

PERFIL HEMATOLÓGICO DE CÃES IDOSOS SADIOS OU COM DOENÇA RENAL CRÔNICA TRATADOS COM N-ACETILCISTEÍNA

GALVÃO, André Luiz Baptista¹
CARVALHO, Marileda Bonafim²

Recebido em: 2015.04.27

Aprovado em: 2015-12-17

ISSUE DOI: 10.3738/1982.2278.1470

RESUMO: O antioxidante N-acetilcisteína (NAC) possui ação protetora de membrana dos eritrócitos dentre outros efeitos antioxidantes benéficos, inclusive para os rins. Considerando que este fármaco pode ser útil para o tratamento de pacientes com doença renal crônica (DRC), o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos do tratamento com NAC sobre o perfil hematológico de cães idosos saudáveis ou com DRC naturalmente adquirida clinicamente estáveis. Foram avaliados quatro grupos de cães idosos (9 a 15 anos), compreendendo o normal controle (N-C; n=4), normal tratado (N-T; n=5), DRC controle (DRC-C; n=5) e DRC tratado (DRC-T; n=4). Os cães dos grupos N-T e DRC-T receberam como tratamento único a NAC na dose de 10mg/kg, V.O., b.i.d, durante 60 dias. Os cães dos grupos N-C e DRC-C não receberam qualquer tipo de tratamento. Os parâmetros contagem de hemácias (He), a taxa de hemoglobina (Hb), o hematócrito (Ht), o volume globular médio (VGM) e a concentração de hemoglobina globular média (CHGM), a contagem de plaquetas (Plaq.), a contagem total de leucócitos (Le), neutrófilos segmentados (Ns) e linfócitos (Li) foram avaliados antes (basal) e aos 15, 30, 45 e 60 dias de tratamento com NAC. Os dados foram submetidos à ANOVA e teste Tukey-Kramer ($\alpha=0,05$). No grupo DRC-T não foram observadas variações significativas dos parâmetros eritrocitários analisados. Mas, com relação aos cães do grupo N-T, observaram-se variações dos parâmetros hematológicos, cujas médias obtidas aos 60 dias de tratamento foram significativamente maiores do que as respectivas médias basais. A média de He do grupo N-T, obtida aos 60 dias ($7,66 \pm 0,66 \times 10^6/\mu\text{L}$) foi significativamente maior do que a basal ($6,36 \pm 0,82 \times 10^6/\mu\text{L}$) e a média de Ht, obtida aos 60 dias, ($53 \pm 4,7\%$) foi significativamente maior do que a basal ($45 \pm 6,0\%$). Concluiu-se que a NAC pode ser indicada para cães idosos saudáveis, uma vez que não se observaram efeitos adversos, bem como que o tratamento com NAC aumentou o número de He e a percentagem do Ht de cães idosos saudáveis.

Palavras-chave: Anemia. Azotemia. Leucócitos.

HAEMATOLOGICAL PROFILE OF OLDER DOGS HEALTHY OR WITH CHRONIC DISEASE TREATED WITH N-ACETYLCYSTEINE

SUMMARY: The antioxidant N-acetylcysteine (NAC) has filed a protective membrane of erythrocytes among of others beneficial antioxidant effects, including to protection the kidneys. Considering that this drug may be useful for the treatment of patients with chronic kidney disease (CKD), the objective of this study was to evaluate the effects of NAC treatment on and haematological profile of older dogs healthy or with CKD naturally acquired clinically stable. Have been assessed four groups of older dogs (9-15 years), comprising normal control (N-C, n=4), normal treated (N-T, n=5), CKD control (CKD-C, n=5) and CKD treated (CKD-T, n=4). The animals of groups N-T and CKD-T as a single treatment received with NAC at a dose of 10mg/kg p.o., b.i.d., for 60 days. Dogs group N-C and CKD-C have not received any treatment. The parameters RBC, WBC, the hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), mean corpuscular (MCV) and mean corpuscular hemoglobin (MCH), neutrophils (Ns) and lymphocytes (Li) were evaluated before (baseline) and at 15, 30, 45 and 60 days of treatment with NAC. The data were submitted to ANOVA and Tukey-Kramer test ($\alpha=0,05$). CKD-T group there were no significant variations of hematological parameters analyzed. But with respect to dogs in group N-T, observed changes in erythrocyte parameters, which averages to 60 days of treatment were significantly higher than their baseline mean. The average RBC of the N-T obtained at 60 days ($7,66 \pm 0,66 \times 10^6/\mu\text{L}$) was significantly greater than baseline ($6,36 \pm 0,82 \times 10^6/\mu\text{L}$) and mean HCT obtained at 60 days ($53 \pm 4,7\%$) was significantly higher than baseline ($45 \pm 6,0\%$). It was concluded that NAC

¹ Docente do Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP) e FCAV - UNESP Jaboticabal-SP -

² Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia, FCAV/Unesp-Jaboticabal, Via de acesso "Prof. Dr. Paulo Donato Castellane" Km 5, Jaboticabal, SP 14884-900.

can be indicated for dogs healthy, since no adverse effects and treatment with NAC increased RBC and HCT of older dogs healthy.

