

Rena

**AUMENTO DO TEMPO
DE SOBREVIVÊNCIA EM CASOS
DA INSUFICIÊNCIA RENAL
CRÔNICA (IRC)**

NOVO ESTUDO CLÍNICO

The *ScientificWorld* JOURNAL

**Efeitos de um Suplemento Alimentar
em Reduzir a Probabilidade de
Morte devido a Crises Urêmicas
em Cães afetados pela Insuficiência
Renal Crônica (estudo clínico
randomizado controlado)**

A administração de Rena Dogs
é indicada para aumentar
a sobrevivência e melhorar
a qualidade de vida de cães
com IRC naturalmente adquirida.

* Nome do produto na Itália: Renal Dogs



Candioli
PHARMA

www.candioli-vet.it

Biotal
um novo conceito
www.biotal.com

RenaDogs e RenaCats

- ✓ QUELANTE INTESTINAL DE FÓSFORO
- ✓ REPOSITOR DE POTÁSSIO SÉRICO
- ✓ CONVERSOR DO CITRATO A BICARBONATO



Citrato de Potássio

- Repositor do Potássio Sérico
- Conversor do Citrato a Bicarbonato

Quitosana

- Quelante Intestinal de Fósforo
- Derivado da quitina, polímero natural encontrado no exoesqueleto de crustáceos
- Não aumenta a calcemia

Carbonato de cálcio

- Quelante Intestinal de Fósforo
- Formador de fosfato bicálcico e tricálcico → excretados pelas fezes

+ QUALIDADE DE VIDA!

Modo de uso

Adicione diariamente o suplemento **RENADOGS** ou **RENACATS** no alimento de seu cão ou gato, de acordo com a tabela ao lado.

É possível dividir a dosagem diária em 2 a 3 administrações, de acordo com o número de refeições fornecidas ao animal.

















Administre **RENADOGS** ou **RENACATS** por 30 dias ou períodos mais longos, de acordo com as instruções do seu médico veterinário.

É preferível misturar o produto com alimento úmido. No caso de uma dieta baseada somente em alimentos secos: umidifique levemente o alimento para assegurar uma boa adesão do produto ao alimento.

Medida grande = 2 gramas

Medida pequena = 0,5 gramas



 CÃES PEQUENOS	menos que 2,5 kg		1 medida
	de 2,5 a 5 kg		2 medidas
	de 5 a 7,5 kg		3 medidas
 CÃES MÉDIOS	de 7,5 a 10 kg		4 medidas
	de 10 a 15 kg		2 medidas
	de 15 a 25 kg		3 medidas
 CÃES GRANDES	de 25 a 35 kg		4 medidas
	de 35 a 50 kg		5 medidas
	acima de 50 kg		6 medidas
 GATOS	menos que 2,5 kg		1 medida
	de 2,5 a 5 kg		2 medidas
	acima de 5 kg		3 medidas



RenAdvanced

PREBIÓTICOS
+
PROBIÓTICOS
+
BIOFLAVONÓIDES
+
COMPLEXO DE VITAMINAS

✓ DIMINUI ABSORÇÃO INTESTINAL
DE DERIVADOS NITROGENADOS

✓ AUMENTA O APETITE



Candioli
PHARMA

www.candioli-vet.it

Biotal
um novo conceito
www.biotal.com

RenAdvanced Dogs/Cats

PREBIÓTICOS + PROBIÓTICOS + BIOFLAVONÓIDES + COMPLEXO DE VITAMINAS



✓ DIMINUI ABSORÇÃO INTESTINAL DE DERIVADOS NITROGENADOS

✓ AUMENTA O APETITE

FOS + *Lactobacillus acidophilus* + *Enterococcus faecium*

- Prebióticos e probióticos
- Auxiliam na diminuição da absorção intestinal de derivados nitrogenados
- Aumentam o apetite

Vitamina C

- Neutralização da atividade dos radicais livres

Bioflavonóides

- Extrato seco de laranja padronizado a 40% de hesperidina

Vitamina B12, Ácido Fólico, Piridoxina

- Vitaminas hidrossolúveis

+ QUALIDADE DE VIDA!

Modo de uso

Adicione diariamente o suplemento **RENADVANCED CATS** ou **RENADVANCED DOGS** no alimento de seu gato ou cão de acordo com a tabela ao lado.

É possível dividir a dosagem diária em 2 a 3 administrações, de acordo com o número de refeições fornecidas ao animal.

















Administre **RENADVANCED CATS** ou **RENADVANCED DOGS** por 30 dias ou períodos mais longos.

É preferível misturar o produto com alimento úmido. No caso de uma dieta baseada somente em alimentos secos: umidifique levemente o alimento para assegurar uma boa adesão do produto ao alimento.

Medida grande = 2 gramas

Medida pequena = 0,5 gramas



 CÃES PEQUENOS	menos que 2,5 kg		1 medida
	de 2,5 a 5 kg		2 medidas
	de 5 a 7,5 kg		3 medidas
	de 7,5 a 10 kg		4 medidas
 CÃES MÉDIOS	de 10 a 15 kg		2 medidas
	de 15 a 25 kg		3 medidas
	de 25 a 35 kg		4 medidas
 CÃES GRANDES	de 35 a 50 kg		5 medidas
	acima de 50 kg		6 medidas
 GATOS	menos que 2,5 kg		1 medida
	de 2,5 a 5 kg		2 medidas
	acima de 5 kg		3 medidas

Research Article

Effect of Dietary Supplements in Reducing Probability of Death for Uremic Crises in Dogs Affected by Chronic Kidney Disease (Masked RCCT)

Andrea Zatelli,¹ Marco Pierantozzi,¹ Paola D'Ippolito,¹ Mauro Bigliati,² and Eric Zini^{3,4}

¹ *Clinica Veterinaria Pirani, Nephrology and Urology Division, Via Majakowski 2/L,M,N, 42124 Reggio Emilia, Italy*

² *Istituto Farmaceutico Candioli, Via Manzoni 2, 10192 Beinasco, Italy*

³ *Istituto Veterinario di Novara, S.P. 9, 28060 Granozzo con Monticello, Italy*

⁴ *Department of Veterinary Clinical Sciences, University of Padua, 35020 Agripolis, Legnaro, Italy*

Correspondence should be addressed to Andrea Zatelli, az@clinicaveterinariapirani.it

Received 14 October 2011; Accepted 8 December 2011

Academic Editor: Jiannong Liu

Copyright © 2012 Andrea Zatelli et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Chitosan and alkalinizing agents can decrease morbidity and mortality in humans with chronic kidney disease (CKD). Whether this holds true in dog is not known. Objective of the study was to determine whether a commercial dietary supplement containing chitosan, phosphate binders, and alkalinizing agents (Renal), compared to placebo, reduces mortality rate due to uremic crises in dogs with spontaneous CKD, fed a renal diet (RD). A masked RCCT was performed including 31 azotemic dogs with spontaneous CKD. Dogs enrolled in the study were randomly allocated to receive RD plus placebo (group A; 15 dogs) or RD plus Renal (group B; 16 dogs). During a first 4-week period, all dogs were fed an RD and then randomized and clinically evaluated up to 44 weeks. The effects of dietary supplements on mortality rate due to uremic crises were assessed. At 44 weeks, compared to group A, dogs in group B had approximately 50% lower mortality rate due to uremic crises ($P = 0.015$). Dietary supplementation with chitosan, phosphate binders, and alkalinizing agents, along with an RD, is beneficial in reducing mortality rate in dogs with spontaneous CKD.

