RAFAEL GARABET AGOPIAN

Estudo morfométrico em rins de felinos domésticos (*Felis catus*)

São Paulo

2014

RAFAEL GARABET AGOPIAN

Estudo morfométrico em rins de felinos domésticos (*Felis catus*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Prof. Dr. Edson Aparecido Liberti

São Paulo

2014

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.3055
FMVZ

Agopian, Rafael Garabet
Estudo morfométrico em rins de felinos domésticos (*Felis catus*) / Rafael Garabet
Agopian. -- 2014.
80 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2014.

Programa de Pós-Graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

Orientador: Prof. Dr. Edson Aparecido Liberti.

1. *Felis catus*. 2. Estereologia. 3. Rim. 4. Colágeno. 5. Envelhecimento. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “Estudo morfométrico em rins de felinos domésticos (*Felis catus*)”, protocolado sob o nº 3035/2013, utilizando 30 (trinta) gatos, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. Edson Aparecido Liberti, foi aprovado em reunião de 26/6/2013 e está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

We certify that the Research “Morphometric study of kidneys in domestic cats (*Felis catus*)”, protocol number 3035/2013, utilizing 30 (thirty) dogs, under the responsibility Prof. Dr. Edson Aparecido Liberti, was approved in the meeting of day 6/26/2013 and agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee in the Use of Animals of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo.

São Paulo, 27 de junho de 2013.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: AGOPIAN, Rafael Garabet

Título: Estudo morfométrico em rins de felinos domésticos (*Felis catus*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

À minha querida e amada esposa Madalena, que sempre esteve ao meu lado e passou comigo quase metade da minha vida, grande companheira, amiga leal e parceira na plenitude do termo, se não fosse você não seria metade do homem que sou. Devo a você todo o sacrifício que fez e as coisas de deixou de fazer por mim.

Nesses 15 anos juntos cada dia que passa aumenta meu amor por você.

Ao meu grande amor, querido e abençoado filho Bernardo. Sincero e carinhoso, meu melhor amigo, meu grande campeão, nunca conseguirei expressar em palavras o que sinto por você, nos dias mais difíceis olhava você dormindo e tirava forças para seguir minha trajetória, sei que estive muito em falta com você, que sacrifiquei nosso tempo juntos com outras tarefas, mas foi você quem me manteve firme e persistente, foi por você que cheguei até aqui. “Papai te ama até a Lua ida e volta”.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Edson Aparecido Liberti, pelo carinho, amizade, dedicação, conselhos e por se tornar em minha vida um grande exemplo do significado da palavra “PROFESSOR”, grande mestre que traz consigo o entusiasmo do conhecimento e que me ensinou umas das coisas mais significantes para minha vida, o mais importante é a pessoa, o aluno, o próximo.

Ao Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato, símbolo desta conquista, idealizador e precursor de toda a minha história na pós-graduação da anatomia veterinária, querido e sábio professor que me acolheu como seu aluno e me proporcionou incríveis momentos de convivência, tenho a honra e o privilégio de dizer que participei da sua equipe e muito mais de fazer parte de sua história de vida.

Ao Prof. Dr. Antônio Fernandes Filho, meu grande mestre, pela criação e realização de minha carreira docente, exemplo de anatomista e de conduta ética acadêmica, em cada dia que coloco os pés em uma sala de aula, me lembro da sua figura e trabalho para que meus alunos tenham disponível o prazer do conhecimento, assim como tive com o senhor.

Ao Prof. Dr. José Roberto Kfoury Júnior pelo apoio e confiança, pela disposição em ajudar a resolver meus problemas.

À Profa. Dra. Maria Angélica Miglino pela colaboração em minha permanência na pós-graduação.

À minha grande companheira Madalena Favaro da Cunha Santos Agopian pelo apoio incondicional à todas as etapas de minha vida.

Ao meu querido e amado filho Bernardo Favaro Agopian pela alegria e força em minha vida, pela compreensão e por cuidar do nosso grande amor, a mamãe, em minha ausência.

Aos meus pais João Batista Agopian e Lucia Tersimanian Agopian pelo exemplo e dedicação em sempre fazer o melhor pelos filhos, por exigir nada menos do que

integridade, responsabilidade e honestidade, e acima de tudo pelo amor incondicional que deram a mim e a meus irmãos.

Aos meus irmãos Andréia, Marcelo e Luciana, meus cunhados Eduardo, Vanessa e Rodrigo e meus sobrinhos Gabriel, Leonardo, Vitor, Gustavo, Samira, Matheus, Eloah e Matheus Augusto, pela participação dos momentos mais felizes de minha vida.

À Kátia Pimenta Guimarães, amiga dedicada, pelo apoio e toda ajuda na aquisição das amostras, coleta dos dados e participação de todas as etapas deste trabalho, muito obrigado, este trabalho também é seu.

Ao meu grande amigo Marcos Vinícius Mendes Silva (Marcão), por estar sempre junto apoiando, ajudando e me livrando de problemas. Sempre serei grato à você pelo companheirismo.

À Cleide Rosana Duarte Prisco pela ajuda e empenho na realização das análises estatísticas.

À querida Marta Maria da Silva Righetti a nossa “Martinha”, santo anjo que caiu do céu no laboratório multidisciplinar do Instituto de Ciências Biomédicas III, sempre disposta a ajudar, traz consigo um sorriso e um carinho contagiante. Pela elaboração dos protocolos de histológicos e pela imensa contribuição no processamento do material.

À médica veterinária Dra. Dilaila Kely de Abreu pelo empenho na aquisição das amostras deste trabalho.

À todos os colegas do “VQM”, grande família que conheci e tenho o privilégio de fazer parte, um grupo único que sempre se dispõe a ajudar, simplesmente por ajudar. Vocês são de mais, Jodonai Barbosa da Silva, Joice Naiara B. Pereira, Josy Alvarenga Cal Rosa, Liliana Ribeiro, Aline Rosa Marosti Bobna, Any Kelly Gomes de Lima, Cristina de Souza Bolina, Aline Gonçalves, Flávio Silva Tampelini, Paula Henrique de Matos Alves, Regina de Sousa Bolina Matos, Marcelo Arthur Cavalli, Lidia dos Santos R. Cruz, Ligia Pelosi, Ricardo Bandeira (Teves) e Sebastião Aparecido Boleta.

À Renata Avancini Fernandes Nogueira pela grande ajuda, sempre presente nos momentos difíceis, desde o meu ingresso até o término desta etapa na pós-graduação.

Ao amigo Rafael Cardoso Carvalho pelo incentivo e participação de etapas importantes em minha carreira docente, pelas grandes discussões anatômicas e por compartilhar de grande conhecimento na área.

Ao meu grande amigo Arthur Alonso Almeida Souza, um verdadeiro irmão que ganhei da vida, sempre ao meu lado para o que der e vier, um grande parceiro que viabilizou projetos, singular amizade, juntos seja onde e como for.

À Raquel Harue Fukumori pela participação na etapas deste e de muitos outros feitos.

Ao meu querido Davi (Di), uma grande alegria em minha vida, moleque sapeca que sempre traz felicidade consigo, contagiando à todos por passa.

Aos meus amigos Edilson Junior e Rafael Hayashi, por estarem sempre me ajudando, presentes e dispostos a facilitar minha vida.

À Ana Paula Grabner, querida amiga, exemplo de profissional, que muito me ajudou, me incentivou e me proporcionou grandes momentos no exercício da docência.

Ao meu grande e querido amigo Prof. Dr. Celso Martins Pinto que sempre me esteve presente ajudando e incentivando a realização de conquistas.

À toda equipe do Centro Veterinário Butantã (CVB) por proporcionar a realização de um sonho.

Aos meus queridos alunos pela colaboração na mais prazerosa atividade que já desempenhei, a docência.

RESUMO

AGOPIAN, R. G. **Estudo morfométrico em rins de felinos domésticos (*Felis catus*)**. [Morphometric study in kidneys of cats (*Felis catus*)]. 2014. 80 f. Tese de Doutorado em Ciências – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

A saúde renal tem ao longo dos últimos anos chamado atenção dos médicos veterinários, pois o comprometimento deste órgão na insuficiência renal crônica se apresenta como a maior causa de morbidade e mortalidade em felinos. O presente estudo propõe a caracterização biométrica dos rins de gatos, *Felis catus*, sob os aspectos macroscópico (comprimento, altura, largura, peso e volume), mesoscópico (altura do córtex e da medula, e a sua inter-relação) e microscópica (volume glomerular), a fim de se estabelecer possíveis diferenças decorrentes de idade, sexo e simetria bilateral. Foram utilizados, rins de 30 animais da espécie *Felis catus* (gato doméstico), sendo 15 machos e 15 fêmeas com idade variando entre 3 meses a 15 anos, divididos em três grupos: grupo 1 (3 a 9 meses), grupo 2 (3 a 5 anos) e grupo 3 (acima de 10 anos). Os rins foram fotografados, pesados, mensurados e processados para histologia. O volume glomerular foi obtido através de estereologia. Os dados macroscópicos permitiram observar uma imparcialidade morfométrica e morfológica quando comparados os lados, independente do grupo e do sexo, sobre o comprimento, altura, largura, peso e volume dos rins. Para o sexo foi detectado diferença significativa entre machos e fêmeas independente da faixa etária para comprimento, altura, peso e volume, com exceção da largura. Considerando a idade houve diferença significativa para todos os parâmetros: comprimento, altura, largura, peso e volume. Nas mensurações de córtex, medula e sua inter-relação, quando considerada a simetria bilateral, não foi detectada diferença significativa entre rim direito e esquerdo. Para o sexo, não foi detectada diferença entre machos e fêmeas na mesoscopia no córtex, na medula e na inter-relação córtex / medula. Quanto à idade, a mensuração da altura do córtex e a inter-relação córtex / medula apresentou diferença significativa, porém essa diferença não foi estabelecida para a medula do rim. Foram encontradas diferenças significantes entre grupos e entre machos e fêmeas, em relação ao volume ocupado pelo glomérulo no parênquima

renal. Em todas as técnicas biométricas utilizadas não foram detectadas diferenças entre os rins direito e esquerdo. As mensurações macroscópicas mostraram que machos apresentaram um rim maior em comprimento, altura, largura, peso e volume do que as fêmeas. A faixa etária está diretamente relacionada ao tamanho do rim, que cresce em todas as dimensões, fica mais pesado e com maior volume quando comparados jovens e adultos, e se mostra estável morfometricamente em relação aos adultos e senis. O parênquima renal não difere entre os sexos, mas a altura do córtex e a relação com a medula aumentam com a idade. O volume do glomérulo renal é maior em machos do que em fêmeas e também aumenta em relação à idade. Os rins mostraram um predomínio de colágeno tipo I nos animais do grupo 1 e 2, e colágeno tipo III nos animais do grupo 3.

Palavras-chave: *Felis catus*. Estereologia. Rim. Colágeno. Envelhecimento.

ABSTRACT

AGOPIAN, R. G. **Morphometric study in kidneys of cats (*Felis catus*)**. [Estudo morfométrico em rins de felinos domésticos (*Felis catus*)]. 2014. 80 f. Tese de Doutorado em Ciências – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Renal Health has over the last few years called attention from veterinarians because of the commitment of this organ in chronic renal failure presents itself as a major cause of morbidity and mortality in cats. This paper proposes biometric characterization of the kidneys from cats, *Felis catus*, on the macroscopic aspects (length, height, width, weight and volume), mesoscopic (height of the cortex and medulla, and their inter-relationship) and microscopic (glomerular volume) in order to establish possible differences arising from age, gender and bilateral symmetry. It where used 30 kidneys of animals from specie *Felis Catus* (cat), 15 males and 15 females with ages between 3 months to 15 years, divided into three groups: group 1 (3-9 months), group 2 (3 - 5 years) and group 3 (above 10 years). The kidneys were photographed, weighed, measured and processed for histology. The glomerular volume was obtained by stereology. The macroscopic data allowed to observe a morphometric and morphologic impartiality when compared sides, regardless of group and sex, about the length, height, width, weight and kidney volume. Significant difference was detected between males and females regardless of age for length, height, weight and volume, except for the width. There was a significant difference for all parameters considering the age: length, height, width, weight and volume. Wasnt detected significant differences between left and right kidney measurements of cortex, medulla and their inter-relationship, when considered bilateral symmetry. No difference was detected between males and females in mesoscopy in the cortex, medulla and cortex interrelationship cortex / medulla. Regarding age, the measurement of the height of the cortex and the interrelationship cortex / medulla showed a significant difference, but this difference was not established to the medulla of the kidney. Significant differences were found between groups, males and females, compared to the volume occupied by the glomerulus on the parenchyma

renal. In all of biometric techniques there wasnt differences between right and left kidneys. The macroscopic measurements showed that males had larger kidney when compared length, height, width, weight and volume than females. The age range is directly related to the size of the kidney, which grows in all dimensions, gets heavier and with higher volume when compared young adults, and shows morphometry stability in relation to adults and senile. The renal parenchyma did not differ between the sexes, but the height of the cortex and the medulla ratio increases with age. The volume of the renal glomerulus is higher in males than in females and also increases in with the age. The kidneys showed a predominance of type I collagen in group 1 and 2, and type III collagen in group 3.

Keywords: *Felis catus*. Stereology. Kidney. Collagen. Aging.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1	ANATOMIA E FISIOLOGIA DO RIM.....	17
3.2	MORFOMETRIA E MORFOLOGIA RENAL	19
3.3	DOENÇA RENAL.....	24
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1	FORMAÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO	30
4.2	MACROSCOPIA	30
4.3	MICROSCOPIA	34
4.3.1	Determinação da Densidade de Volume Glomerular	35
4.4	MESOSCOPIA.....	37
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
5	RESULTADOS	39
5.1	MORFOMETRIA MACROSCÓPICA.....	39
5.2	MESOSCOPIA.....	46
5.3	MICROSCOPIA	50
5.3.1	Avaliação Quantitativa: densidade de volume glomerular	50
5.3.2	Avaliação Qualitativa: tipificação das fibras colágenas	51
6	DISCUSSÃO	53
7	CONCLUSÃO.....	63
	REFERÊNCIAS	64
	APÊNDICES.....	74

1 INTRODUÇÃO

Diante da relevância dos rins em processos fisiológicos, bem como a manutenção da homeostasia do organismo, participando desde o equilíbrio hídrico e eletrolítico até atuação endócrina com a produção de renina e eritropoietina. Estudos para a determinação de parâmetros biométricos renais são fundamentais, já que estes podem servir de referência para futuras avaliações clínicas.

As informações obtidas em estudos morfométricos determinam parâmetros que podem ser usados como referência tanto em estudos clínicos quanto para comparar possíveis alterações decorrentes de diversas enfermidades. Alguns deles podem ressaltar a importância da compreensão do funcionamento dos rins.

Em cães de grande porte, por exemplo, de 1.000 a 2.000 litros de sangue perfundem diariamente os rins, obtendo-se 200 a 300 litros de líquido filtrado que são, posteriormente, reduzidos por reabsorção até que 1 ou 2 litros de urina remanescentes sejam eliminados (DYCE; SACK; WENSING, 2004).

As enfermidades renais em cães e principalmente nos felinos tem sido abordada em pesquisas veterinárias, dentre as quais pode-se destacar a insuficiência renal, por ser uma condição patológica relacionada à perda funcional do rim, que pode ser parcial, completa ou irreversível (CREPALDI; TOGNOLI; PICCININ, 2008).

As doenças renais são causadas por problemas de diversas ordens etiológicas e induzem alterações estruturais e funcionais, diagnosticadas através de biópsia para histopatologia (SPARGOS; HAAS, 1994).