Keywords: Anemia. Azotemia. Leukocytes.

INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada por lesões estruturais irreversíveis, quando se analisa o mecanismo fisiopatológico básico dos transtornos renais, observa-se a existência de fatores que predisõem ao desequilíbrio oxidativo (NEWMAN, 2012). O estresse oxidativo é definido como o acúmulo de espécies reativas do oxigênio (ERO) que promovem danos aos componentes celulares (SHIMIZU *et al.*, 2005).

Experimentos realizados por Suliman *et al.*, (2002) avaliaram as concentrações plasmáticas de glutathione em pacientes humanos renais crônicos com graus diferentes de anemia, sendo constatado que, quanto menor o hematócrito, maior a diminuição das concentrações de glutathione total no interior das hemácias, indicando a diminuição dos mecanismos antioxidantes de defesa em pacientes doentes renais.

Lustoza (2004) avaliou as concentrações plasmáticas de glutathione total, reduzida e oxidada, superóxido-dismutase e o marcador de peroxidação lipídica malondialdeído em cães anêmicos com DRC e constatou ausência de diferença nas concentrações eritrocitárias da glutathione total e glutathione reduzida entre os grupos. Entretanto, houve aumento considerável nos valores das concentrações eritrocitárias de glutathione oxidada e da atividade enzimática eritrocitária superóxido-dismutase em cães anêmicos com DRC. Nestes animais, ainda, foram observadas concentrações plasmáticas maiores do marcador de peroxidação lipídica; desse modo, os resultados obtidos sugerem aumento do estresse oxidativo nos cães anêmicos com DRC.

Uma alternativa em terapia antioxidante é a N-acetilcisteína (NAC). Trata-se de um tiol, agente mucolítico e precursor da L-cisteína e glutathione reduzida nas células, fonte de grupos sulfidril e removedores de ERMO (ZAFARULLAH *et al.*, 2003).

Segundo Cuzzocrea *et al.*, (2001) este fármaco possui ação protetora na membrana dos eritrócitos. Contudo, o efeito deste antioxidante no perfil hematológico de cães idosos saudáveis ou com DRC não foi avaliado. Portanto, constituíram no objetivo do presente trabalho avaliar a ação do antioxidante NAC sobre o perfil hematológico no cão idoso saudável ou com DRC.

MATERIAL E MÉTODO

Foram estudados 18 cães idosos com a idade de nove a 15 anos, divididos em quatro grupos. Para a formação dos grupos, os cães passaram por uma avaliação clínica e laboratorial, de acordo com a abordagem semiológica descrita por Carvalho (2008). Foram, então, selecionados animais clinicamente saudáveis e animais com DRC naturalmente adquirida, sem infecção urinária ou outra doença concorrente, e com quadro clínico estável (IRIS, 2013).

Desta forma, de acordo com a concentração sérica de creatinina (Scr) e ureia (Sureia) na avaliação basal os animais foram distribuídos em quatro grupos. Um de cães idosos saudáveis (N-T) composto por 5 animais, com a média \pm erro padrão da Scr e Sureia de $1,03 \pm 0,08$ mg/dL e $21,98 \pm 5,53$ mg/dL, e um de doentes renais crônicos (DRC-T) formado por 4 cães, que apresentaram a média \pm erro padrão da Scr e Sureia de $2,03 \pm 0,49$ mg/dL e $65,39 \pm 21,29$ mg/dL, respectivamente, ambos os receberam o tratamento experimental com o antioxidante NAC.

Outros dois grupos, um de cães normais (N-C) constituído por 4 animais, com a média \pm erro padrão da Scr e Sureia de $0,76 \pm 0,10$ mg/dL e $18,01 \pm 2,12$ mg/dL, e um grupo de 5 cães doentes renais crônicos (DRC-C), que apresentaram a média \pm erro padrão da Scr e Sureia de $2,46 \pm 0,40$ mg/dL e $88,90 \pm 13,39$ mg/dL, respectivamente, serviram de controle, não sendo submetidos a nenhum tipo de medida terapêutica.

O tratamento experimental foi realizado com o antioxidante N-acetilcisteína (Fluimucil® suspensão 40mg/mL - Laboratório Zambon), administrado por via oral, na dose de 10mg/kg, b.i.d., durante 60 dias, nos grupos N-T e DRC-T. A dosagem foi estabelecida de acordo com o descrito por Papich (2009).

A condução do experimento seguiu um delineamento em blocos casualizados e, para cada animal, teve duração de 61 dias. Os parâmetros contagem de hemácias (He), a taxa de hemoglobina (Hb), o hematócrito (Ht), o volume globular médio (VGM) e a concentração de hemoglobina globular média (CHGM), a contagem de plaquetas (Plaq.), a contagem total de leucócitos (Le), neutrófilos segmentados (Ns) e linfócitos (Li) foram avaliados no dia zero, sendo feitas as primeiras avaliações (basal). Para os dois grupos que receberam o tratamento com NAC, a administração foi iniciada no dia um e seguiu, sem interrupção, até serem completados 60 dias. Todos os animais dos quatro grupos foram reavaliados nos parâmetros hematológicos aos 15, 30, 45 e 60 dias.