1. Introduction

There is a strong consensus to use dietary modification in dogs affected by chronic kidney disease (CKD) [1–7]. Feeding a renal diet (RD) in dogs with mild and moderate spontaneous CKD had beneficial effects on uremia and mortality rate compared to a maintenance diet [1]. In addition, phosphate retention and renal secondary hyperparathyroidism are common complications of CKD [2–7], and hyperphosphatemia is associated with the development of renal lesions in dogs and cats [2–7]. In humans and cats, oral supplementation with compounds such as chitosan (produced by deacetylation of chitin, which is the structural element in the exoskeleton of crustaceans and cell wall of fungi), calcium carbonate, and potassium citrate has been advocated to control hyperphosphatemia [4–11]. In addition, chitosan is recognized to reduce azotemia during spontaneous CKD in humans and cats [8–10]. However, whether

this holds true for dog has not been previously assessed. Aim of the present study was to evaluate the efficacy of a commercial oral supplement rich in chitosan, enteric phosphate binders, and alkalinizing agents (Renal—Istituto Farmaceutico Candioli SpA, Italy), in reducing mortality rate due to uremic crises in dogs affected by spontaneous CKD, in International Renal Interest Society (IRIS) stages 2, 3, and 4 [4, 12], fed an RD.

2. Materials and Methods

2.1. Animals. Dogs affected by CKD, in IRIS stages 2, 3, and 4, were recruited at the Clinica Veterinaria Pirani of Reggio Emilia, Italy. Results of history, physical examination, including body weight (BW) and body condition score (BCS) (1 to 5 scoring system (3 optimal)), CBC, serum biochemical profile, urinalysis, urine protein-to-creatinine (UPC) ratio, venous blood gas analysis, and indirect blood pressure

measurement were collected. All dogs underwent abdominal ultrasonographic examination, which was performed by the same operator and with the same instrument (Philips HD11XE or Philips HD7XE, Philips Ultrasound, Bothell, Washington, USA). Dogs of any age were included if presenting inactive urine sediment and stable renal function, as defined by serum creatinine concentrations above 1.4 mg/dL (IRIS stages ≥ 2) that did not increase or decrease by 20% or more within 4 weeks from initial determination [4]. In the first 4-week period, all dogs were started on an RD (Royal Canin Renal Canine, Royal Canin SA, Aimargues, France; Hill's Prescription Diet Canine k/d, Hill's Pet Nutrition Inc, Topeka, Kansas, USA).

Dogs were excluded if clinically affected or suspected to be affected by genitourinary tract inflammation or infection, cardiac disease, neoplasia, and endocrinopathies. As a standard, dogs with arterial pressure (AP) substage 3 of the IRIS staging system [12] were treated with oral amlodipine at 0.1 to 0.5 mg/kg, *q* 24 hr, in order to reduce AP to substage 1 or 0 [6, 7, 13, 14]. Dogs with serum albumin concentration ≤ 2.0 g/dL received oral acetylsalicylic acid at 2.0 mg/kg *q* 24 hr, to prevent thrombosis [6] (Shearer L, Kruth SA, Wood D. Effects of aspirin and clopidogrel on platelet function in healthydogs. *J Vet Intern Med* 2009; 23(3): 745 (abstract)).

2.2. Study Design. A randomized, blinded, placebo-controlled clinical trial was performed using a software to allocate cases (MedCalc, Version 11.3.0.0). Informed consent to participate in the study was signed by dog owners.

In the first 4 weeks following inclusion all dogs were started on an RD (Royal Canin Renal Canine, Royal Canin SA, Aimargues, France; Hill's Prescription Diet Canine k/d, Hill's Pet Nutrition Inc, Topeka, Kansas, USA). At the end of this first period, all dogs were clinically reevaluated, performing all above-mentioned laboratory and instrumental analyses and assigned to group A (RD plus placebo), or treatment group B (RD plus Renal). Compositions of the dietary supplements are provided in Table 1.

To mask the identity of the two supplements, they were formulated as powders with identical colours and contained in the same package. After assignment to group A and B, dogs were reassessed between week 4 and 8. Thereafter, examinations were scheduled every 4 months and up to 44 weeks of treatment, or earlier if worsening of clinical signs was noted by the owner.

2.3. Blood Sampling and Assay. During each examination, a blood sample was collected in overnight fasted dogs, and serum was obtained within 30 minutes, stored at 4°C and analyzed within 24 hours. Venous blood gas analysis (Rapid-point 400, Bayer Health Care, Tarrytown (NY), USA) was immediately performed in all cases.

CBC and serum biochemical analysis, including albumin, total protein, glucose, bilirubin, cholesterol, amylase, alanine transferase, alkaline phosphatase, blood urea nitrogen (BUN), creatinine, ionized calcium, sodium, potassium, chloride, and phosphate, were determined by the use of standard methods (Cobas Mira, Roche Diagnostic, Basel,

TABLE 1: Composition of placebo and Renal.

Placebo
Maltodextrin
Renal
Maltodextrin
Calcium carbonate (Ca 38%)
Potassium Cytrate (K 36%)
Chitosan

Switzerland). Blood samples were labelled with alphanumeric codes assigned by randomization to ensure that laboratory personals were blinded during processing. All of the above-mentioned biochemical parameters were used for inclusion and exclusion evaluation.

2.4. Urine Sample and Urinalysis. During abdominal ultrasonography, an echo-guided cystocentesis was performed in all dogs, by the use of a 5 mL syringe connected to a 23-gauge needle. All urine samples were put in 10 mL, sterile, evacuated collection tubes labelled with alphanumeric codes based on the previous randomization. All urine samples were analyzed by the same operator. Urines were examined within 60 minutes from collection if samples were stored at room temperature (approx. 20°C), or within 4 hours if samples were stored at 4° to 8°C. Urine sediment was obtained by centrifugation (10 minutes at 900 \times g) of 5 mL of urine, followed by removal of 4.5 mL of supernatant, and by resuspension of the remaining 0.5 mL of urine. A sample of 12 μ L of the resuspended urine was microscopically assessed. The supernatant was transferred into separate tubes and stored at -20°C to determine urine protein and creatinine concentration within 7 days. RBCs and WBCs were expressed as mean number of cells/10 hpf (40x magnification). Urine sediment with bacteriuria, and/or >5 RBCs or WBCs/hpf, was considered indicative of active inflammation.

2.5. UPC Ratio. To calculate the UPC ratio, protein concentration (mg/dL) was measured with pyrogallol red, and creatinine (mg/dL) was measured by the use of the Jaffé method in undiluted urine that was thawed before the analysis. Analytes were measured in an automated spectrophotometer (Cobas Mira, Roche Diagnostic, Basel, Switzerland). Dogs were classified as nonproteinuric, borderline proteinuric, or proteinuric according to the IRIS staging system (UPC ratio < 0.2 = nonproteinuric, UPC ratio 0.2 to 0.5 = borderline proteinuric, and UPC ratio > 0.5 = proteinuric) [4, 12].