Estudos histológicos contribuem para a classificação e identificação de doença glomerular, cuja classificação de acordo com o padrão histológico das alterações do parênquima renal, fornece subsídios necessários para a compreensão da doença (STEVENS; LOWE, 1998).

Pesquisas que avaliam aspectos macroscópicos, topográficos e microscópicos de diferentes órgãos e sistemas contribuem para a obtenção de informações sobre a morfologia normal do corpo, bem como para a compreensão das diferentes patologias que acometem tais estruturas, o que permite avançar em todas as áreas da ciência médica.

Os parâmetros morfológicos e morfométricos são utilizados na rotina clínica como referência de sanidade do rim, em especial nos exames de ultrassonografia renal, onde a avaliação de tamanho, volume e aspectos do parênquima, tais como ecogenicidade do córtex e da medula renal, e as definições imagológicas destas camadas, são dados que permitem estabelecer a higidez ou não do órgão (KEALY; MCALLISTER, 2005).

Em experimentos que se utilizam de extratos herbais, fármacos ou promoção de doenças, como diabetes, a avaliação morfométrica dos glomérulos é utilizada em que pesquisas envolvem animais e humanos, como forma de se estabelecer parâmetros morfométricos comparativos entre etnias, sexo, idade ou mesmo como referência da presença de lesão renal com ou sem alterações fisiológicas (MCNAMARA et al., 2009; AGOPIAN, 2010; ALMEIDA et al., 2013).

Considerando que para a espécie felina, a doença renal aparece como uma das principais causas de morbidade e mortalidade (CREPALDI; TOGNOLI; PICCININ, 2008), estudos que viabilizem informações sobre os aspectos relacionados aos rins nessa espécie são relevantes. Neste contexto, a proposta do presente trabalho foi a de desenvolver uma análise macroscópica, microscópica e morfométrica dos rins desta espécie com o intuito de estabelecer possíveis alterações relacionadas, não aos aspectos patológicos, mas às condições decorrentes do envelhecimento normal.

2 OBJETIVOS

Determinar em rins de *Felis catus* machos e fêmeas, de diferentes idades, com o uso de técnicas biométricas, mesoscópicas, microscópicas e estereológicas:

- 1- As dimensões de comprimento, altura, largura, peso e volume;
- 2- As medidas de córtex e medula, bem como a sua inter-relação;
- 3- A densidade de volume do glomérulo renal;
- 4- A disposição dos tipos de fibras colágeno no parênquima.

3 REVISÃO DE LITERATURA

As doenças renais podem estar relacionadas com perda de função parcial ou total dos rins, e pode ou não ser irreversível. No Brasil o acometimento das doenças renais nos animais, em especial em felinos, vem aumentando. Por se tratar de uma doença fatal se não tratada precocemente, aliada a dificuldade de se obter um diagnóstico preciso também precoce, o número de pesquisas sobre as alterações renais bem como aspectos da morfologia dos rins aumenta cada vez mais e torna-se importante ferramenta para prevenção e melhores tratamentos (CREPALDI; TOGNOLI; PICCININ, 2008).

3.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO RIM

Os rins, nos felinos estão dispostos bilateralmente no espaço retroperitoneal, junto da parede dorsal da cavidade abdominal, lateral à coluna vertebral (KONIG, 2004). O rim direito posiciona-se ventralmente aos processos transversos da primeira à quarta vértebra lombar e o rim esquerdo situa-se ventralmente aos processos transversos da segunda à quinta vértebras lombares (GETTY, 1975)

Ambos os rins são palpáveis através da parede abdominal. Quanto a sua localização o rim direito está ventral aos processos transversos das primeiras quatro vértebras lombares, e o rim esquerdo mais caudal, localizando-se ventral aos processos transversos da segunda a quinta vértebras lombares (ELLENPORT, 1986).

Uma cápsula adiposa os envolve, protegendo-os de possíveis agressões de órgãos adjacentes. (KONIG; LIEBICH, 2004). Os rins apresentam a margem lisa e seu formato no caso de cães é parecido com o de um feijão, já no caso dos gatos eles são mais arredondados (OWENS; BIERY, 1998).

Os rins são constituídos por uma cápsula fibrosa que envolve o parênquima renal. São duas zonas bem distintas em corte transversal que constituem o parênquima: o córtex renal e a medula renal (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999). O córtex está na periferia do parênquima, sua cor é avermelhada e é finamente

granulado, a medula possui uma zona externa mais escura da qual emerge o seio nasal, e a zona interna é estriada (KONIG; LIEBICH, 2004).

Os rins se movem durante o ato de respiração, em gatos sabe-se que são mais móveis que em cães. Quando o estômago está repleto eles são movidos caudalmente e, em úteros gravídicos são movidos cranialmente (KEALY; MCALLISTER, 2005).

Os rins estão suspensos na parede abdominal dorsal por uma prega peritoneal e vasos que os irrigam (KONIG; LIEBICH, 2004; REECE, 2008).

O rim é constituído de zona cortical (mais externa), pálida e medular (mais interna) escura, as quais são formadas principalmente de túbulos proximalmente agrupados e chamados de néfrons (CARVALHO, 2004). Os néfrons correspondem à unidade funcional do rim. Cada rim possui aproximadamente um milhão de néfrons (BACHA JR; BACHA, 2003).

Cada néfron é composto por glomérulo, túbulo proximal, alça do néfron, túbulo distal e ducto coletor. A maioria dos glomérulos se localiza no córtex renal, e os túbulos vasos e interstício estão contidos tanto no córtex quanto na medula (GETTY, 1975; OSBORNE; FINCO, 1995). O rim representa importante função na manutenção da homeostase do organismo, que é possível devido à grande variedade de células que compõem os néfrons, cada uma com funções específicas (VERLANDER, 2009).

As artérias renais conduzem o sangue até o rim; estas se bifurcam em dois grandes ramos antes de penetrar no hilo, irrigando a parte anterior e posterior do rim. Já a veia renal é responsável pela saída de sangue dos rins (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999). No hilo, localizado na parte côncava do rim, estão algumas estruturas como artérias, veias, linfáticos e nervos. Assumem a posição dorso-peritoneal e estão inseridos numa cápsula adiposa.

Os rins recebem cerca de 25% do débito cardíaco, ele filtra o sangue, excreta resíduos do metabolismo e também reaproveita substâncias filtradas que são necessárias ao organismo, como água, eletrólitos e proteínas de baixo peso molecular. O rim altera o ritmo de reabsorção e excreção destas substâncias conforme a necessidade do organismo, excretando urina concentrada ou diluída em relação ao plasma, contribuindo também para o equilíbrio ácido-base (VERLANDER, 2009).

Alguns pequenos mamíferos que são adaptados a regiões áridas são eficientes na concentração da urina, a fim de reduzir a perda de água (DIAZ; OJEDA, 1999). Segundo Schmidt-Nielsen e O'Dell (1961) a capacidade de concentrar a urina depende do comprimento das alças do néfron e ductos coletores que atravessam a medula renal.

Os rins são responsáveis pela excreção efetiva da maior parte do excesso de íons de hidrogênio (H^+), principalmente no túbulo proximal e no ducto coletor. O túbulo proximal é responsável, sobretudo pela secreção da maior parte do ácido, enquanto o ducto coletor é o principal responsável pelo controle da excreção de ácido e pelo pH final da urina (VERLANDER, 2009).

Podemos dizer que os glomérulos consistem em uma espécie de rede de capilares destinada à retenção de elementos celulares e proteínas de médio e alto peso glomerular. Estão envoltos numa camada de células epiteliais chamada de cápsula de Glomerular. O local que recebe o filtrado glomerular é conhecido como espaço de glomerular, este filtrado é conduzido para o túbulo contorcido proximal. Este filtrado é composto de eletrólitos e água aproximadamente idêntica ao plasma (VERLANDER, 2009)

A taxa de filtração glomerular (TGF) é expressa em milímetros de filtrado glomerular formado por minuto, por quilograma de peso corporal. A TGF é um dos parâmetros mais importantes para avaliação da funcionalidade renal, e este pode ser avaliado na prática clínica (VERLANDER, 2009).

3.2 MORFOMETRIA E MORFOLOGIA RENAL

Os rins possuem uma extremidade voltada para o diafragma, chamada de extremidade cranial, e outra voltada para a pelve, chamada de extremidade caudal. A margem lateral é voltada para a parede abdominal, enquanto a margem medial é voltada para o plano mediano da cavidade abdominal. Uma face está apoiada na parede dorsal do abdome, a face dorsal, e a outra face voltada para a parede ventral do abdome, a face ventral. Estes dados são de grande importância para a mensuração das dimensões do rim (KONIG; LIEBICH, 2004).

A determinação do tamanho dos rins do felino é descrito por vários autores com diferentes limiares. Krawiec et al. (1986) consideram o rim do felino normal quando medem 1,8 a 2 vezes o comprimento da segunda vértebra lombar (L2), já Grooters et al. (1997); Thrall (2003) e Kealy e MacAllister (2005) consideram o comprimento entre 2,4 a 3 vezes o comprimento de L2 normais.

Segundo Barr, Holt e Gibbs (1990) existe uma correlação estatística significativa entre o comprimento renal e o peso corpóreo. Esta correlação é linear com exceção dos pesos corpóreos muito baixos ou muito altos. Também há uma correlação estatística significativa entre o volume renal e o peso corpóreo. A correlação permanece linear mesmo nos extremos de pesos corpóreos.

Em cães, o rim chega a 1/500 a 1/200 do peso corporal, e o rim esquerdo costuma ser mais pesado que o direito (ELLENPORT, 1986).

Em felinos, este órgão pesa entre 15 e 30 gramas. Apresentando dimensões médias de 38 a 44 mm de comprimento, 27 a 31 mm de largura e 20 a 25 mm de espessura (ELLENPORT, 1986).

Alterações na biometria renal são encontradas como consequência de muitas enfermidades que acometem este órgão, e devem servir como parâmetro para auxiliar no diagnóstico clínico de doenças renais. Estas alterações morfológicas podem ser investigadas através de técnicas de imagem como radiografia, ultrassonografia e laparoscopia (FELKAI; VORÖS; VRABELY, 1992; NYLAND; MATOON, 1995; FINCO; STILES; KNELLER 1998; ESPADA; NOVELLI; GOPEGUI, 2006).

Estudos morfométricos ultrassonográficos na Medicina Veterinária estão cada vez mais presentes e são indispensável para os clínicos, auxiliando na obtenção de informações rápidas e valiosas das afecções patológicas, na ultrassonografia renal, é possível avaliar parâmetros morfométricos como medidas de comprimento e largura, em secções longitudinais, e medidas de altura (ou espessura), em secções transversais, e através destas mensurações calcular o volume renal, espessuras das corticais e medulares, além da relação córtico-medular (ROSSI et al., 2012).

Segundo Santana et al. (2009), medidas ecobiométricas renais foram significantes demonstrando que o tamanho do rim em cães sofre a influência da conformação corpórea. Este também estabeleceu uma relação entre altura do animal e distância atlanto-coccígea com volume do rim, obtido por medidas ultrassonográficas.

Em outro estudo utilizando 35 cães saudáveis divididos entre machos e fêmeas, foi possível através de ultrassonografia abdominal mensurar comprimento, altura, e largura dos rins, e o volume renal, obtido através destas medidas aplicadas a fórmula matemática para volume da elipse, avaliando tanto machos quanto fêmeas (SAMPAIO; ARAUJO 2002).

Os rins podem sofrer alterações de tamanho devido a vários fatores como a dieta, a idade e a uninefrectomia (hipertrofia compensatória) (JARRETTA, 2005). Boag, Atilola e Pennock (1993) e Churchill et al. (1999) realizaram estudos para avaliar estes fatores. Concluiu-se que a hipertrofia compensatória renal é normal após a nefrectomia e ocorre após o 20º dia da cirurgia. A hipertrofia compensatória em cães senis pode ser considerada normal, e não há diferença em tamanho renal associado à dieta.

A relação entre a obesidade e a lesão renal é pouco abordada em estudos clínicos e experimentais e portanto, não está bem descrita, mas é sabido que estas lesões são decorrentes de alterações anatômicas (PAULA, 2006; GUYTON; HALL, 2006). Em um experimento com ratos wistar tratados com dieta hiperlipídica, Mateus e Fiorino (2012), relataram existir alterações renais decorrentes da obesidade. Estas alterações incluíam diminuição do peso renal e diminuição do tufo glomerular, além de maior deposição de colágeno na capsula glomerular, indicando um desenvolvimento de fibrose renal.

Segundo Barr, Holt e Gibbs (1990); Sampaio e Araújo (2002) e Kealy e Mcallister (2005), as alterações do tamanho renal estão relacionadas com doença renal. A nefrite intersticial crônica pode diminuir o tamanho renal enquanto a pielonefrite aguda, doença policística, hidronefrose, neoplasia, amiloidose e nefrite glomerular podem aumentar o tamanho renal.

Segundo estudos realizados em saguis, Del Valle (2008) concluiu que animais com hematuria e hiperglicemia apresentam um maior volume renal do que animais saudáveis, tanto na mensuração anatômica quanto na ultrassonográfica.

Em estágio final de doença renal os rins são pequenos, irregulares e possuem um aumento da ecogenicidade cortical com uma pobre distinção da junção córtico-medular (KEALY; MCALLISTER, 2005).

Em estudos realizados com sagüis, Agopian (2010) relatou que animais com alterações em exames laboratoriais apresentaram maior tamanho, comprimento, altura, largura, volume e peso renal comparando com animais saudáveis.

Jakovljevic et al. (1999) estudaram o efeito da fluidoterapia em rins de cães e puderam concluir que a diurese causada pela fluidoterapia não alterou as dimensões renais.

Além das mensurações macroscópicas renais, medições das porções dos néfrons são propostas para verificar as diferenças entre os rins dos animais, segundo a sua capacidade de concentração urinária e por fim relacioná-las com o seu habitat (DIAZ; OJEDA, 1999).

Segundo Konig e Liebich (2004) a contagem glomerular em cães em média é de 400 mil glomérulos em cada rim, e em gatos cerca de 500 mil em cada rim.

A contagem e mensuração glomerular bem como, a obtenção de seu volume, podem servir como ferramentas para estudos de populações. McNamara et al. (2009) concluiu que a variação no número e volume glomerular são fatores importantes que contribuem para a determinação de uma maior ou menor carga de doença renal crônica no futuro desta população.

Técnicas de contagem glomerular podem ser utilizadas para estabelecer uma relação de sanidade renal e o número de glomérulos pode ser obtido em amostras coletada através de biopsia renal. A fim de estabelecer o melhor rim a ser biopsiado nos casos de nefropatia canina, amostras coletadas dos rins de 86 cães foram analisadas pela técnica “de janela”, utilizando agulhas Vim Tru-Cut, onde a quantificação glomerular foi comparada entre rim direito e esquerdo (LAUFER-AMORIM et al., 2002).

No estudo feito por Pagès e Trouillet (1990), que realizaram biopsia renal em 76 cães e 12 gatos, em 87,5% dos casos (77 biopsias), obtiveram mais de dez glomérulos, número que permitiu uma identificação quantitativa das lesões glomerulares.

A doença renal é também associada com mudanças no volume glomerular, já que a hipertrofia glomerular se faz presente na glomeruloesclerose segmentar focal, na nefropatia diabética, na glomerulonefrite membranosa, na hipertensão arterial e nas nefropatias relacionadas à obesidade (KAMBHAM et al., 2001; HUGHSON et al., 2002; HINAMOTO et al., 2014).

