary Dermatology*, v. 5, n. 4, p. 163- 173, 1994.

VEADO, J. C. C. Doença Renal crônica. *Informativo científico. FVR discuss*. p.1-19, 2011.

VEADO, J. C. C.; RIBEIRO, V. M.; BANDEIRA, C. M. Associação de alfa-cetoanálogos e aminoácidos essenciais: modo de ação e sua contribuição na terapia das nefropatias. *Nosso Clínico*, n.45, mayo/junio, p. 38-46, 2005.

VEADO, J. C. C.; VALLE, P. G.; TASSINI, L. E. S. et al. Efeito de Ômega 3 e Antioxidantes em Cães Portadores de Doença Renal Crônica – Relato de Casos. In: Congresso Medvep de Especialidades Veterinárias. 3p. jul.2013.

VIANNA, H. R.; SOARES, C. M. B. M.; TAVARES, M. S. et al. Inflamação na doença renal crônica: papel de citocinas. J. Bras. Nefrol, v.33, n.3, p. 351-364, 2011.

WONG, C.Y.; YIU, K. H.; LIT, S. W. et al. Fish-oil supplement has neutral effects on vascular and metabolic function but improves renal function in patients with Type 2 diabetes mellitus. Journal compilation Diabetes UK. Diabetic Medicine, 27.p. 54-60, 2010.

## 7. ANEXOS

ANEXO I – Certificado del Comité de Ética en Experimentación Animal



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**CEUA**

**COMISSÃO DE ÉTICA EN EL USO DE ANIMALES**

### **CERTIFICADO**

Certificamos que el Protocolo nº 267/2012, relativo al proyecto bajo el título “EFECTO RENOPROTECTOR DE OMEGA 3 Y ANTIOXIDANTES EN PERROS PORTADORES DE ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA”, cuyo responsable es Júlio César Cambraia Veadó, cumple los Principios Éticos de la Experimentación Animal, adoptados por la Comisión de Ética en el Uso de Animales (CEUA/UFMG), habiendo sido aprobado en la reunión de 25/10/2012. Este certificado tiene validez hasta el 25/10/2017.

### **CERTIFICATE**

We hereby certify that the Protocol nº. 267 / 2012, related to the Project entitled “RENOPROTECTION EFFECTS OF THE OMEGA 3 AND ANTIOXIDANTS IN DOGS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE.”, under the supervision of Júlio César Cambraia Veadó, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEUA/UFMG), and was approved in 25/10/2012. This certificate expires in 25/10/2017.

**FRANCISNETE GRACIANE ARAUJO MARTINS**

Coordinador(a) de la CEUA/UFMG

Belo Horizonte, 25/10/2012.

Atentamente.

Sistema CEUA-UFMG

<https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/>

Universidade Federal de Minas Gerais Avenida Antônio  
Carlos, 6627 – Campus Pampulha Unidad  
Administrativa II – 2º Piso, Oficina 2005  
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil  
Teléfono: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592  
[www.ufmg.br/bioetica/cetea](http://www.ufmg.br/bioetica/cetea) - [cetea@prpq.ufmg.br](mailto:cetea@prpq.ufmg.br)

## ANEXO II – Acuerdo de Consentimiento Libre e Informado

**Aquiescencia/Consentimiento libre e informado**

Yo, Sr (a) \_\_\_\_\_, portador(a) del RG: \_\_\_\_\_, CPF: \_\_\_\_\_, con domicilio real y legal en la calle \_\_\_\_\_, Barrio: \_\_\_\_\_, Ciudad: \_\_\_\_\_, MG, CP \_\_\_\_\_, Tel: \_\_\_\_\_, Cel: \_\_\_\_\_, e-mail: \_\_\_\_\_, *por este acto ofrezco la participación de mi (s) animal (es) de la especie canina de nombre \_\_\_\_\_, raza \_\_\_\_\_, sexo \_\_\_\_\_, edad \_\_\_\_\_, para participar de este proyecto.*

*Según me fue informado, mi participación en este proyecto es voluntaria, no habiendo ningún costo a mí trasladado, por lo tanto, no existe remuneración o vínculo laboral, y podré negarme a participar y retirar mi animal del estudio sin perjuicio ni justificación en cualquier momento.*

*Fui informado de que no existe riesgo asociado al tratamiento, siendo que cualquier enfermedad que surgiere durante la investigación no será responsabilidad del equipo, ya que los procedimientos adoptados no están asociados a ningún daño a la salud. De este modo, el equipo de trabajo queda desobligado de tratar esa enfermedad en el(los) animal(es) durante el estudio.*