Durante todo o delineamento os procedimentos experimentais não promoveram alterações clínicas e/ou laboratoriais nos cães idosos saudáveis, bem como nos cães com doença renal crônica,

estes não apresentaram agravamento clínico, portanto, não houve necessidade de intervenção terapêutica durante o período de estudo.

As análises bioquímicas séricas, as amostras de soro foram processadas para determinação de creatinina (método Jaffé modificado) e ureia (método enzimático). Para as leituras empregou-se espectrofotômetro (LABTEST -Labest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG) semi-automático.

Os parâmetros He, Hb, Ht, VGM, CHGM, Pla. e Le foram obtidas com o auxílio de um contador automático (COULTER modelo ABC T8). As contagens diferenciais de leucócitos foram realizadas em esfregaços sanguíneos corados com mistura de Metanol, May-Gruwald e Giemsa. As amostras foram processadas no período máximo de uma hora após a coleta.

O método estatístico utilizado para avaliar as respostas foi a análise de variância com medidas repetidas. Comparações de médias aos pares foram feitas usando o Teste de Tukey-Kramer. Para todas as análises adotou-se $\alpha=0,05$. As análises foram realizadas por meio do software SAS 9.1.3., SAS Institute Inc., USA.

A utilização de animais, seguindo o protocolo experimental do presente estudo, foi previamente aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Unesp - *campus* de Jaboticabal-SP conforme processo n.º 006823-09.

RESULTADO

No perfil hematológico, a contagem de He foi influenciada significativamente pelos fatores doença e tratamento, mas houve interação significativa entre doença, tratamento e tempo. Considerando as médias gerais de cada grupo, o N-T ($7,05 \pm 0,48 \times 10^6/\mu\text{L}$) teve valor significativamente maior do que o DRC-C ($5,50 \pm 0,11 \times 10^6/\mu\text{L}$) e não houve diferença significativa para as demais comparações (Tabela 1). O teste de comparação múltipla das médias evidenciou que no grupo N-T a média obtida aos 60 dias ($7,66 \pm 0,66 \times 10^6/\mu\text{L}$) foi significativamente maior do que a basal ($6,36 \pm 0,82 \times 10^6/\mu\text{L}$) e ambas não diferiram das médias obtidas nos momentos intermediários (15, 30 e 45 dias). Não foram observadas variações significativas ao longo do tempo dentro de cada um dos demais grupos (Tabela 2).

A taxa de Hb foi influenciada significativamente pelos fatores doença e tratamento, mas houve interação significativa entre doença e tratamento, e entre doença e tempo. Considerando as médias gerais de cada grupo, o N-T ($16,44 \pm 0,64\text{g/dL}$) teve valor significativamente maior do que o DRC-C ($13,63 \pm 0,29\text{g/dL}$) e não houve diferença significativa para as demais comparações (Quadro 1). O teste de comparação múltipla das médias não evidenciou variações significativas ao longo do tempo dentro de cada grupo (Tabela 2).

A percentagem deHt foi influenciada significativamente pelos fatores doença e tratamento, mas houve interação significativa entre doença, tratamento e tempo. Considerando as médias gerais de cada grupo, o N-T ($49,44 \pm 3,13\%$) teve valor significativamente maior do que o DRC-C ($38,73 \pm 1,02\%$) e o DRC-T ($43,46 \pm 1,42\%$) e a média do N-C não diferiu significativamente das demais (Tabela 1). O teste de comparação múltipla das médias evidenciou que no grupo N-T a média obtida aos 60 dias ($53 \pm 4,7\%$) foi significativamente maior do que a basal ($45 \pm 6,0\%$) e ambas não diferiram das médias obtidas nos momentos intermediários (15, 30 e 45 dias). Não foram observadas variações significativas ao longo do tempo dentro de cada um dos demais grupos (Tabela 2).

O VGM não foi influenciado significativamente pelos fatores doença, tratamento ou tempo, mas houve interação significativa entre doença e tempo. As médias gerais de cada grupo não diferiram significativamente entre si (Tabela 1). O teste de comparação múltipla das médias não evidenciou variações significativas ao longo do tempo dentro de cada grupo (Quadro 2).

O CHCM foi influenciado significativamente pelos fatores tempo e tratamento, mas houve interação significativa entre todas as combinações de fatores. Considerando as médias gerais de cada grupo, as médias do N-C ($35,57 \pm 1,08\text{g/dL}$) e do DRC-C ($35,39 \pm 0,84\text{g/dL}$) foram significativamente maiores do que a do N-T ($33,36 \pm 1,62\text{g/dL}$) e a média do DRC-T não diferiu significativamente das demais (Quadro 1). O teste de comparação múltipla das médias evidenciou que no grupo N-T as médias obtidas aos 30 dias ($32 \pm 0,9\text{g/dL}$) e aos 45 dias ($32 \pm 1,5\text{g/dL}$) foram significativamente menores do que a basal ($36 \pm 1,6\text{g/dL}$) e as três não diferiram significativamente das demais (Tabela 2).