Alterações do parênquima renal características de nefropatia, também podem estar relacionadas ao uso de plantas medicinais como extrato aquoso de *Dioclea grandiflora*, planta medicinal distribuída nas regiões da Caatinga e do Serrado do Nordeste do Brasil, utilizada pela população de baixa renda na preparação de

infusões para casos de distúrbios renais e prostáticos. No estudo histológico em rins de camundongos tratados com este extrato herbal, foram observadas diferenças estruturais como hiperemia glomerular, degeneração tubular, desorganização do tufo glomerular e proliferação celular na matriz mesangial, e nas análises morfométricas observou-se redução das áreas do diâmetro do corpúsculo renal, glomérulo e espaço subcapsular (ALMEIDA et al., 2013).

O número total de glomérulos é um fator determinante proposto na etiologia multifatorial da hipertensão arterial. Indivíduos com baixo número glomerular são sujeitos para estar em risco aumentado de hipertensão e doença progressiva dos rins em uma fase posterior da vida (MCNAMARA et al., 2009).

Em seu estudo, Agopian (2010), verificou que em relação densidade e área glomerular é inversamente proporcional e quando comparados sagüis mais jovens até 3 anos com sagüis adultos, entre 6 e 8 anos, o primeiro grupo apresentou menor densidade e maior área que o segundo. Também houveram diferenças quando tratado o tamanho e o número de glomérulos, onde animais não sadios apresentavam menor número de glomérulos com maior área glomerular. O autor também relata que estas alterações ocorreram em animais com peso corpóreo acima dos padrões estabelecidos para a espécie.

O processo natural de envelhecimento está associado à progressivas alterações estruturais nos órgãos e tecidos, que eventualmente, resulta na perda da função seguido por falha do órgão. A eventual mudança de parênquima para tecido conjuntivo ocorre em praticamente todos os sistemas e órgãos, e são geralmente considerados um sinal de envelhecimento do tecido (SHOCK, 1970; HARMAN, 1981). Não sendo exceção à regra, o rim também segue esses padrões e tendências de mudança estrutural e funcional durante todo o processo de envelhecimento natural e fisiológico. Durante o envelhecimento, os rins progressivamente ficam menores em tamanho, acompanhado por uma diminuição progressiva no fluxo sanguíneo renal, bem como, em última instância, uma diminuição da taxa de filtração glomerular (SHOCK, 1970; KAPLAN et al. 1975; MCLACHLAN, 1978).

Inserra et al. (2009), confirmaram uma série de conclusões preliminares relativas a alterações glomerulares que são vistas nos roedores durante o envelhecimento. As principais alterações estavam relacionadas ao tamanho glomerular, expansão do mesângio, deposição das fibras de colágeno, alterações

fenotípicas em células mesangiais e o desenvolvimento de esclerose focal e ou difusa no glomérulo.

Alterações funcionais decorrentes de fibrose renal com alterações no tufo capilar glomerular foi descrita em ratos com o envelhecimento. A hipótese testada e concluída foi a de que níveis elevados de um poderoso anti-angiogenico peptídeo, a endostatina, representou uma importante causa sistêmica que levou a rarefação microvascular e declínio funcional decorrente de fibrose do parênquima renal (LIN et al., 2014).

A estrutura dos glomérulos renais é mantida pela membrana glomerular basal, a qual forma uma lâmina que envolve a periferia do corpúsculo renal e uma matriz mesangial que envolve o tufo capilar glomerular. Esta membrana é organizada em uma rede de colágeno do tipo IV e apresenta-se como peça fundamental na montagem do filtro glomerular (HUDSON et al., 2003; BONSIB, 2007;).

Revert et al. (2007), relataram que a organização do colágeno na membrana basal está associada a expressão de proteínas do complexo da membrana basal glomerular e o aumento desta expressão pode estar presente, em processos patológicos, em especial os imune-mediados como Lúpus Eritematoso Sistêmico, mas também pode aparecer com envelhecimento em animais que apresentam lesão renal como a glomerulonefrite, o que pode causar alterações estruturais no colágeno presente nesta membrana.

3.3 DOENÇA RENAL

A doença renal é a enfermidade mais frequentemente diagnosticada em animais de companhia e a segunda causa de morte em gatos (SCHENCK & CHEW, 2010).

A doença dos rins é caracterizada pela presença de alterações estruturais ou funcionais em um ou ambos os rins variando de uma pequena lesão estrutural em um único rim a uma extensa perda de néfrons contemplando os dois órgãos. Estas lesões podem estar representadas macro ou microscopicamente, fazendo-se necessário o uso de técnicas imagiológicas, para a detecção de alterações

morfológicas macroscópicas; biópsia tecidual, para análise histológica do parênquima e análise de amostras séricas ou de urina, para uma análise funcional (POLZIN, 2011).

Alterações no formato e tamanho dos rins comumente ocorrem como resultado de muitas doenças renais e a detecção destas alterações são importantes para o diagnóstico e prognóstico das nefropatias (FELKAI; VORÖS; VRABELY, 1992).

Existem algumas técnicas hoje praticadas para o diagnóstico de alterações anatômicas precoces e/ou mais precisas das nefropatias, dentre elas a radiografia, sendo efetiva em 50% dos casos e necessita de contraste, o que pode interferir na diurese osmótica (FINCO; STILES; KNELLER, 1998, MARESCHAL et al., 2007). Domingues et al. (2007) citam a laparoscopia como um método invasivo e pouco difuso na medicina veterinária, priorizando o emprego da ultrassonografia como método mais aceito. O ultrassom bidimensional (2D) obtém imagens em tempo real, em diferentes secções e orientação espacial, permitindo a detecção de movimentos, análise da biometria e alterações que comprometam a integridade morfológica e funcional dos órgãos (KING, 2006).

A correlação entre dados ultrassonográficos com a histologia de tecidos renais, foi realizada em um estudo com 21 cães, independentemente de raça, idade e sexo. Após o óbito, foram realizadas análises ultrassonográficas da cavidade abdominal, com o objetivo de visualizar possíveis alterações renais caracterizadas de acordo com a ecogenicidade, a ecotextura, os contornos, o volume e a relação entre cortical e medular. Depois da avaliação ultrassonográfica os animais foram necropsiados para investigar as possíveis alterações macroscópicas renais, e em para todos os animais foram coletadas amostras de tecidos renais para exames histológicos, independente da apresentação de alterações. A alteração mais encontrada ao exame ultrassonográfico foi o aumento da ecogenicidade da região cortical, que é sugestivo de processo inflamatório nefrite. Foi encontrado o índice de 66% de compatibilidade, entre os resultados ultrassonográficos e histológicos, o qual permite concluir que a avaliação ultrassonográfica é um método eficaz, não invasivo, de detecção de alterações renais (CARVALHO; SALAVESSA; SILVEIRA, 2010).

Desde 1967, quando Osborne et al. descreveram a técnica de biópsia renal percutânea em cães e gatos, ela tem sido amplamente adotada como meio de diagnóstico e instrumento de pesquisa (JERAJ; OSBORNE; STEVENS, 1982).

Através da histologia do tecido renal, obtida por biópsia, é possível diferenciar desordens orgânicas e funcionais, lesões agudas, possivelmente reversíveis e de melhor prognóstico e lesões crônicas e irreversíveis (MINKUS et al., 1994; MORAIS, 1995; LAUFER-AMORIM et al., 2002).

Santana, et al. (2009) sugerem outra ferramenta diagnóstica descrita para detecção de nefropatias, é a avaliação da perfusão sanguínea dos rins através do índice de resistividade e do índice de pulsatilidade do ramo principal da artéria renal.

A “International Renal Interest Society” (IRIS) foi fundada para auxiliar os clínicos veterinários na elaboração de diagnósticos, estadiamento da doença renal, e na abordagem terapêutica à doença renal em felídeos e canídeos. A IRIS no papel de uma sociedade propõe a utilização do termo Doença Renal (DR), em detrimento do termo Insuficiência Renal, com o objetivo de aproximar a terminologia veterinária à que é correntemente utilizada em medicina humana (ELLIOTT; WATSON, 2009).

A doença renal ocorre quando aproximadamente 75% dos néfrons de ambos os rins tornam-se não funcionam corretamente (NELSON; COUTO, 2001), podendo ocorrer de duas maneiras, como doença renal aguda (DRA) ou doença renal crônica (DRC) (POPPL; GONZÁLEZ; SILVA, 2004). A DRC é a forma de maior prevalência da afecção renal em cães e gatos (BROWN et al., 1997; POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005), e vem sendo relatada como uma das principais causas de morbidade e mortalidade em cães e gatos e principalmente em felinos geriátricos (FRANCEY & SCHWEIGHAUSER, 2009; POLZIN et al., 2005).

A DR foi identificada com maior frequência nos gatos da raça Maine Coon, Abissínio, Siamês, Russian Blue e Birmanes (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005). O diagnóstico da DR ocorre com maior frequência entre 6 a 7 anos em cães e entre 7 a 8 anos em gatos, podendo então ser correlacionada com a idade do animal (LUSTOZA; KOGIKA, 2003). Dados de Brown et al. (1997), sugerem que a frequência é maior em gatos quando comparados com cães.

A DRA resulta da redução súbita da taxa de filtração glomerular e de acúmulo de substâncias nitrogenadas no sangue (azotemia), comumente causada por agentes nefrotóxicos ou por comprometimento do fluxo sanguíneo renal, podendo ou não ser reversível (NELSON; COUTO, 2001; POPPL; GONZALEZ; SILVA, 2004). Em cães, no ambiente doméstico as principais causas de DRA são: isquemia (ANDRADE et al., 2004, LUNN, 2011) sendo a causa mais comum segundo Vaden, Levine e Breitschwerdt (1997) e exposição a agentes nefrotóxicos (LUNN, 2011). No

ambiente hospitalar, as principais causas são: drogas nefrotóxicas, como aminoglicosídeos e cisplatina, o uso de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA), doença cardíaca crônica e doenças renais pré-existentes (LUNN, 2011).

Inkelmann et al. (2012) avaliaram a prevalência das lesões do sistema urinário em cães, verificaram lesões túbulos-intersticiais características de DRA em 41,4% dos animais avaliados. Ainda no mesmo trabalho, detectaram como causas associadas a DRA: leptospirose, piometra, intoxicação por AINEs e nefrose hemoglobinúrica.

Cooper e Labato (2011), avaliaram em 22 gatos as causas mais comuns de DRA: obstrução urinária (36%), agudização de doença renal crônica (32%), nefrotoxinas (18%) e causa desconhecida (14%).

A DRC é caracterizada por lesões estruturais progressivas, que resultam no descontrole entre as funções de excreção, síntese e regulação renais. Em cães e seres humanos, a DRC é progressiva e irreversível, conduzindo à morte num período que pode ir desde meses a anos após o diagnóstico inicial. A DRC espontânea em gatos é progressiva assim como nos cães, embora a evolução da doença seja muito mais variável, e os episódios de progressão podem alternar com longos períodos em que as funções renais se mantêm clinicamente estáveis (ROSS et al., 2006).

A etiologia da DRC pode ser de três formas distintas: congênita, familiar ou adquirida (LUSTOZA; KOGIKA, 2003). As suspeitas das causas congênitas ou familiares são evidenciadas de acordo com a raça do animal, antecedentes mórbidos familiares, idade de surgimento da doença ou da IR, ou através de achados radiográficos e ultrassonográficos, como por exemplo, na patologia renal policística em gatos (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005) e nefrite hereditária (BROWN, 1999). A DRC adquirida pode resultar de lesões glomerulares, tubulares, intersticiais e ou da vascularização renal (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2005), essas podem ser devido a fatores pré-renais, como fluxo renal reduzido (POPPL; GONZALEZ; SILVA, 2004), hipertensão sistêmica (BROWN et al., 1997), nefropatia hipercalcêmica; de fatores renais como glomerulonefrite e pielonefrite (POPPL; GONZALEZ; SILVA, 2004) chamadas também de natureza inflamatória e também neoplásica como o linfossarcoma renal (BROWN, 1999) e pós-renais, como obstrução do trato inferior (POPPL; GONZALEZ; SILVA, 2004).

Segundo DiBartola et al. (1987) que analisou 74 gatos com DRC, o diagnóstico morfológico mais comum é a nefrite tubulointersticial crônica de causa desconhecida, correspondendo a 52,7% dos gatos analisados.

Segundo Amador (2009), estima-se que a DRC afete entre 1,6 a 20% dos gatos em algum momento de sua vida. Sugere ainda que a prevalência da DRC aumente com a idade e cerca de 31% dos gatos com mais de 15 anos de idade são afetados.

Em 2009 a IRIS submeteu um projeto-piloto para verificar a viabilidade da reunião de dados a nível mundial, de cães e gatos que se apresentem à consulta com o diagnóstico de DRC. Esta primeira fase do projeto consistiu num questionário “online”, a partir do qual os clínicos poderiam submeter os seus casos para uma base de dados. Os dados recolhidos permitiram fazer a classificação da doença de acordo com os logaritmos propostos pela IRIS. A amostra incluiu 921 animais, dos quais 85,7% (N=789) felídeos. De acordo com os dados da população felina, a doença ocorreu em 51,3% de machos e 48,7% de fêmeas. Cerca de 88,3% apresentava uma idade superior a 6 anos, sendo a idade média da população com 13 anos (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY [IRIS], 2009).

Em felinos, um dos parâmetros para avaliar a severidade da doença renal crônica, é o dano tubulointersticial, particularmente por fibrose intersticial, associada a células produtoras da matriz extracelular e pela indução e proliferação de miofibroblastos (MORAIS, 2013). A susceptibilidade do rim a esta alteração do parênquima foi relatada por Slusarz et al. (2013), como uma das causas que podem pode levar a DRC.

A fibrose do parênquima renal está relacionada à expressão de diversas metaloproteínas da matriz extracelular (MMPs), as quais também estão aumentadas nos rins durante o envelhecimento. Em ratos velhos foram detectados aumentos de MMP-7 relacionadas com a superexpressão de dois genes de colágeno (COL1A2 e COL3A1), nos testes a superexpressão de MMP-7, aumentou o COL1A2, levando à subsequente deposição de colágeno no rim, o que contribuiu para a fibrose renal e a DRC (SLUSARZ et al., 2013).

Os estudos sobre a doença renal, tornam-se cada vez mais relevante a medida que aumenta a idade da população, nos Estados Unidos a porcentagem de pessoas com mais de 65 anos está aumentando rapidamente e com isso a incidência de DRC (SLUSARZ et al, 2013). Ainda neste contexto, por se tratar de uma das

maiores causas de morbidade em felinos, as alterações renais tem se tornado motivo de estudos para auxiliar no diagnóstico, no prognóstico e no tratamento destas enfermidades (BROWN, 1999).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados rins obtidos de 30 animais da espécie *Felis catus* (gato doméstico), sendo 15 machos e 15 fêmeas com idade variando entre 3 meses a 15 anos, oriundos de clínicas, hospitais veterinários e campanhas de esterilização cirúrgica, que vieram à óbito em decorrência de causas naturais. Todos os procedimentos de obtenção dos espécimes foram autorizados pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia –FMVZ, da Universidade de São Paulo, Protocolo N° 3035 / 2013.

4.1 FORMAÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO

De acordo com a idade, os espécimes foram divididos nos grupos 1, 2 e 3 (n=10; 5 machos e 5 fêmeas por grupo), sendo o **grupo 1** composto por animais com idade entre 3 e 9 meses; o **grupo 2**, por animais com idade entre 3 e 5 anos e o **grupo 3**, por animais com idade acima de 10 anos (Apêndice A).