2.6. Blood Pressure Measurement. Systolic blood pressure measurements were obtained by the use of an ultrasonic Doppler device (DOP 2001, SAMED Elettromedicali srl, Merlino (LO), Italy) in all dogs [13, 14].

2.7. Diagnosis of Uremic Crisis. Diagnosis of uremic crisis was established by clinicians involved in patient management unaware of the supplement being administered. As previously suggested by Jacob and colleagues [1], uremic crisis

TABLE 2: Mean, median, and 25% and 75% for BW and BCS, hematocrit, serum creatinine, BUN, phosphate, blood pH, bicarbonate, and UPC ratio, for Group A and B at time of randomization. Differences between groups are depicted by *P* value (statistically significant $P < 0.05$).

	Group A	Group B	<i>P</i> value (A Versus B)
BW (kg)			
mean	18.2	21.0	
median	14.4	17.8	0.17
25% percentile; 75% percentile	(8.5; 29.0)	(9.7; 29.9)	
BSC (1–5)			
mean	2.8	2.7	
median	3.0	3.0	1.00
25% percentile; 75% percentile	(3.0; 3.0)	(2.0; 3.0)	
Serum Creatinine (mg/dL)			
mean	5.7	4.9	
median	3.1	4.1	0.66
25% percentile; 75% percentile	(1.9; 10.5)	(2.1; 7.23)	
BUN (mg/dL)			
mean	97.1	86.2	
median	69.0	75.1	0.76
25% percentile; 75% percentile	(32.2; 204.0)	(42.9; 150.1)	
Phosphorus (mg/dL)			
mean	8.9	7.1	
median	7.2	7.2	0.90
25% percentile; 75% percentile	(5.4; 11.0)	(5.0; 9.5)	
Blood pH			
mean	7.30	7.29	
median	7.30	7.34	0.55
25% percentile; 75% percentile	(7.25; 7.40)	(7.20; 7.39)	
HCO ₃ ⁻ (mEq/L)			
mean	18.9	18.4	
median	19.1	18.2	0.14
25% percentile; 75% percentile	(16.0; 23.4)	(14.6; 22.7)	
Hct (%)			
mean	30.7	32.1	
median	34.00	33.0	0.37
25% percentile; 75% percentile	(24.6; 39.0)	(24.5; 41.0)	
UPC ratio			
mean	2.90	0.62	
median	0.68	0.39	0.41
25% percentile; 75% percentile	(0.24; 1.60)	(0.29; 0.80)	

was defined when the 3 following findings were observed: (i) identification of at least 2 clinical signs consistent with uremia including depression, lethargy, anorexia, vomiting, uremic breath odour; (ii) serum creatinine concentration at least 20% greater than the previously determined value; (iii) no plausible alternative for these clinical signs.

2.8. Establishing Cause of Death. Causes of death were categorized as nonrenal, probably renal or renal, based on results of anamnesis, physical examination, blood and urine tests, and criteria used to define uremic crisis. To avoid bias, only dogs classified in the third category were considered to have died from a renal event (uremic crisis). Necropsies were not performed in any case.

2.9. Statistical Analysis. Dogs characteristics between groups were compared at the time of group assignment, and intragroup during reexamination at 4–8 weeks of treatment, using the Mann-Whitney nonparametric test. We statistically evaluated the following parameters: BCS and BW, hematocrit, serum creatinine, BUN, phosphate, blood pH, bicarbonate, and UPC ratio.

Kaplan-Meier was used to evaluate the survival probability in both groups and the Logrank test was used to compare rates of death due to uremic crisis between groups. In addition, the Kaplan-Meier was used to evaluate the probability of maintaining stable serum creatinine (serum creatinine concentration not increased above 20% compared to randomization time) in both groups, and the Logrank test

TABLE 3: Mean, median, and 25% and 75% percentile for BW and BCS, hematocrit, serum creatinine, BUN, phosphate, blood pH, bicarbonate, and UPC ratio, for group B at time of randomization (T0) and after 4–8 weeks (T1) of treatment. Differences between values at different examinations are depicted by *P* value (statistically significant $P < 0.05$).

	T0	T1	<i>P</i> value (T0 Versus T1)
BW (kg)			
mean	21.0	23.9	
median	17.8	23.0	0.06
25% percentile; 75% percentile	(9.7; 29.9)	(9.5; 33.9)	
BSC (1–5)			
mean	2.7	2.8	
median	3.0	3.0	1.00
25% percentile; 75% percentile	(2.0; 3.0)	(2.5; 3.0)	
Serum Creatinine (mg/dL)			
mean	4.9	4.4	
median	4.1	3.4	0.50
25% percentile; 75% percentile	(2.1; 7.23)	(1.7; 6.0)	
BUN (mg/dL)			
mean	86.2	87.6	
median	75.1	63.3	0.55
25% percentile; 75% percentile	(42.9; 150.1)	(55.0; 77.0)	
Phosphorus (mg/dL)			
mean	7.1	6.9	
median	7.2	5.4	0.87
25% percentile; 75% percentile	(5.0; 9.5)	(4.2; 10.7)	
Blood pH			
mean	7.29	7.30	
median	7.34	7.30	0.69
25% percentile; 75% percentile	(7.20; 7.39)	(7.25; 7.40)	
HCO ₃ ⁻ (mEq/L)			
mean	18.4	19.8	
median	18.2	20.5	0.20
25% percentile; 75% percentile	(14.6; 22.7)	(16.1; 22.6)	
Hct (%)			
mean	32.1	34.2	
median	33.0	34.0	0.49
25% percentile; 75% percentile	(24.5; 41.0)	(29.6; 40.7)	
UPC ratio			
mean	0.62	0.58	
median	0.39	0.3	0.39
25% percentile; 75% percentile	(0.29; 0.80)	(0.25; 0.79)	

was used to compare rates of creatinine variation between groups. Statistical analysis was performed with a commercial software, using the intention-to-treat principle. Significance was defined as $P < 0.05$.

3. Results

3.1. Dogs and Groups. Thirty-one dogs were enrolled in the study. The median age of all dogs was 6 years (range 10 months–13 years). The median age of dogs in group A was 5 years. The median age of dogs in group B was 7 years. Four dogs were intact females, 16 were spayed females, 11 were males. Seven dogs were mixed breed, 2 each Dalmatian, German Shepherd, and Boxer, 1 each Beagle, Boxer, Cavalier

King Charles Spaniel, American Pitbull, Dobermann, Golden Retriever, Labrador Retriever, Rottweiler, Border Collie, Bullmastiff, English Bulldog, English Cocker, English Setter, Greyhound, Irish Wolfhound, York-Shire Terrier, and Miniature Poodle.

Fifteen dogs were allocated in group A, and 16 in group B. At the time of allocation, there was no statistical difference between groups with regard to BW and BCS, hematocrit, serum creatinine, BUN, phosphate, blood pH, bicarbonate, and UPC ratio (Table 2).