A contagem de plaquetas não foi influenciada significativamente pelos fatores doença, tratamento ou tempo. As médias gerais de cada grupo não diferiram significativamente entre si (Tabela 1). O teste de comparação múltipla das médias não evidenciou variações significativas ao longo do tempo dentro de cada grupo (Tabela 2).

A contagem total de Le circulantes foi influenciada significativamente pelo fator doença, mas houve interação significativa entre doença e tratamento. Considerando as médias gerais de cada grupo, a do DRC-T ($11,04 \pm 0,70 \times 10^3/\mu\text{L}$) foi significativamente maior do que a do N-C ($7,46 \pm 0,35 \times 10^3/\mu\text{L}$) e ambas não diferiram significativamente das demais (Tabela 1). O teste de comparação múltipla das médias não evidenciou variações significativas ao longo do tempo dentro de cada grupo (Tabela 2).

A contagem de Ns foi influenciada significativamente pelo fator doença, mas as médias gerais de cada grupo não diferiram significativamente entre si (Quadro 1). O teste de comparação múltipla das médias não evidenciou variações significativas ao longo do tempo dentro de cada grupo (Tabela 2).

O número de Li foi influenciado significativamente pelos fatores doença e tratamento, cuja interação também foi significativa, contudo, as médias gerais de cada grupo não diferiram significativamente entre si (Tabela 1). O teste de comparação múltipla das médias não evidenciou variações significativas ao longo do tempo dentro de cada grupo (Tabela 2).

Tabela 1. Parâmetros hematológicos - avaliação dos efeitos do tratamento com n-acetilcisteína¹. Média \pm desvio padrão e resultados da análise estatística (ANOVA, $\alpha=0,05$) de dados obtidos em cinco avaliações de cães normais controle (N-C; n=4), cães normais tratados (N-T; n=5), cães com doença renal crônica controle (DRC-C; n=5) e cães com doença renal crônica tratados (DRC-T, n=4).

Variável	Médias gerais dos grupos			
	N-C	N-T	DRC-C	DRC-T
He	6,29 \pm 0,18 a ²	7,05 \pm 0,48 a	5,50 \pm 0,11 b	6,35 \pm 0,23 ba
Hg	15,62 \pm 0,37 ba	16,44 \pm 0,64 a	13,63 \pm 0,29 b	15,15 \pm 0,33 ba
Ht	44,42 \pm 1,28 ba	49,44 \pm 3,13 a	38,73 \pm 1,02 b	43,46 \pm 1,42 b
VGM	70,55 \pm 0,33 a	70,04 \pm 0,26 a	71,12 \pm 1,21 a	68,70 \pm 0,21 a
CHGM	35,57 \pm 1,08 a	33,36 \pm 1,62 b	35,39 \pm 0,84 a	34,89 \pm 0,77 ba
Plaq.	269,70 \pm 10,37 a	303,90 \pm 14,56 a	274,68 \pm 27,36 a	305,20 \pm 15,12 a
Le	7,46 \pm 0,35 b	8,23 \pm 0,69 ba	9,48 \pm 0,71 ba	11,04 \pm 0,70 a
Ns	5,59 \pm 0,31 a	5,98 \pm 0,41 a	7,07 \pm 0,68 a	8,31 \pm 0,61 a
Li	0,98 \pm 0,11 a	1,28 \pm 0,06 a	1,39 \pm 0,16 a	1,71 \pm 0,16 a

Variável	Sumário de resultados da análise de variância								
	R ²	CV	T	D	Trat	DxTrat	DxT	TratxT	DxTratxT
He	0,81	7,41	ns	**	**	ns	ns	ns	*
Hg	0,87	4,65	ns	**	*	**	**	ns	ns
Ht	0,81	7,02	ns	**	**	ns	ns	ns	*
VGM	0,89	1,77	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
CHGM	0,63	4,55	*	ns	*	*	*	*	*
Plaq.	0,74	15,83	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Le	0,84	12,82	ns	**	ns	ns	*	ns	ns
Ns	0,79	17,04	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
Li	0,70	28,46	ns	*	*	ns	*	ns	ns

¹n-acetilcisteína na dose de 10mg/kg, V.O., b.i.d. durante 60 dias. ²Médias, na mesma linha, seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem estatisticamente entre si (Tukey-Kramer; $\alpha=0,05$). Variáveis: He = Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$); Hg = Hemoglobina (g/dL); Ht = Hematócrito (%); VGM = volume globular médio (fL); CHGM = concentração de hemoglobina globular média (g/dL); Plaq. = Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$); Le = Leucócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$); Ns = Neutrófilos segmentados ($\times 10^3/\mu\text{L}$); Li = Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$).

Fatores: T = fator tempo (basal, 15, 30, 45 e 60 dias); D = fator doença (sadio ou doente renal crônico); Trat = fator tratamento (sem tratamento ou tratado com n-acetilcisteína).