*Al participar de este estudio, permitiré que el (la) médico(a) veterinario(a) realice extracciones de sangre, orina, examen de imagen (ecografía abdominal) y evaluación clínica, quedando los resultados obtenidos de los exámenes a mi entera disposición. También me fue informado que se recolectarán datos sobre mi animal y el modo como fue criado.*

*La participación en este proyecto no conlleva complicaciones legales. Los procedimientos adoptados en este proyecto se rigen por los Principios Éticos en la Experimentación Animal según el Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) y por la Ley Federal 11794, del 8 de octubre de 2008.*

*Toda la información recolectada en este estudio se utilizará exclusivamente para fines académicos.*

\_\_\_\_\_  
Firma del (de la) Propietario(a)

\_\_\_\_\_  
Pillar Gomide do Valle (*Maestranda*)

\_\_\_\_\_  
Júlio César Cambraia Veado (*Tutor*)

Belo Horizonte, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_.

ANEXO III – Prospecto Gerioox®

**GERIOOX** <sup>®</sup>  
**Antioxidante**  
**Condroprotector**  
**Omega 3**

**LABYES** <sup>®</sup>  
 ESPECIALIDADES VETERINARIAS

**GERIÁTRICO****Caninos y felinos****USO VETERINARIO**

Fórmula:

Cada comprimido contiene:

Ácidos Grasos Omega 3.....	0,200 ml	Gluconato de Zn.....	0,020 g
Glucosamina.....	0,140 g	Selenito de Na.....	0,005 mg
Sulfato de Condroitina .....	0,150 g	Vitamina E.....	0,050 g
Gluconato de Cu.....	0,003 g	Excipiente c.s.p.....	1,800 g

**Acción Terapéutica:**

El Zinc, el Cobre, el Selenio y la Vit. E son antioxidantes por excelencia, que actúan eliminando los radicales libres, residuo natural del metabolismo celular que, al no ser eliminados, dañan las células, acelerando el envejecimiento del organismo.

El Sulf. de Condroitina se encuentra en el tejido cartilaginoso articular y en la córnea ocular formando una matriz. Se trata de una estructura de alta carga aniónica y elevado peso molecular, características responsables por la atracción/retención de agua en el tejido. Por lo tanto, contribuye a mejorar la elasticidad y permite el ingreso de nutrientes y favorece la salida de catabolitos (residuos). Además, tiene una importante capacidad antiinflamatoria, en la medida en que inhibe el PGE2.

Las fibras colágenas y elásticas se encuentran entrelazadas en una matriz cartilaginosa formando un conjunto de consistencia firme, pero maleable.

El cartilago articular no tiene inervación, tampoco vascularización. Su nutrición se da por difusión, a través de los vasos del pericondrio que alcanzan el agua de esta\* matriz, nutriendo las células responsables de la producción de los glucosaminoglucanos y removiendo/sustituyendo las fibras colágenas y elásticas.

Otra acción relevante del Sulf. de Condroitina A es la mejora de la microcirculación arterial.

GERIOOX produce y sustituye el Sulf. de Condroitina faltante, ya que los animales maduros pierden la capacidad de sintetizar este importante elemento.

La glucosamina presente en Gerioox estimula la formación de ác. hialurónico, principal componente del líquido sinovial articular; además, proporciona alivio al cuadro sintomatológico (efecto analgésico y antiinflamatorio).

Gerioox aumenta el metabolismo de la matriz ósea y del tejido cartilaginoso favoreciendo una mejor absorción de calcio en los huesos de los animales maduros; ayuda en la regeneración en los procesos degenerativos articulares como es el caso de la osteoartritis. La glucosamina presente en Gerioox es sumamente necesaria en el tratamiento de procesos avanzados de osteoporosis. Los ác. grasos omega 3 en los animales maduros colaboran con la disminución de los procesos degenerativos e inflamatorios crónicos en la piel, mejorando significativamente el pelaje del animal.

La ingesta de ác. grasos omega 3 en animales maduros reduce considerablemente la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas, tales como colitis, artritis, carcinomas. Además, mejoran la elasticidad de las arterias, previniendo arteromas. La incorporación de ác. grasos omega 3 en la formulación de Gerioox, aporta el beneficio preventivo y terapéutico de la acción antiinflamatoria.

Los ác. grasos omega 3 se encuentran en altas concentraciones tanto en la grasa animal de los peces como el arenque, como también en la grasa de origen vegetal, como el aceite de lino.

La denominación ác. grasos no saturados está relacionada con el número y la posición del doble enlace. Los animales son incapaces de sintetizar un ác. graso en la posición 3, como tampoco pueden convertir un ácido en otro.