Four dogs in both groups had arterial pressure (AP) in substage 3 of the IRIS staging system [12] and were treated with oral amlodipine (Norvasc, Pfizer Manufacturing Deutschland GmbH, Illertissen, Germany). Five dogs in

TABLE 4: Mean, median, 25% and 75% percentile for BW and BCS, hematocrit, serum creatinine, BUN, phosphate, blood pH, bicarbonate, and UPC ratio, for group A at time of randomization (T0) and after 4–8 weeks (T1) of treatment. Difference between values at different examinations are depicted by *P*-value (statistically significant $P < 0.05$).

	T0	T1	<i>P</i> value (T0 Versus T1)
BW (kg)			
mean	18.2	24.4	0.66
median	14.4	27.9	
25% percentile; 75% percentile	(8.5; 29.0)	(18.1; 31.9)	
BSC (1–5)			
mean	2.8	3.2	1.00
median	3.0	3.0	
25% percentile; 75% percentile	(3.0; 3.0)	(3.0; 4.0)	
Serum Creatinine (mg/dL)			
mean	5.7	4.2	0.77
median	3.1	2.0	
25% percentile; 75% percentile	(1.9; 10.5)	(1.5; 5.8)	
BUN (mg/dL)			
mean	97.1	77.0	
median	69.0	32.8	0.54
25% percentile; 75% percentile	(32.2; 204.0)	(18.9; 121.6)	
Phosphorus (mg/dL)			
mean	8.9	6.6	
median	7.2	5.5	0.97
25% percentile; 75% percentile	(5.4; 11.0)	(4.7; 7.8)	
Blood pH			
mean	7.30	7.32	
median	7.30	7.30	0.65
25% percentile; 75% percentile	(7.25; 7.40)	(7.30; 7.35)	
HCO ₃ ⁻ (mEq/L)			
mean	18.9	20.2	
median	19.1	19.5	0.43
25% percentile; 75% percentile	(16.0; 23.4)	(16.3; 24.4)	
Hct (%)			
mean	30.7	38.7	
median	34.0	40.0	0.40
25% percentile; 75% percentile	(24.6; 39.0)	(28.8; 45.3)	
UPC ratio			
mean	2.90	1.39	
median	0.68	0.55	0.54
25% percentile; 75% percentile	(0.24; 1.60)	(0.26; 0.70)	

Group A and 6 dogs in Group B had low serum albumin level (serum albumin concentration ≤ 2.0 g/dL) and received oral acetylsalicylic acid at 2.0 mg/kg q 24 hr.

3.2. Followup: BW and BCS, Hematocrit, Serum Creatinine, BUN, Phosphate, Blood pH, Bicarbonate, Potassium, Calcium, and UPC Ratio. When values recorded at 4–8 weeks following supplement administration were compared with those collected at randomization time, in both groups, there was an improvement for mean serum concentrations of creatinine, BUN, phosphate, bicarbonate, and results of venous blood gas analysis, but it was statistically insignificant (Tables 3 and 4). Potassium and calcium remained stable in both

groups A and B, and no episodes of hyperkalemia or of hypercalcemia were identified during the study period. There were a significant increase in BW in group B 4–8 weeks following enrolment (Table 3).

3.3. Associations between Dietary Supplements and Serum Creatinine or Death for Uremic Crises. There was a statistically significant difference ($P = 0.0063$; chi-square = 7.44; 95% CI 0.1231 to 0.8615) between groups A and B regarding the probability of maintaining stable level of serum creatinine, with a median period of 16 weeks for group A and 32 weeks for group B (Figure 1(a)). By the end of the study, 9 out of 15 dogs in group A were dead (8 for uremic crises), against 6

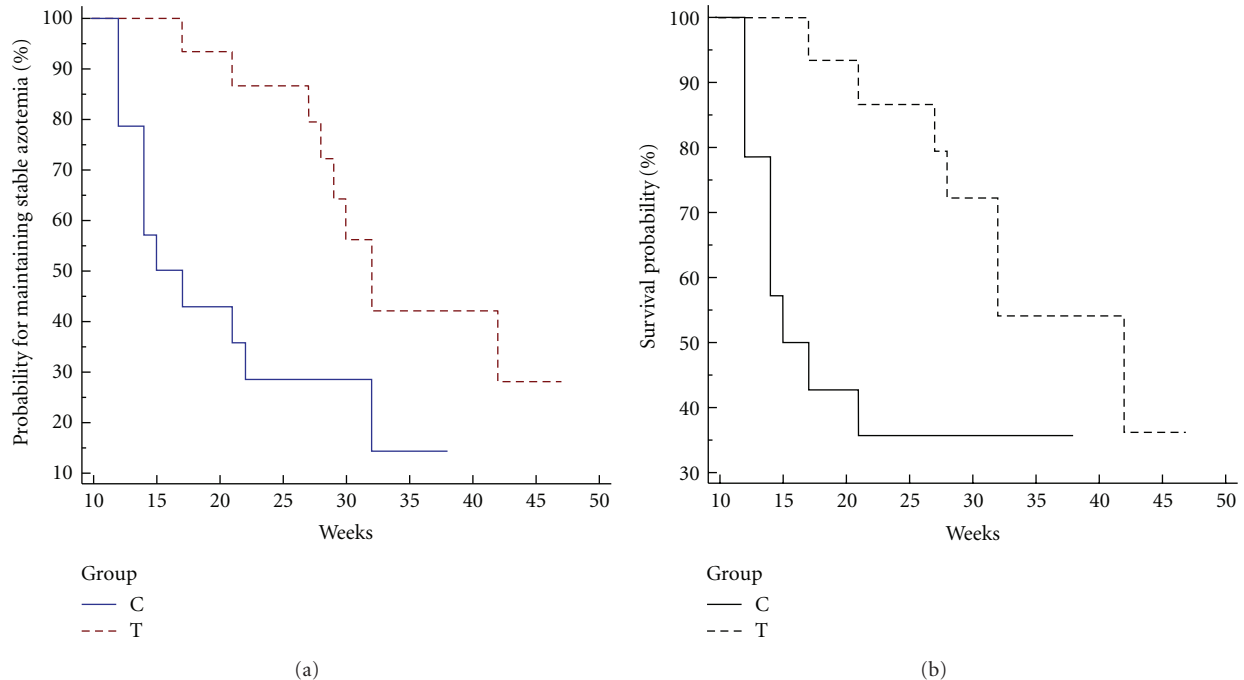


FIGURE 1: (a) Kaplan-Meier evaluating the probability of maintaining stable level of serum creatinine in treatment group B and in placebo group A. Legend: C: placebo control group A; T: treatment group B. (b) Survival curves (death from renal causes) in CKD dogs in IRIS stages 2, 3, and 4 in treatment group B and in placebo control group A. Legend: C: placebo control group A; T: treatment group B.

out of 16 in group B (5 for uremic crises). Median survival of dogs in group B was 42 weeks and was significantly longer than in the control group, with a median survival of 16 weeks ($P = 0.0015$; chi-square = 5.88; 95% CI 0.1093 to 0.9476) (Figure 1(b)). Nonrenal causes of death included one case of aspiration pneumonia in group B, and in group A one dog died because of metastatic hemangiosarcoma. The percentage of deaths due to nonrenal causes did not differ between groups.