Tabela 2. Parâmetros hematológicos - avaliação dos efeitos do tratamento com n-acetilcisteína¹. Média \pm desvio padrão de dados obtidos em cinco avaliações de cães normais controle (N-C; n=4), cães normais tratados (N-T; n=5), cães com doença renal crônica controle (DRC-C; n=5) e cães com doença renal crônica tratados (DRC-T, n=4).

Variável	Tempo	Grupos			
		N-C	N-T	DRC-C	DRC-T
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	basal	6,54 \pm 0,80	6,36 \pm 0,82 ²	5,40 \pm 0,52	6,51 \pm 1,28
	15 dias	6,26 \pm 0,46	7,04 \pm 0,44 a	5,47 \pm 0,28	6,51 \pm 0,97
	30 dias	6,40 \pm 0,64	7,28 \pm 0,42 a	5,54 \pm 0,47	6,53 \pm 0,78
	45 dias	6,20 \pm 0,44	6,92 \pm 0,31 a	5,68 \pm 0,63	6,19 \pm 0,29
	60 dias	6,06 \pm 0,57	7,66 \pm 0,66 a	5,40 \pm 0,80	6,02 \pm 0,36
Hemoglobina (g/dL)	basal	16 \pm 1,8	16 \pm 1,6	13 \pm 0,9	15 \pm 1,7
	15 dias	16 \pm 1,3	17 \pm 1,3	14 \pm 0,6	15 \pm 1,9
	30 dias	16 \pm 1,4	16 \pm 1,1	14 \pm 1,0	16 \pm 0,9
	45 dias	15 \pm 1,1	16 \pm 1,1	14 \pm 1,1	15 \pm 0,9
	60 dias	16 \pm 1,5	17 \pm 0,9	14 \pm 1,1	15 \pm 0,7
Hematócrito (%)	basal	46 \pm 5,2	45 \pm 6,0 b	38 \pm 2,9	44 \pm 7,0
	15 dias	44 \pm 2,9	50 \pm 3,7 a	39 \pm 2,9	45 \pm 6,5
	30 dias	45 \pm 4,2	51 \pm 2,9 a	39 \pm 3,8	45 \pm 4,2
	45 dias	44 \pm 2,5	48 \pm 2,9 a	40 \pm 1,5	43 \pm 2,9
	60 dias	43 \pm 4,1	53 \pm 4,7 a	38 \pm 4,4	41 \pm 1,5
VGM (fL)	basal	71 \pm 1,8	70 \pm 2,5	70 \pm 4,8	69 \pm 4,1
	15 dias	71 \pm 2,1	70 \pm 2,8	73 \pm 2,3	69 \pm 3,9
	30 dias	71 \pm 1,9	70 \pm 2,4	71 \pm 5,2	69 \pm 3,9
	45 dias	70 \pm 2,2	70 \pm 2,7	70 \pm 4,2	69 \pm 3,9
	60 dias	70 \pm 2,9	70 \pm 2,5	72 \pm 1,8	69 \pm 4,6
CHGM (g/dL)	basal	35 \pm 1,0	36 \pm 1,6 a	35 \pm 2,4	34 \pm 1,9
	15 dias	35 \pm 1,2	34 \pm 1,4 a	35 \pm 2,5	35 \pm 1,8
	30 dias	35 \pm 1,4	32 \pm 0,9 b	35 \pm 1,4	35 \pm 1,2
	45 dias	37 \pm 0,6	32 \pm 1,5 b	35 \pm 1,5	36 \pm 1,6
	60 dias	37 \pm 0,8	33 \pm 3,1 a	37 \pm 1,8	36 \pm 2,6
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	basal	261 \pm 68	285 \pm 57	288 \pm 69	320 \pm 108
	15 dias	266 \pm 78	296 \pm 67	229 \pm 70	322 \pm 56
	30 dias	267 \pm 57	324 \pm 83	281 \pm 83	301 \pm 79
	45 dias	288 \pm 36	310 \pm 84	274 \pm 79	298 \pm 107
	60 dias	268 \pm 46	303 \pm 81	301 \pm 104	286 \pm 83
Leucócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	basal	7,6 \pm 1,5	7,3 \pm 1,7	10,3 \pm 1,9	11,5 \pm 1,8
	15 dias	7,8 \pm 2,5	8,6 \pm 2,3	8,8 \pm 0,8	11,5 \pm 284
	30 dias	7,1 \pm 1,3	8,4 \pm 2,5	8,7 \pm 2,0	9,9 \pm 2,1
	45 dias	7,8 \pm 1,4	7,9 \pm 1,6	9,7 \pm 3,2	10,9 \pm 1,6
	60 dias	7,1 \pm 2,0	9,0 \pm 1,7	9,9 \pm 3,0	11,4 \pm 2,4
Neutrófilos segmentados ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	basal	5,71 \pm 0,98	5,40 \pm 1,26	7,70 \pm 1,89	8,19 \pm 2,11
	15 dias	5,96 \pm 2,12	6,23 \pm 2,13	6,30 \pm 1,03	8,63 \pm 1,93
	30 dias	5,18 \pm 0,71	6,13 \pm 1,91	6,35 \pm 2,17	7,56 \pm 1,98
	45 dias	5,74 \pm 1,07	5,73 \pm 1,39	7,48 \pm 3,17	8,03 \pm 0,97
	60 dias	5,39 \pm 1,46	6,42 \pm 1,49	7,51 \pm 2,65	9,16 \pm 1,82
Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	basal	0,84 \pm 0,44	1,22 \pm 0,67	1,64 \pm 0,30	2,29 \pm 0,42
	15 dias	1,00 \pm 0,32	1,29 \pm 0,57	1,32 \pm 0,39	1,71 \pm 0,71
	30 dias	0,90 \pm 0,41	1,36 \pm 0,72	1,42 \pm 0,35	1,47 \pm 0,37
	45 dias	1,08 \pm 0,55	1,23 \pm 0,51	1,21 \pm 0,18	1,69 \pm 0,81
	60 dias	1,08 \pm 0,67	1,31 \pm 0,72	1,34 \pm 0,43	1,42 \pm 0,50