4.2 MACROSCOPIA

Após a retirada dos rins direito e esquerdo da cavidade abdominal, dos animais de todos os grupos, foram inicialmente determinadas as mensurações macroscópicas (comprimento, altura e largura), com o auxílio de paquímetro digital (Mitutoyo® modelo CD-8" CX-B).

Para o **comprimento** renal foram tomados como referência os pontos mais extremos dos polos cranial e caudal (Figura 1). A mensuração da **altura** baseou-se na distância entre o hilo renal e o ponto médio na margem lateral do rim, entre os polos cranial e caudal (Figura 2). A **largura** foi determinada entre os pontos médios

das faces dorsal e ventral, estabelecidos no centro da medida da altura em cada face (Figura 3).

O **peso** em gramas foi obtido através de balança digital semi analítica SHIMADZU® modelo BL 3200H (Figura 4).

O **volume** foi determinado pela técnica de volumetria por deslocamento de líquido, conforme preconizado por Mandarin de Lacerda (1994). Por esse método, o deslocamento ocorre quando um corpo sólido é imerso em um fluido ocupando o seu lugar e é possível mensurar o seu grau de deslocamento, a partir da graduação do recipiente. Desta forma, como a densidade dos tecidos biológicos é considerada como a mesma da água (1 g/cm^3), a medida obtida, corresponde à do espécime avaliado (Figura 5).

Após a obtenção dos dados macroscópicos os rins foram seccionados por um corte no plano frontal, obtendo-se assim duas metades paquimétricas para avaliação da arquitetura interna e preparo para as etapas meso e microscópicas. (Figura 6).

Figura 1 – Determinação do comprimento do rim direito de indivíduo do grupo 2 (espécime nº 58, macho)

Fonte: (AGOPIAN, 2014).

Figura 2 – Determinação da altura do rim direito de indivíduo do grupo 2 (espécime n° 58, macho)

Fonte: (AGOPIAN, 2014).

Figura 3 – Determinação da largura do rim direito de indivíduo do grupo 2 (espécime n° 58, macho)

Fonte: (AGOPIAN, 2014).

Figura 4 – Determinação do peso do rim direito de indivíduo do grupo 2 (espécime n° 58, macho)

Fonte: (AGOPIAN, 2014).

Figura 5 – Determinação do volume do rim direito de indivíduo do grupo 2 (espécime n° 58, macho)

Fonte: (AGOPIAN, 2014).

Figura 6 – Arquitetura interna do rim direito de indivíduo do grupo 2 (espécime n° 58, macho)

Fonte: (AGOPIAN, 2014).

4.3 MICROSCOPIA

Para processamento histológico, foi utilizada uma metade de cada rim de cada espécime de todos os grupos obtida através de secção sagital (item 4.2), onde distinguiu-se as camadas cortical e medular do parênquima.

Após fixação em solução de formol (10%), desidratação em série crescente de álcoois (50% ao absoluto), diafanização em xilol, e inclusão em parafina, os espécimes foram submetidos a cortes semi-seriados de 6 μ m de espessura, corados pelos métodos da Hematoxilina-Eosina (HE) (TOLOSA, 2003) e do Picrosirius (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRETANI, 1979) (Apêndice B).

Foram utilizados 10 cortes de cada paquímero renal escolhido para cada espécime, os cortes foram confeccionados seguindo um padrão seriado em intervalos de 15 cortes para o grupo 1 e de 25 cortes para os grupos 2 e 3, foi registrado em micrometros a correspondência do tecido renal seccionado em micrótomo. A diferença de intervalos foi estabelecida baseada em uma

proporcionalidade em relação às medidas macroscópicas dos rins dos animais de cada grupo.

Foram confeccionados 136 cortes correspondendo a 816 μm de tecido renal, para os animais do grupo 1 e 225 cortes correspondentes a 1316 μm de tecido renal, para os animais dos grupos 2 e 3.

Os 10 cortes selecionados divididos em 2 colorações, 7 cortes de cada rim para cada espécime foram corados em HE e 3 cortes corados em Picrosirius. Para manutenção do estadiamento seriado os cortes selecionados para a coloração de Picrosirius foram os cortes 01, 61 e 121 para o grupo 1 e 01, 101 e 201, para os grupos 2 e 3.

A avaliação histológica foi realizada utilizando-se um microscópio binocular (Axioscope; Zeiss®) acoplado a um sistema de processamento de imagem computadorizada (Zeiss, Axiovision Rel. 4.6).

Os cortes corados em Picrosirius foram avaliados através do auxílio de lentes para polarização das imagens, capturadas e registradas em fotomicrografias para a descrição do padrão de deposição dos tipos I e III de fibras colágenas.

Dos 14 cortes em HE representando rins direito e esquerdo de cada animal, foram selecionados, aleatoriamente, 7 (contemplando rim direito e esquerdo) para a análise estereológica.

4.3.1 Determinação da Densidade de Volume Glomerular

Para essa avaliação foram adotados princípios estereológicos, onde a quantificação bidimensional pode ser utilizada como ferramenta eficiente para a obtenção de estimativas quantitativas em estruturas tridimensionais optou-se pela utilização do método *Nucleator*, que consegue estabelecer o volume ocupado por uma estrutura circular em um tecido através de medidas de comprimento de raio desta, a partir de um ponto fixo (GUNDERSEN et al., 1988).

Para a aplicação do método, utilizou-se 7 lâminas contendo um corte histológico dos rins de cada espécime, onde foram fotografados 2 campos para cada corte, com objetiva de 20x, para a visualização dos corpúsculos renais distribuídos

pelo córtex. Nestes campos, selecionou-se um total de 5 glomérulos por corte (2 e 3 por campo).

A técnica para a aplicação do nucleator foi estabelecida a partir das mensurações desses 5 glomérulos, totalizando 35 glomérulos por animal ou 350 glomérulos por grupo.

A metodologia consiste na utilização de uma régua de domínios, um sistema teste para secção vertical e um quadro de orientação (Figura 7). O quadro de orientação é sobreposto a imagem do campo fotografado, este possui uma indicação numérica para orientar o posicionamento das linhas do sistema de secção vertical. Esta orientação é trocada a cada campo analisado e segue a indicação de uma tabela de números randômicos. A orientação nas linhas do sistema de secção vertical servem de referência para angulação da régua de domínios que é modificada aleatoriamente a cada campo visualizado para o registro dos domínios ocupados pelo glomérulo.

Figura 7 – Quadro de orientações, sobreposto por um sistema teste de secção vertical e régua de domínios utilizada na mensuração glomerular pelo método de *Nucleator*

Fonte: (AGOPIAN, 2014).

A mensuração dos glomérulos com a régua gerou a marcação de dois domínios, os quais foram registrados em uma tabela modelo (Apêndice C) com variáveis definidas para aplicação do método *Nucleator*.

Com os registros dos domínios na coluna G da tabela foi possível calcular os índices da coluna H e obter o volume (μm^3) ocupado pelos glomérulos no parênquima renal através das fórmulas:

$$\overline{l_n^3} = \frac{\sum H}{\sum G} = \text{---} \mu\text{m}^3$$

$$\overline{V_N} = \frac{4\pi}{3} \cdot \overline{l_n^3} = \text{---} \mu\text{m}^3$$

4.4 MESOSCOPIA

Nos cortes corados com HE obtidos de acordo com o item anterior (4.3), a determinação das alturas representadas pelo córtex e medula renais, foi realizada através de aquisição de imagens com o auxílio de uma lupa estereoscópica (Carl Zeiss Microimaging, modelo Stemi® SV6), acoplada a uma câmera fotográfica digital (Power shot A640, Canon). O processamento das imagens foi realizado em equipamento de imagem computadorizada (Zeiss, Axiovision Rel. 4.6).

Nesta etapa foi utilizado aumento de 0,8 vezes e determinadas as medidas do córtex e da medula (μm) através de sistema de medidas em barras calibradas do programa Axiovision (Figura 8).

Figura 8 – Determinação da altura do córtex e medula do rim direito de indivíduo do grupo 3 através de imagem mesoscópica utilizando lupa estereoscópica (espécime n° 62, macho, mensuração do córtex (3.546,57 μm) e mensuração da medula renal (11901,30 μm)

Fonte: (AGOPIAN, 2014).

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados relativos a comprimento, altura, largura, peso e volume renais, morfometria do córtex, da medula e da inter-relação córtex / medula, bem como a densidade de volume glomerular foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão.

A densidade de volume glomerular foi analisada empregando-se análise de variância – ANOVA com dois fatores: grupo e sexo, seguida de comparações múltiplas pelo método de Tukey.

Para as demais variáveis de interesse, foi empregada a análise de variância com medidas repetidas – ANOVA com três fatores: grupo, sexo e lado (medida obtida no mesmo animal), seguida por comparações múltiplas pelo método de Bonferroni.

A homogeneidade de variâncias foi verificada e, quando necessário, foram empregadas transformações nos dados.

Foram consideradas diferenças significativas valores de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

A amostra estudada foi distribuída entre 3 meses e 15 anos. Todos os felinos apresentaram os rins inteiramente formados sem nenhum tipo de alteração em sua topografia. Todos os animais estavam em perfeito estado de conservação e não apresentavam nenhum tipo de má formação congênita.

Com a utilização deste protocolo experimental foi obtido uma divisão de grupos homogêneos, sempre estabelecendo uma proporção igualitária de machos e fêmeas para cada um dos grupos.

A média idade de cada grupo está representada na tabela 1 (referência das idades – Apêndice D).

Tabela 1 – Valores referentes à média ($\pm$ DP) da idade em anos dos felinos dos grupos 1, 2 e 3 – São Paulo – 2014

	IDADE		
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Machos	0,57 $\pm$ 0,18	4,2 $\pm$ 0,84	10,40 $\pm$ 0,89
Fêmeas	0,43 $\pm$ 0,18	4,2 $\pm$ 1,10	12,40 $\pm$ 1,82

G1 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G2 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5;
G3 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5.

5.1 MORFOMETRIA MACROSCÓPICA

Os dados obtidos para o comprimento, altura, largura, peso e volume dos rins (Apêndice E), analisados levando em consideração o lado (simetria bilateral), o sexo e a idade estão expressos nas tabelas 2-6 e gráficos 1-5

Quando comparados os **lados** observou-se uma imparcialidade morfométrica e morfológica, ou seja, não foi detectada diferença significativa entre os rins direito e

esquerdo, independente do grupo e do sexo, referente aos parâmetros comprimento ($p=0,460$), altura ($p=0,352$), largura ($p=0,068$), peso ($p=0,321$) e volume ($p=0,076$).

Em relação ao **sexo** dos animais, a análise detectou diferença significativa entre machos e fêmeas, independente da faixa etária para as variáveis comprimento ($p=0,015$), altura ($p=0,036$), peso ($p=0,014$) e volume ($p=0,008$), com exceção da largura ($p=0,121$), que não apresentou diferença significativa.

Nesta etapa analítica evidenciou-se a diferença significativa referente ao **tamanho** dos rins onde, independente do grupo, os machos apresentaram maior tamanho renal em relação às fêmeas.

Considerando-se a **idade** (grupo 1, jovem; grupo 2, adulto; e grupo 3, senil), houve diferença significativa para todos os parâmetros morfométricos: comprimento ($p<0,001$), altura ($p<0,001$), largura ($p=0,001$), peso ($p<0,001$) e volume ($p<0,001$).

Os indivíduos do grupo jovem (G1) apresentam rins menores que os adultos (G2) e os senis (G3) ($p<0,05$), porém, não houve diferença significativa quando G2 e G3 foram comparados ($p>0,05$).

Os dados demonstram um crescimento do rim proporcional à idade, ou seja, há uma evolução ascendente de jovem para adulto, e de jovem para senil. O fato de não haver diferença significativa entre G2 e G3 indica uma estabilidade morfométrica do órgão nessas fases da vida.

Tabela 2 – Média e Desvio Padrão do comprimento (mm) dos rins direito e esquerdo dos felinos machos (M) e fêmeas (F) dos grupos 1, 2 e 3 – São Paulo – 2014

COMPRIMENTO DOS RINS (mm)						
	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	RD	RE	RD	RE	RD	RE
M	33,14 ± 3,07	33,26 ± 2,33	41,53 ± 2,76	41,07 ± 4,38	37,87 ± 3,63	37,56 ± 2,49
F	30,60 ± 3,87	29,89 ± 2,35	37,70 ± 3,20	37,73 ± 3,36	36,05 ± 3,46	35,40 ± 2,92

G1 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G2 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G3 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5.

Gráfico 1 – Média e Desvio Padrão do comprimento (mm) dos rins direito e esquerdo dos machos e fêmeas de *Felis catus* dos grupos 1, 2 e 3

Tabela 3 – Média e Desvio Padrão da altura (mm) dos rins direito e esquerdo dos felinos machos (M) e fêmeas (F) dos grupos 1, 2 e 3 – São Paulo – 2014

ALTURA DOS RINS (mm)						
	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	RD	RE	RD	RE	RD	RE
M	20,08 ± 3,33	20,77 ± 2,91	27,42 ± 2,84	26,65 ± 1,49	25,58 ± 4,80	26,07 ± 4,16
F	18,49 ± 1,24	17,48 ± 1,78	25,64 ± 2,94	24,74 ± 1,89	23,50 ± 2,54	23,38 ± 1,83

G1 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G2 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G3 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5.

Gráfico 2 – Média e Desvio Padrão da altura (mm) dos rins direito e esquerdo dos machos e fêmeas de *Felis catus* dos grupos 1, 2 e 3

Tabela 4 – Média e Desvio Padrão da largura (mm) dos rins direito e esquerdo dos felinos machos (M) e fêmeas (F) dos grupos 1, 2 e 3 – São Paulo – 2014

LARGURA DOS RINS (mm)						
	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	RD	RE	RD	RE	RD	RE
M	14,94 ± 2,13	15,19 ± 3,03	18,74 ± 2,05	19,61 ± 2,35	19,33 ± 3,92	21,20 ± 4,28
F	13,54 ± 3,63	13,54 ± 1,87	17,70 ± 2,55	17,45 ± 3,86	17,57 ± 3,05	19,13 ± 2,34

G1 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G2 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G3 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5.

Gráfico 3 – Média e Desvio Padrão da largura (mm) dos rins direito e esquerdo de *Felis catus* machos e fêmeas dos grupos 1, 2 e 3

Tabela 5 – Média e Desvio Padrão do peso (g) dos rins direito e esquerdo dos felinos machos (M) e fêmeas (F) dos grupos 1, 2 e 3 – São Paulo – 2014

	PESO DOS RINS (g)					
	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	RD	RE	RD	RE	RD	RE
M	6,55 ± 1,97	6,71 ± 2,06	13,71 ± 2,55	14,13 ± 2,87	13,57 ± 4,68	13,99 ± 4,78
F	4,92 ± 1,44	4,68 ± 1,01	10,67 ± 3,65	11,43 ± 3,80	10,07 ± 2,49	10,20 ± 2,72

G1 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G2 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G3 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5.

Gráfico 4 – Média e Desvio Padrão do peso (g) dos rins direito e esquerdo de *Felis catus* machos e fêmeas dos grupos 1, 2 e 3

Tabela 6 – Média e Desvio Padrão do volume (ml) dos rins direito e esquerdo dos felinos machos (M) e fêmeas (F) dos grupos 1, 2 e 3 – São Paulo – 2014

VOLUME DOS RINS (ml)						
	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	RD	RE	RD	RE	RD	RE
M	6,20 ± 1,79	6,20 ± 1,64	12,60 ± 1,95	13,00 ± 1,87	10,80 ± 3,11	11,20 ± 3,27
F	4,40 ± 1,14	4,00 ± 1,00	9,40 ± 2,30	10,40 ± 2,88	9,00 ± 1,41	9,40 ± 2,30

G1 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G2 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G3 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5.