4. Discussion

In a previously published study, admission concentration of serum creatinine did not influence survival in dogs with spontaneous CKD if an RD was administered [1]. Indeed, median survival for 21 dogs fed an RD and with a mean serum creatinine concentration of 3.3 mg/dL was 615 days, and median survival for dogs with serum creatinine between 2.0 and 3.1 mg/dL was also 615 days [1]. Differently, among 17 dogs fed a maintenance diet, median survival for dogs with a mean serum creatinine of 3.7 mg/dL was of only 252 days, whereas that of the subpopulation with serum creatinine between 2.0 and 3.1 mg/dL was 461 days [1].

In the present investigation, all dogs were fed an RD, and the mean serum creatinine concentration at the time of randomization was 5.7 mg/dL in group A and 4.9 mg/dL in group B. After 336 days of treatment, 10 out of 16 dogs in group B were alive, compared to 6 out of 15 dogs in group A, with a median survival time of 42 and 16 weeks, respectively ($P = 0.0015$), suggesting that chitosan together with alkalinizing agents are useful in maintaining long-term

good clinical conditions in dogs, similar to previous studies performed in humans and cats [8–10]. In addition, the beneficial effect of the dietary supplement was evident on renal function which was stable, based on creatinine concentration, twice as much longer in group B compared to group A ($P = 0.0063$). It is worth mentioning that the improvement of blood analytes observed in the placebo-treated group A after 4–8 weeks of treatment was biased by 3 dogs that died due to severe renal failure and were therefore not included in the analysis. In contrast, none of the dogs in group B had died by 4–8 weeks and was excluded from analysis.

In humans, two possible explanations have been proposed for the reduction of serum concentrations of nitrogen metabolites, including their increased clearance due to compensatory hypertrophy of the remaining nephrons, and their enhanced excretion bound to chitosan in the digestive tract [8, 15]. Furthermore, it has been reported that chitosan can combine with acidic substances suspected to be uremic toxins, resulting in their greater excretion from the body, thus in improved clinical conditions [8, 16]; whether these same effects are exerted in dogs has not been studied but the present results may suggest that one or more of these mechanisms operate also in this species. Furthermore, because the supplement contains different substances, it cannot be excluded that phosphate binders and alkalinizing agents, or their combination, are active against uremic toxins rather than chitosan. In summary, the present study shows the beneficial effect of a commercial dietary supplement including chitosan, enteric phosphate binders, and alkalinizing agents in dogs affected by spontaneous CKD

in IRIS stages 2, 3, and 4, fed an RD. The fact that serum creatinine concentration was significantly more stable and for a longer period of time in dogs receiving the supplement (Group B) is consistent with the hypothesis that delay in development of uremic crises and associated mortality rate was related, at least in part, with a reduction in the progression of renal failure.

Abbreviations

CKD:	Chronic kidney disease
RD:	Renal diet
IRIS:	International Renal Interest Society
BW:	Body weight
BCS:	Body condition score
BUN:	Blood urea nitrogen
UPC:	Urine protein-to-creatinine
AP:	Arterial pressure
RR:	Relative risk
95% CI:	95% confidence interval.

Acknowledgment

This study was supported by a grant of Istituto Farmaceutico Candioli, Italy.

References

- [1] F. Jacob, D. J. Polzin, C. A. Osborne et al., "Clinical evaluation of dietary modification for treatment of spontaneous chronic renal failure in dogs," *Journal of the American Veterinary Medical Association*, vol. 220, no. 8, pp. 1163–1170, 2002.
- [2] D. J. Polzin, C. A. Osborne, F. Jacob et al., "Chronic renal failure," in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, S. J. Ettinger and C. R. Feldman, Eds., pp. 1634–1662, WB Saunders, Philadelphia, Pa, USA, 5th edition, 2000.
- [3] S. A. Brown, "Chronic renal failure: recent developments in medical managements," in *Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*, J. Bainbridge and J. Elliott, Eds., pp. 195–208, British Small Animal Veterinary Association, Cheltenham, UK, 1996.
- [4] J. Elliott and A. D. J. Watson, "Chronic kidney disease: staging and management," in *Kirk's Current Veterinary Therapy*, J. D. Bonagura and D. C. Twedt, Eds., pp. 883–892, Elsevier Saunders, St. Louis, Mo, USA, 14th edition, 2009.
- [5] D. J. Polzin, "Chronic kidney disease," in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, S. J. Ettinger and E. C. Feldman, Eds., pp. 1990–2021, Elsevier Saunders, St. Louis, Mo, USA, 7th edition, 2010.
- [6] D. J. Polzin, C. A. Osborne, and S. Ross, "Evidence-based management of CKD," in *Kirk's Current Veterinary Therapy*, J. D. Bonagura and D. C. Twedt, Eds., pp. 872–879, Elsevier Saunders, St. Louis, Mo, USA, 14th edition, 2009.
- [7] http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_2009_Treatment_Recommendations.Summary.pdf.
- [8] S.-B. Jing, L. Li, D. Ji, Y. Takiguchi, and T. Yamaguchi, "Effect of chitosan on renal function in patients with chronic renal failure," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 49, no. 7, pp. 721–723, 1997.
- [9] V. Savica, L. A. Calò, P. Monardo et al., "Salivary phosphate-binding chewing gum reduces hyperphosphatemia in dialysis patients," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 20, no. 3, pp. 639–644, 2009.
- [10] E. Wagner, I. Schwendenwein, and J. Zentek, "Effects of a dietary chitosan and calcium supplement on Ca and P metabolism in cats," *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, vol. 117, no. 7-8, pp. 310–315, 2004.
- [11] S. A. Brown, M. Rickertsen, and S. Sheldon, "Effects of an intestinal phosphate binder on serum phosphate and parathyroid hormone concentration in cats with reduced renal function," *Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, vol. 6, no. 3, pp. 155–160, 2008.
- [12] http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS2009_Staging_CKD.pdf.
- [13] S. Brown, C. Atkins, R. Bagley et al., "Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats," *Journal of Veterinary Internal Medicine*, vol. 21, no. 3, pp. 542–558, 2007.
- [14] S. A. Brown, R. A. Henik, and D. R. Finco, "Diagnosis of systemic hypertension in dogs and cats," in *Kirk's Current Veterinary Therapy*, J. D. Bonagura, Ed., pp. 835–838, WB Saunders, Philadelphia, Pa, USA, 13th edition, 2000.
- [15] Y. Maezaki, K. Tsuji, Y. Nakagawa et al., "Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult males," *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 57, pp. 1439–1446, 1983.
- [16] H. Yoshimoto, S. Jing, and T. Yamaguchi, "Application of chitosan for oral sorbents," *Chitin Chitosan Research*, vol. 1, pp. 6–14, 1995.