¹ n-acetilcisteína na dose de 10mg/kg, V.O., b.i.d. durante 60 dias.² Quando constar, para cada variável em particular, médias da mesma coluna seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem estatisticamente entre si (Tukey-Kramer; $\alpha=0,05$).

DISCUSSÃO

Segundo Schmid e Schiffll (2010) anemia é um dos achados mais comuns em pacientes com DRC. Alguns artigos como o apresentado por King et al. (1992), atribuem a condição exclusivamente a diminuição das concentrações séricas de eritropoetina, contudo, a patogenia é mais complexa. Múltiplos fatores favorecem o desenvolvimento de anemia do tipo normocíticonormocrômico, não regenerativo nos doentes renais crônicos. Dentre eles, estão incluídos (1) redução do tempo de vida do eritrócito, em parte devido à elevação das concentrações paratormônio e outras toxinas urêmicas, e (2) redução da concentração de glutathione eritrocitária, que induz diminuição da resiliência e aumento da fragilidade osmótica das células vermelhas (MAC DOUGALL, 2001, BURANAKARL et al. 2008, SCHMID; SCHIFFL, 2010). De fato, em nosso trabalho foi constatado que o grupo DRC-C, em comparação ao N-C, apresentou médias menores relativas a contagem de He. As análises das variáveis de Hb e Ht do DRC-C indicaram que as médias só foram significativamente menores quando comparadas ao grupo N-T. Estes resultados podem ser mais bem compreendidos se for observado que os três parâmetros eritrocitários foram influenciados significativamente pelo fator doença, mas também pelo fator tratamento. Ainda, no grupo N-T na comparação múltipla de médias observou-se que, valores das médias aos 60 dias se mostraram superiores aos valores da avaliação basal, no que se refere ao número de He e a percentagem doHt. Embora, tenham sido encontradas algumas diferenças estatísticas que podem ser explicadas pela doença renal (DRC-C) ou pela ação da NAC, deve ser salientado que nenhum dos cães avaliados, sadios ou com DRC, estavam em um quadro típico de anemia, todos os animais avaliados apresentavam parâmetros eritrocitários, dentro do limite de normalidade, segundo valores estabelecidos por Feldman et al. (2000). Mas, de fato, os cães DRC-C já apresentavam parâmetros eritrocitários próximos dos limites inferiores do intervalo de normalidade. Outro ponto a ser ressaltado é que os cães do grupo N-C tinham parâmetros eritrocitários dentro do limite de normalidade e que mesmo com os aumentos, que podem ser relacionados à ação da NAC, os valores permaneceram dentro dos limites mencionados.

De acordo com Chang et al. (1978), Cuzzocrea et al. (2001) e Grinberg et al. (2005) o antioxidante NAC possui ação protetora aos eritrócitos de humanos e animais por sua ação: (1) antioxidante; (2) por ser precursora da glutathione; (3) por facilitar a entrada do oxigênio na célula; (4) por proteger a hemoglobina da oxidação; (5) facilitar a restauração do tiol celular e (6) pela ação de proteção das membranas biológicas. Estas propriedades podem justificar a elevação da contagem de He e elevação do Ht apresentado nos animais N-T do nosso estudo. Zembron-Lacny

et al. (2010) estudaram a ação do antioxidante NAC administrado via oral por oito dias, no perfil hematológico, de quinze homens saudáveis submetidos a exercícios físicos de exaustão, neste estudo, ocorreu o aumento da taxa de Hb, do VGM, e da percentagem do Ht, bem como, os marcadores do estresse oxidativo reduziram em 30% nos indivíduos estudados. Contudo, Güer et al. (1998) induziram estresse oxidativo em ratos e administraram o antioxidante NAC por via oral durante sete dias, na tentativa de proteger os eritrócitos, entretanto não houve diferença nas características eritrocitárias do grupo de animais tratados.