Gráfico 5 – Média e Desvio Padrão do volume (ml) dos rins direito e esquerdo de *Felis catus* machos e fêmeas dos grupos 1, 2 e 3

5.2 MESOSCOPIA

Nas tabelas 7-9 e gráficos 6-8, estão expressos os dados obtidos nas mensurações do córtex, da medula e sua inter-relação (Apêndice F).

Quando considerada a simetria bilateral, não foi detectada diferença significativa entre o rim direito e o rim esquerdo ($p=0,205$, $p=0,438$ e $p=0,589$, respectivamente).

Em relação ao fator **sexo**, não foi detectada diferença entre machos e fêmeas para todas as mensurações mesoscópicas: córtex ($p=0,093$), medula ($p=0,245$) e inter-relação córtex / medula ($p=0,414$).

Quando considerado o fator **idade**, a mensuração da altura do córtex e a inter-relação córtex / medula apresentou diferença significativa ($p=0,001$ e $p=0,028$, respectivamente), porém, essa diferença não foi estabelecida na mensuração da altura da camada medular do rim ($p=0,078$).

Tais resultados demonstram que as mensurações do córtex apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) quando comparados os grupos G1 e G2, e G1 e G3. Também para esse parâmetro, não foi detectada diferença significativa entre os grupos G2 e G3 ($p>0,05$). Entretanto, a inter-relação córtex / medula apresentou diferença significativa apenas entre jovens e adultos ($p<0,05$).

Tabela 7 – Média e Desvio Padrão da altura do córtex (μm) dos rins direito e esquerdo dos felinos machos (M) e fêmeas (F) dos grupos 1, 2 e 3 – São Paulo – 2014

CÓRTEX (μm)						
	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	RD	RE	RD	RE	RD	RE
M	3,60 $\pm$ 0,45	3,70 $\pm$ 0,56	4,73 $\pm$ 0,60	4,59 $\pm$ 0,46	4,45 $\pm$ 0,91	4,83 $\pm$ 0,99
F	3,18 $\pm$ 0,46	3,27 $\pm$ 0,38	4,42 $\pm$ 0,69	4,34 $\pm$ 0,66	4,06 $\pm$ 0,56	4,39 $\pm$ 0,54

G1 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G2 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G3 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5.

Gráfico 6 – Média e Desvio Padrão da altura do córtex (μm) dos rins direito e esquerdo de *Felis catus* machos e fêmeas dos grupos 1, 2 e 3

Tabela 8 – Média e Desvio Padrão da altura da medula (μm) dos rins direito e esquerdo dos felinos machos (M) e fêmeas (F) dos grupos 1, 2 e 3 – São Paulo – 2014

MEDULA (μm)						
	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	RD	RE	RD	RE	RD	RE
M	11,27 $\pm$ 1,58	11,05 $\pm$ 0,97	12,06 $\pm$ 2,44	12,13 $\pm$ 1,93	11,86 $\pm$ 2,31	12,84 $\pm$ 1,82
F	9,92 $\pm$ 1,15	10,16 $\pm$ 1,34	12,34 $\pm$ 1,76	11,65 $\pm$ 1,30	11,36 $\pm$ 0,83	11,80 $\pm$ 0,69

G1 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G2 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G3 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5.

Gráfico 7 – Média e Desvio Padrão da altura da medula (μm) dos rins direito e esquerdo de *Felis catus* machos e fêmeas dos grupos 1, 2 e 3

Tabela 9 – Média e Desvio Padrão da razão córtex/medula dos rins direito e esquerdo dos felinos machos (M) e fêmeas (F) dos grupos 1, 2 e 3 – São Paulo – 2014

RAZÃO CÓRTEX / MEDULA						
	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	RD	RE	RD	RE	RD	RE
M	0,32 ± 0,03	0,34 ± 0,04	0,40 ± 0,07	0,38 ± 0,06	0,38 ± 0,06	0,38 ± 0,06
F	0,32 ± 0,03	0,33 ± 0,03	0,36 ± 0,06	0,38 ± 0,06	0,36 ± 0,04	0,37 ± 0,04

G1 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G2 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G3 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5.

Gráfico 8 – Média e Desvio Padrão da razão córtex / medula dos rins direito e esquerdo de *Felis catus* machos e fêmeas dos grupos 1, 2 e 3

5.3 MICROSCOPIA

Os resultados das análises microscópicas estão divididos em avaliações quantitativa e qualitativa, avaliação das lâminas coradas em Picrosisrius.

5.3.1 Avaliação Quantitativa: densidade de volume glomerular

As mensurações realizadas para a determinação do volume glomerular no parênquima renal foram baseadas em princípios estereológicos, onde foi adotada a técnica do *Nucleator*, a apresentação dos dados desta mensuração volumétrica no rim foi obtida em μm^3 (Apêndice F).

Nesta etapa analítica, não foram consideradas a comparação entre os lados, ou seja, os resultados apresentados levaram em consideração a simetria bilateral, portanto, rim direito e rim esquerdo foram avaliados agrupados em todos os animais deste experimento, considerando para as análises estatísticas apenas os fatores idade (grupos) e sexo.

A Análise de Variância empregada detectou diferenças significantes entre grupos ($p < 0,001$) independente do sexo e entre machos e fêmeas independente do grupo ($p < 0,001$).

Para o volume ocupado pelo glomérulo no parênquima renal os dados obtidos pelo método estereológico empregado mostram que existe diferença deste volume quando comparamos animais de idades diferentes. Os jovens apresentam menor volume glomerular quando comparados aos adultos e senis e os adultos apresentam menor volume glomerular quando comparados aos senis, $p < 0,05$, ou seja, houve um aumento no volume glomerular médio em relação à idade.

Existe também um comportamento diferente entre os animais quando considerado o sexo, a análise estatística mostrou diferença significativa entre machos e fêmeas, indicando que o volume glomerular é maior no macho, ou seja, quando levado em consideração o fator sexo, independente da idade, machos possuem maior volume glomerular no parênquima renal que fêmeas, $p < 0,001$.

Tabela 10 – Média e Desvio Padrão do volume glomerular (μm^3) dos rins dos felinos machos (M) e fêmeas (F) dos grupos 1, 2 e 3 – São Paulo – 2014

Volume Glomerular (μm^3)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
M	28.894,8 $\pm$ 8.361,05	41.217,9 $\pm$ 9.854,8	51.862,0 $\pm$ 7.271,46
F	21.149,1 $\pm$ 4.467,25	31.884,1 $\pm$ 1.355,25	37.915,6 $\pm$ 4.464,46

G1 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G2 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5; G3 n = 10: Machos n = 5, Fêmeas n = 5.

Gráfico 9 – Média e Desvio Padrão do volume glomerular (μm^3) dos rins de *Felis catus* machos e fêmeas dos grupos 1, 2 e 3

5.3.2 Avaliação Qualitativa: tipificação das fibras colágenas

A avaliação qualitativa do parênquima renal permitiu verificar através dos cortes histológicos corados com Picrosirius, a distribuição da deposição de colágeno no córtex renal, onde se localizam os glomérulos.

Os animais dos grupos 1 e 2 apresentaram um predomínio de fibras colágenas do tipo I (coloração amarela, laranja ou vermelha); já para o grupo 3, houve um predomínio de deposição de fibras colágenas do tipo III (verde) (Figuras 9, 10).

Figura 9 – Córtex renal de animais dos grupos 1 (A) e 2 (B)

Fonte: (AGOPIAN, 2014).

Nota: Predomínio de fibras colágenas do tipo I nas cores vermelho, amarelo e laranja (Picrosirius sob luz polarizada. Aumento 20x).

Figura 10 – Córtex renal de animais do grupo 3

Fonte: (AGOPIAN, 2014).

Nota: Predomínio das fibras colágenas tipo III (verde). (Picrosirius sob luz polarizada. Aumento 20x).

6 DISCUSSÃO

As doenças que comprometem a morfologia e a função dos rins em felinos são descritas como a segunda maior causa de mortes nesses animais, e têm no seu diagnóstico preciso e precoce a melhor ferramenta para uma terapia eficiente e resolutive (CREPALDI; TOGNOLI; PICCININ, 2008; SCHENCK; CHEW, 2010).

As afecções renais podem ser de origem hereditária ou congênita, infecciosa e tóxica (toxinas endógena ou exógena), imunomediada, por desequilíbrios eletrolíticos (hipercalcemia e hipocalcemia no felino) e traumática. Elas determinam alterações morfológicas e funcionais capazes de acometer os glomérulos, os túbulos renais, o tecido intersticial e/ou os vasos sanguíneos (POLZIN, 2011).

Estudos sobre a incidência de doenças renais mostram que 1,6 a 20% da população de gatos desenvolvem a doença de forma crônica. Mesmo podendo acometer gatos de todas as idades, o envelhecimento é um fator importante no aparecimento desta doença, torna-se mais frequente nos animais idosos, com idade superior a 7 anos. Estima-se que até 49% dos gatos com idade superior a 15 anos são acometidos. Tem sido relatada que, quando comparada com cães, a incidência de DRC espontânea em felinos senis é cerca de três vezes mais alta (ROSS et al., 2006; AMADOR, 2009; POLZIN, 2011).

A disposição dos animais na presente pesquisa em faixas etárias levou em consideração esses relatos, a fim de se estabelecer uma avaliação morfométrica e morfológica em 3 grupos distintos com idades variadas, o que permitiu comparações entre animais jovens (3 a 9 meses), adultos (3 a 5 anos) e senis (acima de 10 anos).

Diferenças significativas entre as idades foram notadas em todos os parâmetros morfométricos: macroscópicos (comprimento, altura, largura, peso e volume dos rins), mesoscópicos (altura do córtex e inter-relação córtex / medula e microscópicos (densidade de volume glomerular). Além destes, destacou-se a avaliação na estrutura de colágeno do grupo 3, comparativamente aos grupos 1 e 2.

A observação destes resultados confirma a influência da idade na diferenciação morfológica do órgão, como descrito por diferentes autores, e serve de alerta na prevenção do aparecimento de comprometimento dos rins com o avançar da idade em felinos. Como descrito por Slusarz et al. (2013), tal confirmação serve

também para humanos, uma vez que a incidência de doenças renais em indivíduos norte americanos, aumentou, proporcionalmente ao aumento da população acima de 65 anos.

Na avaliação morfométrica macroscópica aqui aplicada, além da idade, foi considerado como fator de comparação o sexo e a simetria bilateral. Estudos com diferentes populações animais acometidas por afecções dos rins levam em consideração tais fatores a fim de se detectar possíveis diferenças entre as espécies, entretanto, os achados são divergentes sobre a relação direta desses fatores nas alterações renais.

Alguns autores não verificaram diferenças entre felinos machos e fêmeas quanto ao acometimento de doenças renais. É o caso do estudo de DiBartola et al. (1987), que ao avaliarem 74 gatos acometidos por doença renal, onde a maioria dos animais tinha idades superiores a 7 anos, não detectaram nenhuma predileção por raça ou sexo, da mesma forma, Elliott e Barber (1998), relataram os achados clínicos em 80 gatos diagnosticados com insuficiência renal em diversos estágios, e também não identificaram influência do sexo no aparecimento da doença.

Na análise morfométrica aplicada, onde os resultados apresentados se referem ao tamanho (comprimento, altura e largura), peso e volume dos rins, e que foram avaliados considerando a idade, o sexo e a simetria bilateral, não foram verificadas diferenças quanto à simetria bilateral, uma vez que, os rins direito e esquerdo são correspondentes idênticos em relação. Também, em todos os grupos, os rins não diferem em tamanho, peso ou volume do órgão.

Estudos envolvendo o uso da imagem como ultrassonografia, de extrema valia na determinação desses parâmetros no organismo vivo, confirmam os achados da presente pesquisa. Assim, Sampaio e Araújo (2002), avaliaram por essa metodologia, 35 cães adultos (17 machos e 18 fêmeas), divididos em três grupos de acordo com o peso corporal (3,1 a 10,0 kg; 10,1 a 20,0 kg e 20,1 a 45,0 kg) e obtiveram medidas lineares renais (comprimento, altura e largura) para calcular o volume dos rins. Relataram que as medidas lineares obtidas não apresentaram diferenças significantes entre o rim direito e o rim esquerdo, semelhante ao descrito por de Barr, Holt e Gibbs (1990), ao avaliarem também pelo mesmo método, esses parâmetros renais em cães.

Já Santana et al. (2009), através de avaliação ecobiométrica em 22 cães adultos sem raça definida (11 machos e 11 fêmeas), encontraram diferenças para as

medidas de diâmetros longitudinal, dosroventral e transversal, e volume, entre os rins esquerdo e direito, esses resultados divergentes foram relatados também em alguns trabalhos ultrassonográficos com primatas. Em *Macaca fascicularis*, Gaschen, Menninger e Schuurman (2000), relataram que as formas dos rins direito e esquerdo, não são idênticas; já Hill (1999) em um estudo com 136 fêmeas de macacos rhesus (*Macaca mulatta*), concluiu que, apesar da diferença de idade e peso dos animais, os rins exibiram tamanho similar.

Em gatos quando ocorrem diferenças morfométricas macroscópicas entre os rins, as mesmas relacionam-se a algum fator patológico, como doença renal, atrofia ou má formação do órgão (KEALY; ELLENPORT, 1986; MCALLISTER, 2005; POLZIN, 2011).

Na presente pesquisa, quando as mensurações dos rins foram comparadas entre machos e fêmeas, os resultados mostraram que os rins dos machos foram maiores para os parâmetros, comprimento, altura, peso e volume dos rins, à exceção da largura, que não apresentou diferença entre os sexos. Tais resultados nos felinos dos grupos aqui avaliados, podem estar relacionados às dimensões corpóreas do animal, uma vez que, os felinos machos apresentaram características biométricas corpóreas maiores de que as fêmeas.

Corroboram esses achados os estudos em cães de Santana et al. (2009) que encontraram uma correlação direta entre ecobiometria renal com medidas de conformação corporal. Foram comparadas a distância atlanto-coccígea (DAC) e a altura (H) de cães adultos saudáveis, com as medidas lineares e o volume dos rins. A DAC variou de 54-78cm para machos e 37- 71cm para fêmeas e a altura variou entre 34-64 cm para os machos e 24-57cm para as fêmeas, ou seja, cães machos apresentaram maior conformação corpórea do que as fêmeas e com isso maior volume renal, já que de acordo com o trabalho, a relação entre a DAC e a H com as medidas ecobiométricas renais foram significativas, demonstrando que o tamanho do rim é influenciado pela conformação corporal do cão. Esses dados também também estão de acordo com Barr, Holt e Gibbs (1990) que relataram haver uma correlação estatística significativa entre o comprimento e o volume dos rins com o peso corpóreo.

As diferenças morfométrica entre machos e fêmeas relatadas por estes autores e encontradas neste estudo, não parecem ter uma relação direta com alterações funcionais, demonstrando que nem sempre as alterações morfológicas

entre os sexos denotam alterações funcionais, ou que um determinado órgão funcionaria melhor nos machos do que nas fêmeas simplesmente porque são maiores.

De fato, pois a IRIS (2009), em seu projeto piloto de avaliação de casos clínicos doentes renais, avaliou 921 animais, dentre cães e gatos, dos quais 85,7% (N=789) felídeos, e foi mostrado que a população de gatos machos foram igualmente acometidas por desordens renais à população de gatas, 51,3 % e 48,7% respectivamente. Tal associação não relatou nenhuma diferença funcional entre os sexos e, portanto, a predisposição e o desenvolvimento de doenças renais não devem ser atreladas a esse fator, apesar dos relatos dos autores citados e dos resultados aqui apresentados mostrarem diferenças morfológicas entre os sexos.