Artigo Científico

Efeitos de um Suplemento Alimentar em Reduzir a Probabilidade de Morte devido a Crises Urêmicas em Cães afetados por Doença Renal Crônica (estudo clínico randomizado controlado)

Andrea Zatelli,¹ Marco Pierantozzi,¹ Paola D'Ippolito,¹ Mauro Bigliati,² e Eric Zini^{3,4}

¹Clínica Veterinária Pirani, Divisão de Nefrologia e Urologia, Via Majakowski 2/L, M, N, 42124 Reggio Emilia, Itália

²Istituto Farmaceutico Candioli, Via Manzoni 2, 10192 Beinasco, Itália

³Istituto Veterinario di Novara, S.P. 9, 28060 Granozzo con Monticello, Itália

⁴Departamento de Ciências Clínicas Veterinárias, Universidade de Pádua, 35020 Agripolis, Legnaro, Itália

Correspondências devem ser endereçadas para Andrea Zatelli, az@clinicaveterinariapirani.it

Recebido em 14 de outubro de 2011; Aceito em 8 de dezembro de 2011

Editor Acadêmico: Jiannong Liu

Copyright © 2012 Andrea Zatelli et al. Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob a Licença Creative Commons Attribution, que permite uso irrestrito, distribuição e reprodução em qualquer meio, desde que a obra original seja devidamente citada.

Quitosana e agentes alcalinizantes podem reduzir a morbidade e mortalidade em humanos com doença renal crônica (DRC). No entanto, não foi previamente verificado se isto também é verdade em cães. O objetivo deste estudo foi determinar se um suplemento alimentar comercial contendo quitosana, quelantes de fosfato, e agentes alcalinizantes (Renal), comparado com placebo, reduz a taxa de mortalidade devido a crises urêmicas em cães com DRC espontânea, alimentados com uma dieta renal (RD). Um estudo clínico randomizado controlado foi realizado incluindo 31 cães azotêmicos com DRC espontânea. Cães incluídos no estudo foram alocados aleatoriamente para receber uma RD mais placebo (grupo A; 15 cães) ou uma RD mais Renal (grupo B; 16 cães). Durante o primeiro período de quatro semanas, todos os cães foram alimentados com uma RD e então separados randomicamente e avaliados clinicamente até a 44ª semana. Os efeitos do suplemento alimentar na taxa de mortalidade devido a crises urêmicas foram avaliados. Na 44ª semana, em comparação com o grupo A, cães do grupo B apresentaram taxa de mortalidade aproximadamente 50% menor devido a crises urêmicas ($P = 0,015$). A suplementação alimentar com quitosana, quelantes de fosfato e agentes alcalinizantes, junto com uma RD, é benéfica na redução da taxa de mortalidade em cães com DRC espontânea.

1. Introdução

Há um forte consenso em modificar a alimentação de cães afetados por doença renal crônica (DRC) [1-7]. Alimentar com uma dieta renal (RD) cães com DRC espontânea de leve e moderada tem benefícios na uremia e na taxa de mortalidade se comparar com uma dieta de manutenção [1]. Ainda, retenção de fosfato e hiperparatireoidismo secundário renal são complicações comuns da DRC [2-7], e a hiperfosfatemia está associada com o desenvolvimento de lesões renais em cães e gatos [2-7]. Nos seres humanos e em

gatos, a suplementação oral com compostos como quitosana (produzida pela desacetilação da quitina, que é o elemento estrutural do exoesqueleto de crustáceos e da parede celular de fungos), carbonato de cálcio, e citrato de potássio tem sido citados para controlar a hiperfosfatemia [4-11]. Ainda, reconhece-se a quitosana como redutora da azotemia durante a DRC espontânea em seres humanos e gatos [8-10]. No entanto, não foi previamente verificado se se isto também é verdade em cães. O objetivo deste estudo foi determinar a eficácia de um suplemento alimentar comercial rico em quitosana, quelantes de fosfato entéricos,

e agentes alcalinizantes (Renal – Istituto Farmaceutico Candioli SpA, Itália), em reduzir a taxa de mortalidade devido a crises urêmicas em cães afetados pela DRC espontânea, nos estágios 2, 3 e 4 segundo a International Renal Interest Society (IRIS), alimentados com uma RD.

2. Materiais e métodos

2.1. Animais. Cães afetados pela DRC, em estágios 2, 3, e 4 segundo a IRIS, foram recrutados na Clínica Veterinária Pirani da Reggio Emilia, na Itália. Resultados do histórico, exame físico, incluindo o peso corporal (PC) e escore de condição corporal (ECC) (sistema de pontuação variando de 1 a 5 (sendo 3 o ideal)), Contagem Completa de Sangue (CBC), perfil da bioquímica sérica, urinálise, relação proteína-creatinina urinária (RPC), gasometria venosa, e mensurações de pressão sanguínea indireta foram coletados. Todos os cães foram submetidos a ultrassonografia abdominal, que foi realizada pelo mesmo operador e com o mesmo instrumento (Philips HD11XE ou Philips HD7XE, Philips Ultrasound, Bothell, Washington, EUA). Cães de qualquer idade foram incluídos se apresentassem sedimento urinário inativo e função renal estável, definida pela concentração de creatinina sérica acima de 1,4 mg/dL (estágio da IRIS ≥ 2) que não tenha aumentado ou diminuído em 20% ou mais dentro de 4 semanas da análise inicial [4]. No primeiro período de quatro semanas, todos os cães foram iniciados em uma RD (Royal Canin Renal Canine, Royal Canin SA, Aimargues, França; Rações de Prescrição Hill's Diet Canine k/d, da Hill's Pet Nutrition Inc., Topeka, Kansas, EUA).

Os cães foram excluídos se afetados clinicamente ou suspeitos de estarem afetados por uma inflamação ou infecção do trato geniturinário, doença cardíaca, neoplasias, e endocrinopatias. Como padrão, cães com pressão arterial (PA) substágio 3 do sistema de estadiamento IRIS [12] foram tratados com amlodipina oral na dose de 0,1 a 0,5 mg/kg, a cada 24 horas, a fim de reduzir a PA para os substágios 1 ou 0 [6, 7, 13, 14]. Cães com concentração de albumina sérica $\leq 2,0$ g/dL receberam ácido acetilsalicílico por via oral na dose de 2,0 mg/kg a cada 24 horas, para prevenir trombose [6] (Shearer L, Kruth SA, Wood D. Effects of aspirin and clopidogrel on platelet function in healthy dogs. *J Vet Intern Med* 2009; 23 (3): 745 (abstract)).

2.2. Design do Estudo. Um estudo clínico randomizado, cego, controlado através de placebo foi executado usando um software para alocar os casos (MedCalc, Versão 11.3.0.0). Um consentimento para participar do estudo foi assinado pelos proprietários dos cães.

Nas primeiras 4 semanas após a inclusão todos os cães foram iniciados em uma RD (Royal Canin Renal Canine, Royal Canin SA, Aimargues, França; Rações de Prescrição Hill's Diet Canine k/d, da Hill's Pet Nutrition Inc., Topeka, Kansas, EUA). Ao final deste primeiro período, todos os cães foram clinicamente reavaliados, sendo realizadas todas as análises laboratoriais e instrumentais supramencionadas e direcionados ao grupo A (RD mais placebo), ou grupo de

Placebo

Maltodextrina

Renal

Maltodextrina

Carbonato de cálcio (Ca 38%)

Citrato de potássio (K 36%)

Quitosana

tratamento B (RD mais Renal). A composição do suplemento alimentar está descrita na Tabela 1.