Conforme Shaul et al. (2001) e Litjens et al.(2006), nos pacientes com DRC tem sido reportado a atividade do paratormônio como um estimulador quimiotático de leucócitos, porém as células podem apresentar deficiência em sua capacidade de ação. Segundo Litjens et al. (2006) e Kralova et al. (2009) o mecanismo responsável por esta ação deficiente dos leucócitos, principalmente dos neutrófilos no paciente DRC, não está bem fundamentado, são discutidos os seguintes fatores de influência: (1) deficiência de zinco; (2) aumento do cálcio intracelular; (3) anemia e a (4) deficiência nutricional do paciente. Nossos dados mostraram que, embora dentro dos limites de normalidade, a contagem total de Le tendeu a ser maior nos DRC, mas só houve diferença significativa entre as médias do DRC-T e o N-C. Nos casos dos Ns dos Li as diferenças não foram significativas, embora, assim como foi com na contagem total de Le, o fator doença tenha influenciado significativamente os resultados. Lustoza (2004) em seu estudo constatou o aumento da glutatona oxidada e da atividade enzimática eritrocitária superóxido-dismutase em cães anêmicos com DRC, condições estas que indicam a presença do estresse oxidativo, nestes pacientes.

Segundo Lyn (2000) enfermidades que estão associadas com estresse oxidativo, em que ocorre a redução da glutatona intracelular, como a atividade do vírus da imunodeficiência humana (HIV), resulta em um aumento do processo de apoptose celular, por dano ao DNA da célula, e ainda ocorre depressão da glutatona, prejudicando assim a atividade de leucócitos, principalmente dos linfócitos; conforme Meier et al. (2002) e Moser et al. (2003) esta condição também é válida para o paciente com DRC. Desse modo, o uso de pró-farmacos de glutatona, como o antioxidante NAC, pode resultar em restabelecimento da glutatona intracelular segundo Lyn (2000) e Raju et al. (1994). De acordo com Marloni et al. (1993) a NAC demonstra um efeito benéfico em pacientes com HIV devido a sua capacidade antioxidante e restauração da glutatona intracelular, resultando nestes pacientes um aumento da glutatona intracelular, principalmente dos Li, o que resulta em um aumento do total de Le. Kaiser et al. (2006) realizaram um estudo com administração de NAC para pacientes com HIV e verificaram um aumento da contagem de Le e principalmente de Li quando comparado ao grupo de doentes HIV controle; resultados semelhantes aos relatados por Dröge et al.(1992). Cayota et al. (1996) descrevem que o

antioxidante NAC possui efeito inibitório no processo de apoptose celular dos Li, este efeito é proposto devido ao restabelecimento da glutathiona intracelular, bem como, a inibição da fragmentação do DNA dos linfócitos.

CONCLUSÃO

Durante a avaliação clínica e laboratorial de cães tratados com NAC foi observado em cães idosos saudáveis, o aumento da contagem de He e da percentagem deHt, como também, não foi notado efeitos colaterais, nos animais estudados. Estes achados apontam para a possibilidade de que a NAC possa ser indicada para melhorar a condição clínica e a qualidade de vida de cães idosos, uma vez que os cães estudados tinham idade superior a nove anos.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão do auxílio à pesquisa CNPq nº474017/2008-7; ao Serviço de Nefrologia e Urologia Veterinária do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Unesp, Câmpus de Jaboticabal/SP pela concessão dos animais; à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Câmpus de Jaboticabal/SP pela concessão dos laboratórios e de toda infraestrutura.

REFERÊNCIAS

BURANAKARL, C. et al. Relationships between oxidative stress markers and red blood cell characteristics in renal azotemic dogs. **Research in Veterinary Science**, Maryland Heights, v. 10, n. 2 p. 1010-103, 2008.

CARVALHO, M. B. Semiologia do sistema urinário. In: FEITOSA, L. et al. **Semiologia Veterinária: A arte do Diagnóstico**, 2º ed. São Paulo: Roca, 2008, cap. 09, p. 389-409.

CAYOTA, A., VUILLER, F., GONZALES G.; Dighiero G. In vitro Antioxidant treatment recovers proliferative responses of anergic CD4+ Lymphocytes from human immunodeficiency virus-infected individuals. **American Society of Hematology**, v. 87, n. , p.4746-4753, 1996.

CHANG, J. C.; VANDER HOEVEN, L., H.; HADDOX, C. H. Glutathione reductase in the red blood cells. **Annals of Clinical and Laboratory Science**, Middleybury, v.8, n. 1, p. 23-29, 1978.

CUZZOCREA, S. et al. Protective effects of N-acetylcysteine on lung injury and red blood cell modification induced by carrageenan in the rat. **The of Federation of American Society for Experimental Biology**, v. 15, n. 1, p. 1187-1200, 2001.

DRÖGE, W.; ECK, H. P.; MIHM S. HIV-induced cysteine deficiency and T-cell dysfunction – a rationale for treatment with N-acetylcysteine. **Immunology Today**, v. 13, n. 6, p. 211-214, 1992.

FELDMAN, B.F.; ZINK, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5ed. Lippincott Williams, Philadelphia, 2000, 1344p.

GÜER, J. et al. Antioxidant effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead-exposed rats. **Toxicology**, Reston, v. 128, n. 3, p. 181-189, 1998.