Elliott e Barber (1998) estudaram 80 casos de felinos com doença renal crônica onde foi traçado o perfil do paciente com falência renal. Fatores como sexo, idade, raça, parâmetros bioquímicos e séricos, achados clínicos dos animais, foram avaliados. Os animais foram divididos em 3 grupos de acordo com o estágio da doença: compensado, urêmico e estágio final. Em nenhum dos 3 grupos houve diferenças entre machos e fêmeas, mostrando que a doença além de afetar igualmente os sexos, não difere em relação a sua evolução entre machos e fêmeas.

Concluindo, a diferença acerca da morfometria renal entre machos e fêmeas, pode não estar diretamente relacionada somente com o peso corpóreo, mas com toda a conformação corpórea que difere entre os sexos, tais como, maior altura e comprimento do animal. O maior peso corporal apenas, pode não indicar necessariamente aumento na morfometria renal; assim, é necessário que se considere o escore corpóreo do animal, a ou relação com a obesidade.

Aliás, a relação entre a obesidade e a lesão renal é assunto que tem sido pouco abordado, e ainda não se encontra bem descrita. Entretanto, tem sido relatada a existência de uma relação entre alterações anatômicas associadas a uma perda progressiva da função renal com a obesidade ou ingestão de dietas hiperlipídicas (GUYTON; HALL, 2006; PAULA, 2006).

Em estudos com ratos, Mateus e Fiorino (2012) notaram que uma dieta hiperlipídica (30%) administrada durante 8 semanas a partir do desmame, causou alterações na anatomia renal. A retração significativa na área do Tufo Glomerular, e a diminuição no peso renal observadas, foram indicativos do desenvolvimento de uma patologia renal.

Para Crepaldi, Tognoli e Piccinin (2008), o mau funcionamento dos rins muitas vezes está ligado a fatores genéticos; má alimentação e à pouca ingestão de líquidos. A insuficiência renal pode afetar animais de todas as raças, sexo e idade; entretanto, em animais idosos sua frequência é maior.

Com relação a idade, as comparações morfométricas aqui exibidas mostraram haver diferenças significativas em todos os parâmetros avaliados (comprimento, altura, largura, peso e volume dos rins), onde os animais do grupo 1 (jovem), apresentaram um rim menor que os animais dos grupos 2 (adulto) e 3 (senil), mas que quando se comparou indivíduos adultos com senis, essa diferença não foi significativa mostrando que a partir de uma certa idade existe uma estabilidade no crescimento dos rins e em animais saudáveis a atrofia do órgão não está presente, já que animais adultos e senis não apresentaram estatisticamente diferenças em relação ao tamanho do órgão.

Como relatado por diferentes autores, as doenças renais em felinos acometem principalmente animais com idade a partir dos 7 anos. As lesões em felinos senis promovem alterações morfométricas que podem e devem ser exploradas pelo clínico para ajudar no diagnóstico da doença (FELKAI; VORÖS; VRABELY, 1992; FINCO; STILES; KNELLER, 1998; ESPADA; NOVELLA; GOPEGUI, 2006; NYLAND; MATOON, 1995; CREPALDI; TOGNOLI; PICCININ, 2008).

Estas diferenças nos parâmetros morfométricos macroscópicos entre jovens e adultos e senis, mostram um crescimento do rim em relação a idade, desde a fase juvenil contemplada neste estudo, dos 3 aos 9 meses até a fase adulta, dos 3 aos 5 anos. Este aumento dos rins nesta fase da vida do animal pode estar relacionado ao desenvolvimento corpóreo, assim como ocorre em outros tecidos do corpo, como tecido ósseo, os resultados mostraram que os rins também cresce da fase juvenil para a fase adulta.

A estabilidade morfométrica mostrada entre os animais adultos (Grupo 2) e os animais com mais de 10 anos (Grupo 3), revelou que não há crescimento ou aumento do rim com a idade, pois o tamanho, peso e volume não apresentaram diferenças significantes. Essa estabilidade mostra que as alterações morfológicas e morfométricas dos rins em animais com mais de 7 anos, estão relacionadas à processos patológicos e não faz parte do processo de envelhecimento.

Os relatos sobre alterações do tamanho relacionam alterações morfológicas com doença renal, alguns processos podem estar envolvidos na diminuição, como na nefrite intersticial crônica e em processos que envolvem fibrose renal, ou no aumento, como na pielonefrite aguda, na doença policística, na hidronefrose, amiloidose e nefrite glomerular, dos parâmetros morfológicos do órgão (BARR; HOLT; GIBBS, 1990; SAMPAIO; ARAÚJO, 2002; KEALY; MCALLISTER, 2005).

Avaliações da biometria renal em saguis, concluíram que animais que apresentavam algum tipo de alteração da sanidade, como hematúria, proteinúria e hiperglicemia, apresentaram um maior volume renal do que animais saudáveis, tanto na mensuração anatômica quanto na ultrassonográfica (DEL VALLE, 2008; AGOPIAN, 2010).

Com relação as mensurações mesoscópicas, onde foram contempladas as medidas de altura do córtex, altura da camada medular do rim e a inter-relação córtex/medula, os parâmetros não apresentaram diferenças entre os rins direito e esquerdo. A manutenção da simetria bilateral e a estabilidade do órgão quando comparados os lados, reforçam a hipótese de que os rins nesta espécie não apresentam diferenças morfológicas ou morfológicas, mas apenas diferenças topográficas.

Quando considerado o sexo, os resultados morfológicos mesoscópicos não apresentaram diferenças significantes, ou seja, as mensurações de córtex, medula e sua relação não apresentaram diferenças entre machos e fêmeas.

Esta paridade entre os sexos, mostra que apesar de diferenças morfológicas na macroscopia dos rins, machos e fêmeas não apresentam diferenças morfológicas na distribuição das camadas do parênquima renal. Portanto a hipótese de que a biometria corpórea influencia na morfometria macroscópica dos rins também não se aplica às dimensões das camadas cortical e medular do órgão.

A relação morfológica do parênquima renal, é muito utilizada em exames ultrassonográficos para detectar alterações do tecido em possíveis comprometimentos da fisiologia renal. As regiões do parênquima apresentam características acústicas diferentes, que permitem a identificação destas regiões. Assim, no corte transversal, é possível identificar a região cortical, a região medular e a pelve renal. A região cortical aparece mais ecogênica que a região medular em decorrência da presença de glomérulos, já a camada medular aparece hipocogênica devido a presença dos túbulos do sistema coletor. Existe uma

demarcação evidente entre as regiões cortical e medular, chamada de junção córtico-medular, onde se localizam as artérias e veias arqueadas (CARVALHO, 2004).

Através destas descrições, Rossi et al. (2012), obtiveram por meio da ultrassonografia, em condições fisiológicas, os valores de referência dos parâmetros morfométricos renais em fêmeas caprinas normais (*Capra hircus*) da raça Saanen em grupos de animais, com idade inferior a 6 meses, de 6 a 18 meses e com idade superior a 18 meses, e com isso estabeleceram um padrão para a espécie nas faixas etárias estudadas.

Tais características também foram utilizadas por Carvalho, Salavessa e Silveira (2010), que comparam os resultados dos achados ultrassonográficos com a histologia de tecidos renais. Dos 26 cães estudados, 11 apresentaram algum tipo de alteração no exame ultrassonográfico que compreenderam alterações de ecogenicidade, alterações no tamanho renal, alterações na relação entre as regiões cortical e medular, alteração de contorno e na ecotextura dos tecidos renais. Na análise histológica 17 cães (81%), apresentaram alterações teciduais correspondentes a 11 patologias diferentes, processos inflamatórios difuso ou focal (50%), mineralização das regiões cortical e medular (35%), fibrose perivascular (23%), nefrite intersticial (15%), cistos múltiplos (8%), degenerações glomerulares e tubulares, espessamento tubular, hidronefrose e pielonefrose.

As variações morfométricas do parênquima renal, podem sofrer variabilidade de acordo com a da idade e o peso dos animais. Dentre os 3 parâmetros avaliados nos estudos com caprinos, o córtex e a medula apresentaram maior variação de que sua relação e estavam sempre relacionadas a estes dois fatores peso e idade (ROSSI et al., 2012).

Os resultados aqui apresentados demonstraram diferença significativa na altura do córtex e na inter-relação córtex-medula, com relação à idade, o que não ocorreu para a camada medular. Fato que pode indicar haver uma relação direta entre desenvolvimento do parênquima renal e faixa etária do animal, o mesmo padrão de resultados encontrados na macroscopia, quando se relaciona o tamanho do rim com a idade.

Esses resultados são pareados aos de Rossi et al. (2012), que mesmo trabalhando com outra espécie (caprina) encontrou uma variabilidade das camadas do parênquima renal relacionadas com a faixa etária do animal.

Relativamente à quantificação glomerular, foram detectadas diferenças no volume glomerular em relação ao sexo e a idade. Quando comparados, os machos exibiram maior volume glomerular, independente do grupo ao qual pertenciam. Já para a idade, o volume foi maior respectivamente para os animais do grupo 3, 2 e 1, caracterizando um aumento desse parâmetro em decorrência da idade.

As diferenças entre machos e fêmeas seguiram o padrão macroscópico, onde rins maiores, mais pesado e mais volumosos, também apresentaram maior volume glomerular; porém, sem alterações das relações do parênquima.

Apesar das diferenças morfométricas aqui relatadas entre os machos e as fêmeas, a doença renal não segue o mesmo padrão, ou seja, a predisposição ou estabelecimento de lesões que geram perda de função não são descritas pelos autores, como diferentes entre os sexos. A IRIS (2009) estabeleceu que a ocorrência de lesão não obedeceu o dimorfismo sexual, 51,3% dos acometidos por algum problema renal eram machos e 48,7% eram fêmeas. Em 80 felinos com doença renal estudados por Elliott e Barber (1998) os machos representaram 45 animais e as fêmeas 35. Os mesmos resultados já haviam sido relatados por DiBartola et al, (1987) quando em uma população de 74 felinos, não foi detectado predileção em relação ao sexo para a ocorrência de lesão renal.

Entretanto, nessas pesquisas, sempre é relatado a influência da idade como fator importante para o acometimento destes problemas. Assim, segundo a IRIS (2009), 697 dos 789 animais avaliados tinham idade entre 6 e 13 anos, Amador (2009) ainda destaca que 1/3 dos felinos senis são acometidos por algum problema renal.

As alterações morfológicas que levam a lesão e doença renal em felinos senis, também são descritas para outras espécies, como em caninos e em humanos, de acordo respectivamente com Lustoza e Kogika (2003) e Slusarz et al. (2013).

A avaliação histológica do tecido renal permite a diferenciação e a caracterização de possíveis lesões do parênquima renal, e por permitir este estudo *in vivo*, a biópsia torna-se uma importante ferramenta no diagnóstico e diferenciação de lesões agudas e crônicas (MINKUS et al., 1994; MORAIS, 1995). O diagnóstico preciso através dessa análise está diretamente relacionado a qualidade da amostra analisada, e esta, por sua vez, relacionada com o número de glomérulos (LAUFER-AMORIM et al., 2002).

Em seu estudo com humanos, Kellow et al. (1959), relataram que a presença de quatro glomérulos por biópsia foi adequada para estudo histológico. Sem padrão definido na veterinária, vários autores descreveram estudos que visavam estabelecer um número mínimo de glomérulos por amostra biopsiada, variando de 5 a 30 (LAUFER-AMORIM et al., 2002).

Em cães e gatos biopsiados para avaliação do tecido renal, Pagès e Trouillet (1990) relataram que um número maior de glomérulos na amostra permitiu uma identificação quantitativa das lesões glomerulares.

A hipótese da variação do volume glomerular em animais com síndrome metabólica (SM) foi testada por Machado et al. (2012) em ratos submetidos a dietas hiperlipídicas, divididos em grupos que receberam tratamento para hipertensão arterial. Os autores não observaram alterações da histomorfometria renal.

Entretanto, alterações glomerulares foram descritas em ratos diabéticos, hipertrofia glomerular, acúmulo de matriz mesangial e colágeno tipo IV, lesões de podócitos, alterações endoteliais glomerulares e Inflamação renal foram agravadas no modelo diabético estudado (HINAMOTO et al., 2014). Tais dados corroboram com os resultados de Agopian (2010), que encontrou um aumento da área glomerular em saguis com alterações em exames laboratoriais, como hiperglicemia e proteinúria.

A avaliação qualitativa do parênquima renal, que exibiu diferença entre os grupos, onde foi detectada uma predominância de fibras colágenas do tipo I nos animais dos grupos 1 e 2, e fibras colágenas do tipo III nos animais do grupo 3, permite avaliações com casos de ocorrência de fibrose renal, que é descrita como fator relacionado ao envelhecimento dos tecidos, e que decorre de alterações metabólicas relacionadas a alterações de metaloproteínas da matriz mesangial (SLUSARZ et al., 2013), e elevados níveis de endostatina (LIN et al., 2014).

Para Slusarz et al. (2013) o aumento da expressão de metaloproteínas do tipo 7 (MMPs-7) na matriz mesangial, promoveu um aumento da expressão dos genes de colágeno Col1a2 e Col3a1 em ratos acima de 16 meses de idade, sugestivos de um novo mecanismo de alterações na deposição de colágeno em decorrência do envelhecimento do tecido, o que pode contribuir para o desenvolvimento de fibrose levando a doença renal crônica.

Em experimento utilizando-se ratos velhos Lin et al. (2014), verificaram que os níveis de endostatina estavam aumentados em 5,6 vezes, em comparação aos

jovens, o que foi associado com rarefação microvascular e fibrose túbulo-intersticial progressiva. Os resultados foram consistentes com a hipótese de elevação dos níveis de endostatina estarem relacionados com alterações vasculares e indução de fibrose renal em ratos idosos.

Também a doença renal crônica é acompanhada pelo acúmulo excessivo da matriz extracelular, resultando em fibrose renal (SLUSARZ et al., 2013).

Em seu experimento para avaliar mudanças glomerulares em ratos tratados para a inibição crônica do sistema renina-angiotensina, Inserra et al. (2009) relataram que as principais alterações glomerulares presentes nesses animais com 18 meses de idade, foram reduzidas pela metade, e que a área glomerular mostrou aumento significativo com o envelhecimento nos animais sadios.

Os relatos sobre deposição de colágeno, fibrose renal e alterações da área e volume glomerular, podem estar relacionados à doenças renais, decorrentes de alterações metabólicas ou morfofuncionais. Outra hipótese a ser levantada é a de que o envelhecimento do organismo é acompanhado destas alterações que não estão relacionadas à um declínio funcional do órgão.

Tais hipóteses podem servir como orientação na busca de um maior e mais complexo entendimento dos processos morfofuncionais dos rins, e os resultados aqui apresentados podem contribuir nas descrições morfométricas e morfológicas decorrentes do envelhecimento deste órgão.

7 CONCLUSÃO

Em todas as técnicas biométricas utilizadas não foi detectado diferenças entre os rins direito e esquerdo.

As mensurações macroscópicas mostraram uma diferença entre os sexos, onde machos apresentaram um rim maior em comprimento, altura, largura, peso e volume do que as fêmeas, independente da idade.

A faixa etária está diretamente relacionada ao tamanho do rim, este cresce em todas as dimensões, fica mais pesado e com maior volume quando comparados jovens e adultos, e se mostra estável morfometricamente em relação aos adultos e senis.