Para mascarar a identidade dos dois suplementos, eles foram formulados como pós com cores idênticas e colocados na mesma embalagem. Depois de direcionados aos grupos A e B, os cães foram reavaliados entre as semanas 4 e 8. A partir daí, os exames foram agendados a cada 4 meses e até 44 semanas de tratamento, ou antes, se houve agravamento dos sinais clínicos notado pelo proprietário.

2.3. Amostragem de sangue e análises. Durante cada exame, uma amostra de sangue foi coletada dos cães, que passaram por jejum durante a noite, e o soro foi obtido dentro de 30 minutos, armazenado a 4°C e analisado dentro de 24 horas. Gasometria de sangue venoso (Rapid-point 400, Bayer Health Care, Tarrytown (NY), EUA) foi imediatamente realizada em todos os casos.

CBC e análise bioquímica do soro sanguíneo, incluindo albumina, proteína total, glicose, bilirrubina, colesterol, amilase, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina, nitrogênio uréico sanguíneo (BUN), creatinina, cálcio ionizado, sódio, potássio, cloreto, e fosfato, foram determinados através da utilização de métodos padrão (Cobas Mira, Roche Diagnostics, Basel, Suíça). As amostras de sangue foram rotuladas com códigos alfa-numéricos atribuídos por randomização para garantir que o pessoal do laboratório ficasse cego durante o processamento. Todos os parâmetros bioquímicos acima mencionados foram usados para a avaliação de inclusão e exclusão.

2.4. Amostra de urina e urinálise. Durante a ultrassonografia abdominal, uma cistocentese eco-guiada foi realizada em todos os cães, através da utilização de uma seringa de 5 mL ligada a uma agulha de calibre 23. Todas as amostras de urina foram colocadas em tubos de coleta a vácuo de 10 mL estéreis, rotulados com códigos alfanuméricos baseados na prévia randomização. Todas as amostras de urina foram analisadas pelo mesmo operador. As urinas foram examinadas dentro de 60 minutos da coleta se as amostras foram armazenadas a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C), ou dentro de 4 horas se as amostras foram armazenadas de 4 a 8°C. O sedimento urinário foi obtido por centrifugação (10 minutos a 900 x g) de 5 mL de urina, seguido por remoção de 4,5 mL do

TABELA 1: Composição do placebo e do produto "Renal".

TABELA 2: Média, mediana, e 25% e 75% para PC e ECC, hematócrito, creatinina sérica, BUN, fosfato, pH sanguíneo, bicarbonato, e RPC, para o Grupo A e B no momento da randomização. Diferenças entre os grupos são representados pelo valor P (estatisticamente significativos P < 0,05).

	Grupo A	Grupo B	Valor P (A Versus B)
PC (kg)			
média	18,2	21	
mediana	14,4	17,8	0,17
25%; 75%	(8,5; 29,0)	(9,7; 29,9)	
ECC (1-5)			
média	2,8	2,7	
mediana	3,0	3,0	1,00
25%; 75%	(3,0; 3,0)	(2,0; 3,0)	
Creatinina sérica (mg/dL)			
média	5,7	4,9	
mediana	3,1	4,1	0,66
25%; 75%	(1,9; 10,5)	(2,1; 7,23)	
BUN (mg/dL)			
média	97,1	86,2	
mediana	69,0	75,1	0,76
25%; 75%	(32,2; 204,0)	(42,9; 150,1)	
Fósforo (mg/dL)			
média	8,9	7,1	
mediana	7,2	7,2	0,90
25%; 75%	(5,4; 11,0)	(5,0; 9,5)	
pH sanguíneo			
média	7,30	7,29	
mediana	7,30	7,34	0,55
25%; 75%	(7,25; 7,40)	(7,20; 7,39)	
HCO₃⁻ (mEq/L)			
média	18,9	18,4	
mediana	19,1	18,2	0,14
25%; 75%	(16,0; 23,4)	(14,6; 22,7)	
Hct (%)			
média	30,7	32,1	
mediana	34,0	33,0	0,37
25%; 75%	(24,6; 39,0)	(24,5; 41,0)	
RPC			
média	2,90	0,62	
mediana	0,68	0,39	0,41
25%; 75%	(0,24; 1,60)	(0,29; 0,80)	

sobrenadante, e pela ressuspensão das 0,5 mL de urina restantes. Uma amostra de 12 µL de urina ressuspensa foi avaliada microscopicamente. O sobrenadante foi transferido para tubos separados e armazenados a -20°C para determinar a concentração da proteína e creatinina urinárias dentro de 7 dias. Hemácias e leucócitos foram expressos como o número médio de células/ 10 hpf (magnificação de

40x). O sedimento urinário com bacteriúria, e/ ou > 5 hemácias ou glóbulos brancos/ hpf, foi considerado como indicativo de inflamação ativa.

2.5. *Relação Proteína-Creatinina na Urina.* Para calcular a RPC, a concentração da proteína (mg/dL) foi mensurada com

TABELA 3: Média, mediana, and 25% e 75% para PC e ECC, hematócrito, creatinina sérica, BUN, fosfato, pH sanguíneo, bicarbonato, e RPC, para o Grupo B no momento da randomização (T0) e após 4-8 semanas de tratamento (T1). Diferenças entre os valores em diferentes análises são representadas pelo valor P (estatisticamente significantes $P < 0,05$).

	T0	T1	Valor P (T0 Versus T1)
PC (kg)			
média	21,0	23,9	
mediana	17,8	23,0	0,06
25%; 75%	(9,7; 29,9)	(9,5; 33,9)	
ECC (1-5)			
média	2,7	2,8	
mediana	3,0	3,0	1,00
25%; 75%	(2,0; 3,0)	(2,5; 3,0)	
Creatinina sérica (mg/ dL)			
média	4,9	4,4	
mediana	4,1	3,4	0,50
25%; 75%	(2,1; 7,23)	(1,7; 6,0)	
BUN (mg/dL)			
média	86,2	87,6	
mediana	75,1	63,3	0,55
25%; 75%	(42,9; 150,1)	(55,0; 77,0)	
Fósforo (mg/ dL)			
média	7,1	6,9	
mediana	7,2	5,4	0,87
25%; 75%	(5,0; 9,5)	(4,2; 10,7)	
pH sanguíneo			
média	7,29	7,3	
mediana	7,34	7,3	0,69
25%; 75%	(7,20; 7,39)	(7,25; 7,40)	
HCO₃⁻ (mEq/L)			
média	18,4	19,8	
mediana	18,2	20,5	0,20
25%; 75%	(14,6; 22,7)	(16,1; 22,6)	
Hct (%)			
média	32,1	34,2	
mediana	33,0	34,0	0,49
25%; 75%	(24,5; 41,0)	(29,6; 40,7)	
RPC			
média	0,62	0,58	
mediana	0,39	0,3	0,39
25%; 75%	(0,29; 0,80)	(0,25; 0,79)	

pirogalol vermelho, e a creatinina (mg/dL) foi mensurada pela utilização do método Jaffé na urina não diluída, descongelada antes da análise. Análises foram mensuradas em um espectrofotômetro automatizado (Cobas Mira, Roche Diagnostics, Basel, Suíça). Cães foram classificados como não-proteinúricos, proteinúria limítrofe, ou proteinúricos, de

acordo com o sistema IRIS de estadiamento (RPC < 0,2 = não-proteinúricos, RPC entre 0,2 a 0,5 = proteinúria limítrofe, e RPC >= 0,5 proteinúricos) [4, 12].