GRINBERG, L. et al. N-acetylcysteine amide, a novel cell-permeating thiol, restores cellular glutathione and protects human red blood cells from oxidative stress. **Free Radical Biology & Medicine**, Oxford, v. 38, n. 1, p. 136-145, 2005.

IRIS. **International Renal Interest Society**. Staging Chronic Kidney Disease (CKD) 2013. Disponível em <<http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS%20A4%20Poster.pdf>> Acesso em 14 abr. 2013.

KAISER, J. D. et al. Micronutrient supplementation increases CD4 count in HIV-infected individuals on highly active antiretroviral therapy: A prospective, double-blinded, placebo-controlled trial. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 42, n. 5, p. 523-528, 2006.

KING, L. G. et al. Anemia of chronic Renal Failure in dogs, **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Rick Skewes, v. 6, n. 5, 1992.

KRALOVA, S.; LEVA, L.; TOMAN, M. Polymorphonuclear function in naturally occurring renal failure in dogs. **Veterinarni Medicina**, Czech, v. 54, n. 5, p. 236-243, 2009.

LAURINDO, F. R. M. Desequilíbrio Redox. Resposta Cardiovascular à lesão da aterosclerose. **Endotélio e Doenças Cardiovasculares**. Da Luz L. P., Laurindo, Chagas CPA, São Paulo: Atheneu. 2003, cap. 8, p. 97-113.

LITJENS, N., H., R.; DRUNINGEN, C., J.; BETJES, M. G. H. Progressive loss of renal function is associated with activation and depletion of naïve T lymphocytes. **Clinical Immunology**, v. 118, p. 83-91, 2006.

LUSTOZA, M. D. **Avaliação do estresse oxidativo em cães com insuficiência renal crônica e anemia**. 2004. 91f. Dissertação de mestrado em medicina veterinária – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2004.

LYN, P. N. D. Nutrients and HIV: Part Three – N-acetylcysteine, Alpha-Lipoic Acid, L-Glutamine, and L-Carnitine. **Alternative Medicine Review**, Indena, v. 5, n. 4, p. 290-302.

MARLONI, W. et al. N-Acetylcysteine inhibits apoptosis and decreases viral particles in HIV – chronically infected. **Federation of American Society for Experimental Biology**, v. 3, n. 5, p. 327-375, 1993.

MACDOUGALL, R. C. Role of uremic toxins in exacerbating anemia in renal failure. **Kidney International**, New York, v. 59, suppl 78, p. S67-S72, 2001.

MEIER, E.; DAYER, E.B.; WAUTERS J.P. Early T cell activation correlates with expression of apoptosis markers in patients with end-stage renal disease. **Journal American Society Nephrology**, v. 3, p.204-212, 2002.

MOSER B.et al. 2003. Aberrant T cell activation and heightened apoptotic turnover in end-stage renal failure patients: a comparative evaluation between non-dialysis, haemodialysis, and peritoneal dialysis. **Biochem - Biopsy's Research**, v. 308, p.581-585, 2003.

NEWMAN, S. J. The urinary system, p.589-657. In: McGAVIN M.D.; ZACHARY J.F. (Eds), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5thed. Elsevier, St Louis, 2012, 1322p.

PAPICH, M. G. **Saunders Handbook of Veterinary Drugs**. 3^o edition, St. Louis: Elsevier, 2009, p. 05-06.

RAJU, P. A. HERZENBERG, L. A.; HERZENBERG, M.; ROEDER, M. Glutathione precursor and antioxidant activities of N-acetylcysteine and oxohiazolidine carbocylate compared in in vitro studies of HIV replication. **Research AIDS and Humans Retroviruses**, v. 10, n. 3, p. 961-967, 1994.

SCOTT, A. N. D. Oxidative stress and chronic kidney disease. **Veterinary Clinics of North American Small Animal Practice**, New York, v. 38, n. 1, p. 157-166, 2008.

SCHMID, H.; SCHIFFL, H. Erythropoiesis stimulating agents and anemia of end-stage renal disease. *Cardiovascular Hematology Agents*. v. 6, 2010.

SHAUL, G.; MASSARY, S.; SMORGORZEWSKI, M. Dysfunction of polymorphonuclear leukocytes in uremia: role of parathyroid hormone. **Kidney International**, New York, v. 59, S-195-196, 2001.

SHIMIZU, M.H.et al. N-Acetylcysteine attenuates the progression of chronic renal failure. **Kidney International**, New York, v. 68, n. 4, p. 2208-2217, 2005

SULIMAN, M. E.et al. Influence of nutritional status on plasma and erythrocyte sulphur amino acids, sulph-hydryls, and inorganic sulphate in end-stage renal disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, Oxford, v. 17, n. 6, p. 1050-1056, 2002.

ZAFARULLAH, M.et al. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. **Cellular and Molecular Life Sciences**, New York, v. 60, n.1, p. 6 - 20, 2003.

ZEMBRON – LACNY, A.et al. Modulatory effect of N-acetylcysteine on pro-antioxidant status and haematological response in healthy men. **Journal Physiology Biochem**, v. 32, n.1, p. 85-90, 2010.