O parênquima renal não difere entre os sexos, mas o córtex e a relação córtex / medula difere com relação à idade, a altura do córtex e a relação com a medula aumentam com a idade.

O volume ocupado pelo glomérulo renal é maior em machos do que em fêmeas independente da idade, também aumenta em relação à idade.

A análise histológica mostra que há predomínio de colágeno tipo II nos animais do grupo 1 e 2, e colágeno tipo III nos animais do grupo 3.

REFERÊNCIAS

- AGOPIAN, R. G. **Estudo morfométrico de rins de primatas *Callithrix jacchus* em cativeiro**. 2010. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- ALMEIDA, L. L.; MOTA, D. L.; SILVA, L. L. S.; ALMEIDA, V. C. F. Efeito do extrato aquoso de *Dioclea grandiflora* Mart. ex Benth. nos rins de camundongos (*Mus musculus* Linnaeus, 1758). **Brazilian Journal of Biosciences**, 2013. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1813>>. Acessado em: 22 set. 2014.
- AMADOR, S. M. S. **Doença renal crônica idiopática felina**. 2009. 123 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Técnica de Lisboa; Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2009.
- ANDRADE, S. C.; DEZOTI, C.; SHIBUYA, C. A.; WATANABE, M. & VATTIMO, M. F. Insuficiência Renal aguda Isquêmica: Efeitos comparativos do Alopurinol e N-Acetilcisteína como antioxidantes. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. v. 26, n. 2, p. 69-75. 2004.
- BACHA JR, W. J.; BACHA L. M. Sistema Urinário, **Atlas colorido de histologia veterinária**. 2 ed. local: Rocca, 2003. p. 275-277.
- BARR, F. J.; HOLT, P. E.; GIBBS, C. Ultrasonographic measurement of normal renal parameters. **Journal of Small Practice**, v. 31. p. 180-184, 1990.
- BOAG, B. L.; ATILOLA, M.; PENNOCK, P. Renal sonographic measurements in the dog preceding and following unilateral nephrectomy. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 34, n. 2, p. 112-117, 1993.
- BONSIB, S. M. Renal anatomy and histology. In: JENNETTE, J. C.; OLSON, J. L.; SCHWARTZ, M. M.; SILVA, F. G. (Ed.). *Heptinstall's pathology of the kidney*. Edited by Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins Publishers, 2007. P. 1–70.
- BROWN, S. A. Evaluation of chronic renal disease: a staged approach. **Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterinarian**, v. 21, n. 8, p. 752-763, 1999.

BROWN, S. A.; CROWELL, W. A.; BROWN, C. A.; BARSANTI, J. A.; FINCO, D. R. Review: pathophysiology and management of progressive renal disease. **The Veterinary Journal**, v. 154, p. 93-109, 1997.

CARVALHO, A. P. M.; SALAVESSA, C. M.; SILVEIRA, L. S. Ultrassonografia e histopatologia renal em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 4, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352010000400038> >. Acessado em: 20 set. 2014.

CARVALHO, C. F. Sistema urinário: rins, ureteres, bexiga urinaria e uretra. In: IBID. (Ed.). **Ultra-sonografia em pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2004. p. 111-146.

CHURCHILL, J. A.; FEENEY, D. A.; FLETCHER, T. F.; OSBORNE, C. A.; POLZIN, D. J. Age and diet effects on relative renal echogenicity in geriatric bitches. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 40, n. 6, p. 642-647, 1999.

CHURCHILL, J. A.; FEENEY, D. A.; FLETCHER, T. F.; OSBORNE, C. A.; POLZIN, D. J. Effects of diet and aging on renal measurements in uninephrectomized geriatric bitches. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 40, n. 3, p. 233-240, 1999.

COOPER, R. L.; LABATO, M. A. Peritoneal dialysis in cats with acute kidney injury: 22 cases (2001–2006). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 25, p.14–19, 2011.

CREPALDI, N. C. B.; TOGNOLI, L. B.; PICCININ, A. Estudo da insuficiência renal. **Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, ano 6, n. 10, 2008.

DEL VALLE, C. M. R. **Estudo morfofuncional de rins de primatas *Callithrix jacchus* em cativeiro**. 2008. 158 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

DIAZ, G. B.; OJEDA, R. A.; Kidney structure and allometry of Argentine desert rodents. **Journal of Arid Environments**, v. 41, n. 4, p. 453-456, 1999.

DIBARTOLA, S. P.; RUTGERS, H. C.; ZACK, P. M.; TARR, M. J. Clinicopathologic findings associated with chronic renal disease in cats: 74 cases (1973-1984). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 190, n. 9, p. 1196-1202, 1987.

DOMINGUES, S. F. S.; CALDASBUSSIERE, M.; MARTINS, N.; CARVALHO, R. Ultrasonographic imaging of the reproductive tract and surgical recovery of oocytes in *Cebus apella* (capuchin monkeys). **Theriogenology**, v. 68, p. 1251-1259, 2007.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 872 p.

ELLENPORT, C. R. Aparelho urogenital do carnívoro. In: ROSENBAUM, C. E.; GHOSHAL, N. G.; HILLMANN, D. (Ed.). GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1986. v. 2, p. 1481-1493.

ELLIOTT, J.; BARBER, P. J. Feline chronic renal failure: clinical findings in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995. **Journal of Small Animal Practice**, v. 39, p. 78-85, 1998.

ELLIOTT, J.; WATSON, A. D. Chronic kidney disease: staging and management. In: BONAGURA, J. D.; TWEDT, D. C. (Ed), **Kirk's current veterinary therapy XIV**, St. Louis: Saunders Elsevier, 2009, p. 883-891.

ESPADA, Y.; NOVELLA, S. R.; GOPEGUI R. R. 2006. Renal ultrasound in dogs and cats. **Veterinary Research Communications**, v. 30, p. 133-137, 2006. Supplement, 1.

FELKAI, C. S.; VORÖS, K.; VRABELY, T. Ultrasonographic determination of renal volume in the dog. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v. 33, p. 292-296, 1992.

FINCO, D. R.; STILES, N. S.; KNELLER, S. K.; LEWIS, R. E.; BARRETT, R. B. Radiologic estimation of kidney size of the Dog. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v.159, p. 995-1002, 1998.

FRANCEY, T.; SCHWEIGHAUSER, A. Clinical epidemiology of kidney diseases in the cat. **Veterinary Focus**, v. 18, n. 2, p. 2-7. 2009.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p. 291-296.

GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1995. v. 2, p. 1481-1484.

GROOTERS, A. M.; CUYPERS, M. D.; PARTINGTON, B. P.; WILLIAMS, J.; PECHMAM, R. D.; Renomegaly in dogs and cats. Part II. Diagnostic approach. **The Compendium**, v. 19, n. 11, p. 1213-1228, 1997.

GUNDERSEN, H. J.; BAGGER, P.; BENDTSEN, T. F.; EVANS, S. M.; KORBO, L.; MARCUSSEN, N.; MOLLER, A.; NIELSEN, K.; NYENGAARD, J. R.; PAKKENBERG, B.; SORENSEN, F. B.; VESTERBY, A.; WEST, M. J. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. **APMIS**, v. 96, p. 857-881, 1998.

HARMAN, D. The aging process. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 78, p. 7124-7128, 1981.

HILL, L. R.; HESS, K. R.; STEPHENS, L. C.; TINKEY, P. T.; PRICE, R. E. Comparison of kidney weight and volume to select anatomical parameters in the adult female rhesus monkey (*Macaca mullata*). **Journal of Medical Primatology**, v. 28, n. 2, p. 67-72, 1999.

HINAMOTO, N.; MAESHIMA, Y.; YAMASAKI, H.; NASU, T.; SAITO, D.; WATATANI, H.; UJIKE, H.; TANABE, K.; MASUDA, K.; ARATA, Y.; SUGIYAMA, H.; SATO, Y.; MAKINO, H. Exacerbation of diabetic renal alterations in mice lacking vasohibin-1. **PLoS ONE** v. 9, n. 9, p. 107934. doi:10.1371/journal.pone.0107934. Disponível em: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0107934>>. Acessado em: 15 set. 2014.

HUDSON, B. G.; TRYGGVASON, K.; SUNDARAMOORTHY, M.; NEILSON, E. G. Alport's syndrome. Goodpasture's syndrome, and type IV collagen. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, p. 2543-2556, 2003.

HUGHSON, M. D.; JOHNSON, K.; YOUNG, R. J.; HOY, W. E.; BERTRAM, J. F. Glomerular size and glomerulosclerosis: relationships to disease categories, glomerular solidification, and ischemic obsolescence. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 39, p. 679-688, 2002.

INKELMANN, M. A.; KOMMERS, G. D.; TROST, M. E.; BARROS, C. S. L.; FIGHERA, R. A.; IRIGOYEN, L. F.; SILVEIRA, I. P. Lesões do sistema urinário em 1.063 cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 8, p. 761-771, 2012.

INSERRA, F.; BASSO, N.; FERDER, M.; USERPATER, M.; STELLA, I.; PAGLIA, N.; INSERRA, P.; TENEMBAUM, D.; FERDER, L. Changes seen in the aging kidney and

the effect of blocking the renin-angiotensin system. **Therapeutic Advances Cardiovascular Diseases**, v. 3, p. 341, 2009.

IRIS. Descriptive analysis of population characteristics of dogs and cats with suspected chronic kidney disease (CKD). **IRIS (International Renal Interest Society)**, 2009. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com>>. Acesso em: 05 out. 2014.

JAKOVLJEVIC, S.; RIVERS, W. J.; CHUN, R.; KING, V. L.; HAN, C. M. Results of renal ultrasonography performed before and during administration of saline (0,9%NaCl) **Journal of Veterinary Research**, v. 60, n. 4, p. 405-409, 1999.

JARRETTA, G. B. **Estudo do tempo de excreção renal através da cintilografia em felinos domésticos**. 2005. 125 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

JERAJ, K.; OSBORNE, C. A.; STEVENS, J. B. Evaluation of renal biopsy in 197 dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 181, n. 4, p. 367-369, 1982.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Aparelho urinário. In: _____. **Histologia básica** 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 315-331.

JUNQUEIRA, L. C. U.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R. R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **The Histochemical journal**, v. 11, n. 4, p. 447-455, 1979.

KAMBHAM, N.; MARKOWITZ, G. S.; VALERI, A. M.; LIN, J.; D'AGATI, V. D. Obesity-related glomerulopathy: an emerging epidemic. **Kidney International**, v. 59, p. 1498-1509, 2001.

KAPLAN, C.; PASTERNAK, B.; SHAH, H.; GALLO, G. Age-related incidence of sclerotic glomeruli in human kidneys. **American Journal Pathology**, v. 80, p. 227-234, 1975.

KEALY, J. K.; MCALLISTER, H. **Diagnostic radiology and ultrasonography of the dog and cat**. Philadelphia: W. B. Saunders, 2000. 436 p

KEALY, J. K.; MCALLISTER, H. The Abdomen. In: KEALY, J. K.; MCALLISTER, H. **Diagnostic radiology & ultrasonography of the dog and cat**. 4. ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2005. p. 21-168.

KELLOW, F.; COTSONAS, N. J.; CHOMET, B.; ZIMMERMAN, J. Evaluation of the adequacy of needle-biopsy specimens of the kidney. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, v. 104, p. 353-359, 1959.

KING, A. M. Development, advances and applications of diagnostic ultrasound in animals. **Veterinary Journal**, v. 171, p. 408-420, 2006.

KONIG H. E.; LIEBICH H. G. **Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido**. Porto Alegre: Artmed, 2004. v. 2.

KRAWIEC, D. R.; BADADERTSCHER, R. R.; TWARDOCK, A. R.; RUBIN, S. I.; GELBERG, H. B. Evaluation of ^{99m}Tc-diethylenetriaminepentacetic acid nuclear imaging for quantitative determination of the glomerular filtration rate of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, n. 10, p. 2175-2179, 1986.

LAUFER-AMORIM, R.; BANDARRA, N. P.; JÚNIOR, L. A. M.; DE MOURA, V. M. B. D. Avaliação quantitativa e qualitativa da técnica de biópsia renal. **Ciência Animal Brasileira**. v. 3, n. 2, p. 41-45, 2002.

LIN, C. H. S.; CHEN, J.; ZIMAN, B.; MARSHALL, S.; MAIZEL, J.; GOLIGORSKY, M. S. Endostatin and kidney fibrosis in aging: a case for antagonistic pleiotropy?. **The American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 306, p. H1692-H1699, 2014.

LUNN, K. F. The kidney in critically ill small animals. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice, Philadelphia**, v. 41, p. 727-744, 2011.

LUSTOZA, M. D.; KOGIKA, M. M. Tratamento de Insuficiência Renal Crônica em Cães e Gatos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária (MedveP) – Pequenos animais e Animais de estimação**. Curitiba, v. 1, n. 1, p. 62-69, 2003.

MACHADO, H.; PINHEIRO, H. S.; TERRA, M. M.; GUERRA, M. O.; PAULA, R. B.; PETERS V. M. Dissociação da resposta anti-hipertensiva e metabólica à losartana e espironolactona em ratos com síndrome metabólica experimental. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 34, n. 4, 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-28002012000400004&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 18 set. 2014.

MANDARIM DE LACERDA, C. A. **Manual de quantificação morfológica: morfometria, alometria, estereologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: EDUERJ, 1994. 102 p.

MATEUS, R. S.; FIORINO, P. Estudo das alterações morfométricas renais associadas ao consumo de uma dieta hiperlipídica em ratos. In: ANUAL DA SBPC. SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 64., 2012, São Luís, Maranhão. **Anais...** São Luís, Maranhão: SBPC, 2012.

MCNAMARA, J. B.; DIOUF, B.; HUGHSON, M. D.; HOY, W. E.; BERTRAM, J.F. Associations between age, body size and nephron number with individual glomerular volumes in urban West African males. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 24, p. 1500–1506, 2009.

MCLACHLAN, M. S. The ageing kidney. **The Lancet**, v. 2, p. 143-145, 1978.

MARESCHAL, A.; D'ANJOU, M.; MOREAU, M.; ALEXANDER, K.; BEAUREGARD, G. Ultrasonographic measurement of kidney-to-Aorta ratio as a method of estimating renal size in dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 48, p. 434-438, 2007.

MINKUS, G.; REUSCH, C.; HORAUF, A.; BREUER, W.; DARBES, J.; KRAFT, W.; HERMANN, W. Evaluation of renal biopsies in cats and dogs – histopathology in comparison with clinical data. **The Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 35, n. 9, p. 465-472, 1994.

MORAES, G. B. **Correlação da fibrose renal com expressão de alfa-SMA, vimentina e TGF-beta no gato com doença renal crônica**. 2013. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade do Ceará, Ceará, 2013.

MORAIS, H. A. Conduta clínica nas doenças renais. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL AVANÇADO DE CLÍNICA E EMERGÊNCIAS DAS DOENÇAS RENAIS EM PEQUENOS ANIMAIS, 1995, São Paulo. **Resumos...** São Paulo, 1995.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais: insuficiência renal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2001. p. 487-499.

NYLAND, T. G.; MATOON, J. S. Ultrasonography of the urinary tract and adrenal glands. In: IBID. (Ed.). **Veterinary diagnostic ultrasound**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995. p. 95-124.

OSBORNE, C. A.; FINCO, D. R.; LOW, D. G.; PERMAN, V. Percutaneous renal biopsy in the dog and cat. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 151, n. 11, p. 1474-1480, dec. 1967.

OWENS, J. M.; BIERY, D. N. **Radiographic interpretation for the small animal clinician**. 2. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. 308 p.