**Indicaciones:**

Geriatrico. Indicado para mejorar el estado general de los animales maduros. Por su contenido de ác. grasos omega 3 es indicado para cuadros que necesiten mejorar tanto la piel como el pelo de los animales maduros.

Puede detener los procesos catabólicos (lisis celular) propios de la etapa senil de los animales, mejorando su disposición y, en consecuencia, su calidad de vida.

Especialmente indicado como protector y coadyuvante al tratamiento de enfermedades osteoarticulares que con frecuencia aparecen en la etapa senil, tales como: osteoporosis, artrosis primarias o secundarias (artropatías degenerativas), artrosis de cadera por displasia, espondiloartrosis, condroprotección (uso de corticoterapia sistémica). Mejora la hidrofilia y la viscosidad del tejido cartilaginoso. Antioxidante.

**Posología:**

Gerioox puede ser administrado a perros y gatos. Para animales por debajo de los 25 kg, se recomienda la toma de 1 comprimido diario o 1/2 comprimido por la mañana y 1/2 comprimido por la tarde/noche. Para animales de mayor peso, se recomienda 2 comprimidos por día o 1 comprimido por la mañana y 1 comprimido por la tarde/noche. Duración recomendada del tratamiento: 2 meses o a criterio del Médico Veterinario.

**Contraindicaciones:**

Gerioox es un producto de origen natural, no contiene calmantes ni analgésicos o antiinflamatorios, razón por la que el producto es muy bien tolerado por los animales, aun cuando ya se encuentren en tratamiento con otros medicamentos. No administrar en animales con hipersensibilidad a los componentes de la fórmula.

**Presentaciones:**

Cajas conteniendo 20, 30 y 120 comprimidos.

**Precauciones:**

Conservar a temperatura entre 15 °C y 30 °C, en lugar limpio, fresco y seco, fuera del alcance de los niños y animales domésticos.

**Venta, prescripción y aplicación bajo orientación del Médico Veterinario.**

Licencia del Ministerio de Agricultura nº: 9451 del 23/01/2009.

Fabricante y Exportador:

LABYES S.A.

Abel Costa 833 (B1708JIO) Morón – Provincia de Buenos Aires, Argentina

**Representante exclusivo en Brasil, Importador y Distribuidor:**

LABYES DO BRASIL COM. IMP. & EXP. MED. PROD. VET. LTDA.

CNPJ(MF) nº 08.632.691/0001-58 - Av. Rouxinol, 1041 - Cj.: 601 - São Paulo - SP - CEP: 04516-001

Responsable Técnico: Jefferson Talarico - CRMV/SP nº:10275

[www.labyes.com.br](http://www.labyes.com.br)

Producto importado - Industria Argentina

## ANEXO IV – Historia Clínica

<b>Historia Clínica</b>			
<b>Nombre:</b>	<b>Nacimiento:</b>	<b>Sexo:</b>	<b>Raza:</b>
<b>Propietario:</b>			
<b>Domicilio:</b>		<b>Barrio:</b>	
<b>CP:</b>		<b>Ciudad:</b>	
<b>Tel.:</b>		<b>Cel:</b>	

**TIEMPO 0**

<b>Historial:</b>	<b>Fecha:</b> ____/____/____
<b>Observaciones:</b>	

**TIEMPO 1**

<b>Historial:</b>	<b>Fecha:</b> ____/____/____
<b>Observaciones:</b>	

**TIEMPO 3**

<b>Historial:</b>	<b>Fecha:</b> ____/____/____
<b>Observaciones:</b>	

**TIEMPO 4**

<b>Historial:</b>	<b>Fecha:</b> ____/____/____
<b>Observaciones:</b>	

## ANEXO V – Valores de Referencia

<b>Valores de Referencia Utilizados</b>	
Hematocrito	37,00 a 55,00 %
Plaquetas	200 a 500 mil/mm <sup>3</sup>
Leucocitos	5,5 a 16,5 mil/mm <sup>3</sup>
Urea sérica	15 a 40 mg/dl
Creatinina sérica	0,50 a 1,50 mg/dl
Fósforo sérico	2,5 a 5,5 mg/dl
Calcio sérico	9,0 a 11,3 mg/dl
Glucemia	60 a 110 mg/dl
Densidad urinaria	1015 a 1045 g/l
pH urinario	5,5 a 7,5
Relación proteína creatinina urinaria	< 0,2 - No Proteinúrico Entre 0,2 y 0,4 - Proteinúrico Leve > 0,4 - Proteinúrico
Tasa de Filtración Glomerular	2 a 4 ml/min/kg

Fuente: Polzin *et al.*, 2005; Heiene e Lefebvre, 2007; Grauer, 2010; Polzin, 2011.