PAGÈS, J. P.; TROUILLET, J. L. Anatomopathological study of 142 cases of feline and canine nephropathies: usefulness of renal biopsies in everyday practice. **European Journal of Companion Animal Practice**, Paris, v. 1, n. 1, p. 13-26, 1990.

PAULA, R. B. Obesidade, síndrome metabólica e progressão da lesão renal. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 28, n. 3, p. 13-19, 2006.

POPPL, A. G.; GONZÁLES, F. H. D.; SILVA, S. C. Alterações clínico-laboratoriais em transtornos renais de cães (*Canis familiaris*). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária (MedveP) – Pequenos animais e Animais de estimação**, v. 2 n. 6, p. 92-98, 2004.

POLZIN, D. J. Chronic kidney disease in small animals. **Veterinary Clinics of Small Animal**, v. 41, p. 15–30, 2011.

POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A.; ROSS, S. Chronic kidney disease. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine**. St. Louis: Elsevier Saunders, 2005. v. 2, p. 1756-1785.

REECE, W. O. **Anatomia e fisiologia dos animais domésticos**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. 468 p.

REVERT, F.; MERINO, R.; MONTEAGUDO, C.; MACIAS, J.; PEYDRÓ, A.; ALCÁCER, J.; MUNIESA, P.; MARQUINA, R.; BLANCO, M.; IGLESIAS, M.; REVERT-ROS, F.; MERINO, J.; SAUS, J. Increased Goodpasture antigen-binding protein expression induces type IV collagen disorganization and deposit of immunoglobulin A in glomerular basement membrane. **American Journal Pathology**, v. 171, n. 5, p. 1419-1430, 2007.

ROSS, S. J.; OSBORNE, C. A.; KIRK, C. A.; LOWRY, S. R.; KOEHLER, L. A.; POLZIN, D. J. Clinical evaluation of dietary modification for treatment of spontaneous chronic kidney disease in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 229, n. 6, p. 949-957, 2006.

ROSSI, R. S.; BOMBONATO, P. P.; PIVA, F. M.; GREGORY, L. Avaliação da morfometria renal através do método ultrassonográfico de fêmeas caprinas (*Capra hircus*) normais da raça Saanen. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 2, p. 165-173 2012.

SAMPAIO, K. M. O. R.; ARAUJO, R. B. Ultra-sonografia de características lineares e estimativas do volume de rins de cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 3, p. 248-254, 2002.

SANTANA, E. J. M.; BESERRA, P. S.; BRITO, A. B.; MIRANDA, S. A.; NIKOLAK, E.; DOMINGUES, S. F. S. Triplex Doppler da artéria renal e a relação entre a ecobiometria dos rins com distância atlanto-coccígea e altura em *Canis familiaris*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 10, p. 809-815, 2009.

SCHMIDT-NIELSEN, B.; O'DELL, R. Structure and concentrating mechanism in the mammalian kidney. **American Journal of Physiology**, v. 200, p. 1119-1124, 1961.

SCHENCK, P. A.; CHEW, D. J. Diet and chronic renal disease. In: SCHENCK, P. (Ed.). **Homeprepared dog & cat diets**. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. p.181-194.

SHOCK, N. W. Physiologic aspects of aging. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 56, p. 491-496, 1970.

SLUSARZ, A.; NICHOLS, L. A.; GRUNZ-BORGMANN, E. A.; CHEN, G.; AKINTOLA, A. D.; CATANIA, J. M.; BURGHARDT, R. C.; TRZECIAKOWSKI, J. P.; PARRISH, A. R. Overexpression of MMP-7 Increases Collagen 1A2 in the Aging Kidney. **Physiological Reports**, v. 1, n. 5, 2013. e00090, doi:10.1002/phy2.90.

SPARGOS, B. H.; HAAS, M. The kidney. In: RUBIN, S. I.; FABER, J. L. **Pathology**. 2. ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1994. p. 804-865.

STEVENS, A.; LOWE, J. Doenças do sistema urinário. In: _____. **Patologia**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. p. 317-349.

THRALL, D. E. **Textbook of veterinary diagnostic radiology**. Philadelphia: W. B. Saunders, 2003. 758 p.

TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A.; FREITAS-NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 2. ed. Manole, São Paulo: Manole, 2003, p. 331.

VADEN, S. L.; LEVINE, J.; BREITSCHWERDT, E. B. A retrospective case-control of acute renal failure in 99 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 11, n. 2, p. 58-64, 1997.

VERLANDER, J. W. Fisiologia renal. In CUNNINGHAM, J. G. **Fisiologia veterinária**. 4. ed. Barcelona: Guanabara Koogan, 2009. p. 409-442.

APÊNDICES

Apêndice A – Divisão dos grupos de estudo.

Gupo 1: G1 (Animais de 3 a 9 meses de idade)

Machos	Fêmeas
8	3
17	9
25	15
32	22
59	49

Gupo 2: G2 (Animais de 3 a 5 anos de idade)

Machos	Fêmeas
4	14
35	40
38	48
53	54
58	55

Gupo 3: G3 (Animais com ou mais de 10 anos de idade)

Machos	Fêmeas
19	6
41	12
61	13
62	31
64	56

Apêndice B – Protocolo de Inclusão, desparafinização e coloração para Hematoxilina-Eosina, Picrosirius, diafanização e montagem das lâminas.

Antes de iniciar o processo as amostras foram fixadas em formol 10%.

Inclusão:

1. Álcool 50% – 3 horas
2. Álcool 70% – 12 horas
3. Álcool 95% I – 24 horas
4. Álcool 95% II – 48 horas
5. Álcool Absoluto I – 24 horas
6. Álcool Absoluto II – 48 horas
7. Álcool Absoluto III – 56 horas
8. Xilol I – 24 horas
9. Xilol II – 48 horas
10. Parafina I – 30 minutos
11. Parafina II – 30 minutos
12. Parafina III – 1 hora
13. Parafina de inclusão – Bloco

Antes de iniciar o processo de desparafinização, as lâminas permaneceram 5 dias em estufa à 60°C para derreter e escorrer o excesso de parafina.

Desparafinização:

1. Xilol I – 30 minutos em estufa 60°
2. Xilol II – 30 minutos em estufa 60°
3. Xilol III – 30 minutos em estufa 60°
4. Álcool Absoluto I – 2 minutos
5. Álcool Absoluto II – 2 minutos
6. Álcool 95% I – 2 minutos
7. Álcool 95% II – 2 minutos

8. Álcool 85% – 2 minutos
9. Álcool 70% – 2 minutos

Coloração de Hematoxilina – Eosina:

1. Hematoxilina – 3 minutos
2. Água corrente – 5 minutos
3. Eosina – 1 minuto
4. Água – 1 mergulho
5. Álcool 70% – 2 minutos
6. Álcool 95% I – 2 minutos
7. Álcool 95% II – 2 minutos
8. Álcool Absoluto I – 2 minutos
9. Álcool Absoluto II – 2 minutos
10. Xilol I – 2 minutos
11. Xilol II – 2 minutos
12. Xilol III – 2 minutos
13. Montagem das lâminas
14. Secagem – 2 dias

Coloração de Picrosirius:

1. Água – 1 mergulho
2. Picrosirius – 30 minutos
3. Água – 1 mergulho
4. Álcool 70% – 2 minutos
5. Álcool 95% I – 2 minutos
6. Álcool 95% II – 2 minutos
7. Álcool Absoluto I – 2 minutos
8. Álcool Absoluto II – 2 minutos
9. Xilol I – 2 minutos
10. Xilol II – 2 minutos
11. Xilol III – 2 minutos
12. Montagem das lâminas
13. Secagem – 2 dias

Apêndice D – Dados referentes ao número, sexo e idade (Grupo 1 em meses, grupos 2 e 3 em anos), dos animais dos grupos 1, 2 e 3.

Animais do grupo 1:

Nº	Sexo	Idade
8	M	8
17	M	5
25	M	9
32	M	8
59	M	4
3	F	3
9	F	8
15	F	7
22	F	4
49	F	4

Animais do grupo 2:

Nº	Sexo	Idade
4	M	4
35	M	3
38	M	4
53	M	5
58	M	5
14	F	5
40	F	3
48	F	5
54	F	5
55	F	3

Animais do grupo 3:

Nº	Sexo	Idade
19	M	12
41	M	10
61	M	10
62	M	10
64	M	10
6	F	10
12	F	12
13	F	15
31	F	12
56	F	13

Apêndice E – Valores da mensuração anatômica, comprimento, altura, largura (mm), peso (g) e volume (ml) dos rins direito e esquerdo dos animais do grupo 1, 2 e 3.

IDENTIFICAÇÃO			COMPRIMENTO		ALTURA		LARGURA		PESO		VOLUME	
GRUPO	Nº	Sexo	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E
1	8	M	33,76	33,28	19,04	18,90	13,64	13,47	5,12	5,04	5,00	5,00
1	17	M	28,52	29,68	15,54	17,39	12,10	11,43	3,93	3,94	4,00	4,00
1	25	M	35,42	35,67	23,59	22,43	15,09	16,68	8,43	8,16	8,00	7,00
1	32	M	36,15	34,96	23,12	24,77	16,44	14,98	8,21	8,12	8,00	8,00
1	59	M	31,84	32,73	19,09	20,37	17,41	19,37	7,06	8,27	6,00	7,00
1	3	F	28,23	28,77	17,58	16,81	12,58	13,99	3,98	4,21	4,00	3,00
1	9	F	35,03	32,62	18,98	19,69	10,83	11,65	5,87	5,61	5,00	5,00
1	15	F	29,72	30,44	19,07	17,03	12,50	12,29	4,66	4,74	4,00	4,00
1	22	F	34,10	31,15	19,96	18,75	19,91	16,47	6,82	5,62	6,00	5,00
1	49	F	25,94	26,49	16,88	15,14	11,87	13,31	3,25	3,22	3,00	3,00
2	4	M	42,62	44,35	31,70	28,48	21,42	20,22	17,11	18,23	15,00	15,00
2	35	M	42,60	44,16	27,60	26,85	16,55	16,24	12,56	13,49	12,00	13,00
2	38	M	40,12	39,10	27,16	26,88	19,18	19,09	12,60	13,25	12,00	13,00
2	53	M	37,57	34,25	23,75	24,31	16,83	19,69	10,77	10,43	10,00	10,00
2	58	M	44,76	43,51	26,90	26,71	19,74	22,79	15,5	15,27	14,00	14,00
2	14	F	34,19	37,00	24,57	23,27	18,18	15,67	8,85	9,34	8,00	8,00
2	40	F	37,80	38,38	24,59	23,58	18,92	17,30	10,00	10,64	9,00	10,00
2	48	F	36,13	35,07	22,64	24,90	14,41	12,51	7,37	8,21	7,00	8,00
2	54	F	42,81	43,18	30,45	27,94	20,96	22,96	16,88	17,92	13,00	15,00
2	55	F	37,56	35,02	25,93	24,03	16,04	18,79	10,26	11,05	10,00	11,00
3	19	M	39,50	38,93	27,53	26,30	21,06	23,93	15,37	15,66	10,00	10,00
3	41	M	36,63	37,17	28,75	29,93	25,32	26,15	17,12	18,79	11,00	13,00
3	61	M	43,35	41,07	30,63	29,86	17,97	21,94	18,22	17,61	16,00	16,00
3	62	M	34,13	34,92	21,36	24,19	15,63	18,62	8,55	9,87	9,00	9,00
3	64	M	35,73	35,71	19,65	20,05	16,69	15,36	8,57	8,03	8,00	8,00
3	6	F	38,28	36,00	26,98	24,83	17,55	19,37	12,49	12,02	10,00	10,00
3	12	F	34,83	34,39	21,73	21,20	12,78	16,72	7,05	7,64	7,00	7,00
3	13	F	34,10	40,05	22,39	25,15	21,10	22,92	10,54	14,05	10,00	13,00
3	31	F	40,83	34,29	25,35	24,05	18,89	18,72	12,33	8,75	10,00	9,00
3	56	F	32,22	32,26	21,05	21,65	17,51	17,9	7,94	8,52	8,00	8,00

Apêndice F – Valores da mesoscopia e estereologia, córtex (μm), medula (μm), inter-relação córtex / medula e volume glomerular (μm^3) dos rins dos animais do grupo 1,2 e 3.

IDENTIFICAÇÃO			CORTEX		MEDULA		RELAÇÃO C/M		NUCLEATOR
G	Nº	Sexo	RD	RE	RD	RE	RD	RE	VOL. GLOM.
1	8	M	3.103,79	3.269,54	9.654,84	10.343,26	0,32	0,32	22.473,19
1	17	M	3.260,40	2.925,06	10.931,34	10.183,12	0,30	0,29	20.502,23
1	25	M	4.246,20	4.073,43	12.561,89	11.320,44	0,34	0,36	41.486,10
1	32	M	3.739,10	4.115,81	13.228,60	12.600,55	0,28	0,33	31.869,68
1	59	M	3.655,26	4.099,70	9.959,93	10.806,89	0,37	0,38	28.142,65
1	3	F	2.892,83	3.191,63	8.944,88	8.629,24	0,32	0,37	17.310,07
1	9	F	3.798,25	3.907,16	11.847,58	11.854,02	0,32	0,33	27.512,26
1	15	F	2.622,03	3.005,97	9.201,06	10.435,65	0,29	0,29	21.383,52
1	22	F	3.134,03	3.239,47	9.975,34	10.894,74	0,32	0,30	22.989,94
1	49	F	3.439,00	2.978,39	9.606,25	9.003,69	0,36	0,33	16.549,77
2	4	M	5.680,91	4.898,25	12.067,70	12.791,09	0,47	0,39	57.834,37
2	35	M	4.294,82	4.727,65	8.946,03	10.372,56	0,48	0,47	35.287,02
2	38	M	4.989,73	4.775,34	15.551,58	15.187,94	0,32	0,31	35.323,74
2	53	M	4.341,67	4.737,04	10.876,33	11.403,39	0,40	0,42	42.757,17
2	58	M	4.367,59	3.775,04	12.873,06	10.918,83	0,34	0,35	34.887,37
2	14	F	5.013,30	3.723,14	13.768,39	12.759,14	0,37	0,29	31.628,11
2	40	F	3.938,66	4.540,91	9.705,75	10.110,94	0,41	0,45	34.074,50
2	48	F	3.820,69	3.622,94	11.859,16	10.351,74	0,32	0,35	30.477,50
2	54	F	5.318,24	5.186,66	12.219,34	12.668,64	0,44	0,41	31.192,64
2	55	F	4.013,15	4.652,99	14.139,94	12.343,81	0,28	0,38	32.047,86
3	19	M	5.589,65	5.844,20	11.749,74	12.486,82	0,48	0,47	56.645,60
3	41	M	4.356,12	4.913,10	11.689,68	12.164,11	0,37	0,41	50.003,87
3	61	M	5.161,78	5.750,32	15.691,91	16.054,18	0,33	0,36	61.469,48
3	62	M	3.679,75	3.653,45	10.461,99	11.552,64	0,35	0,32	48.271,13
3	64	M	3.479,83	4.007,49	9.713,46	11.967,74	0,36	0,34	42.919,79
3	6	F	4.255,50	4.158,90	11.296,62	10.842,43	0,38	0,38	35.951,03
3	12	F	3.745,12	4.081,85	11.890,17	11.740,45	0,32	0,35	32.077,22
3	13	F	3.751,00	4.069,31	10.122,62	11.582,61	0,37	0,35	43.989,25
3	31	F	4.952,22	5.330,35	12.305,53	12.231,98	0,40	0,44	40.083,09
3	56	F	3.584,18	4.292,37	11.175,35	12.651,13	0,32	0,34	37.477,19