2.6. Mensuração da Pressão Arterial. As mensurações da pressão arterial sistólica foram obtidas pelo uso de um dispositivo Doppler ultrassônico (DOP 2001, SAMED

TABELA 4: Média, mediana, e 25% e 75% para PC e ECC, hematócrito, creatinina sérica, BUN, fosfato, pH sanguíneo, bicarbonato, e RPC, para o Grupo A no momento da randomização (T0) e após 4-8 semanas de tratamento (T1). Diferenças entre os valores em diferentes análises são representadas pelo valor P (estatisticamente significantes $P < 0,05$).

	T0	T1	Valor P (T0 Versus T1)
PC (kg)			
média	18,2	24,4	
mediana	14,4	27,9	0,66
25%; 75%	(8,5; 29,0)	(18,1; 31,9)	
ECC (1-5)			
média	2,8	3,2	
mediana	3,0	3,0	1,00
25%; 75%	(3,0; 3,0)	(3,0; 4,0)	
Creatinina sérica (mg/ dL)			
média	5,7	4,2	
mediana	3,1	2,0	0,77
25%; 75%	(1,9; 10,5)	(1,5; 5,8)	
BUN (mg/dL)			
média	97,1	77,0	
mediana	69,0	32,8	0,54
25%; 75%	(32,2; 204,0)	18,9; 121,6)	
Fósforo (mg/ dL)			
média	8,9	6,6	
mediana	7,2	5,5	0,97
25%; 75%	(5,4; 11,0)	(4,7; 7,8)	
pH sanguíneo			
média	7,30	7,32	
mediana	7,30	7,30	0,65
25%; 75%	(7,25; 7,40)	(7,30; 7,35)	
HCO₃⁻ (mEq/L)			
média	18,9	20,2	
mediana	19,1	19,5	0,43
25%; 75%	(16,0; 23,4)	(16,3; 24,4)	
Hct (%)			
média	30,7	38,7	
mediana	34,0	40,0	0,40
25%; 75%	(24,6; 39,0)	(28,8; 45,3)	
RPC			
média	2,90	1,39	
mediana	0,68	0,55	0,54
25%; 75%	(0,24; 1,60)	(0,26; 0,70)	

Elettromedicale srl, Merlino (LO), Itália) em todos os cães [13, 14].

2.7. Diagnóstico de Crise Urêmica. Diagnóstico de crise urêmica foi estabelecido por médicos veterinários clínicos envolvidos no manejo do paciente, que desconheciam que o

suplemento estava sendo administrado. Tal como previamente sugerido por Jacob et al. [1], as crises urêmicas foram definidas quando os 3 achados seguintes foram observados: (i) identificação de pelo menos dois sinais clínicos compatíveis com uremia incluindo depressão, letargia, anorexia, vômitos, odor urêmico da respiração; (ii) concentração da creatinina sérica pelo menos 20% maior do

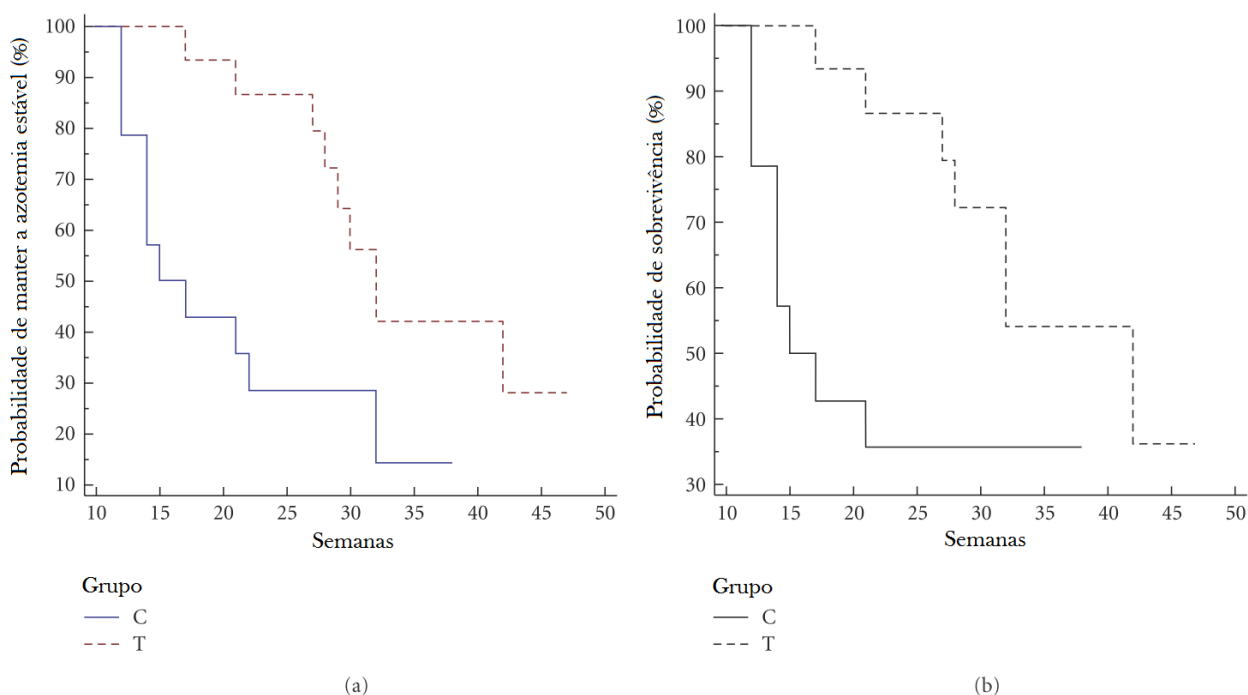


FIGURA 1: (a) O método Kaplan-Meier foi usado para avaliar a probabilidade do nível de creatinina no soro se manter estável no grupo de tratamento B e no grupo placebo A. Legenda: C: grupo controle placebo A; T: grupo tratamento B. (b) Curvas de sobrevivência (morte por causas renais) em cães com DRC nos estágios 2, 3 e 4 da IRIS em no grupo de tratamento B e no grupo controle placebo A. Legenda: C: grupo controle placebo A; T: grupo tratamento B.

que o valor previamente determinado; (iii) nenhuma alternativa plausível para estes sinais clínicos.

2.8. Estabelecimento da Causa da Morte. As causas de morte foram categorizadas como não renal, provavelmente renal, ou renal, com base nos resultados de anamnese, exame físico, exames de sangue e urina, e critérios utilizados para definir a crise urêmica. Para evitar viés, somente cães classificados na terceira categoria foram considerados como tendo morrido de um evento renal (crise urêmica). Necropsias não foram realizadas em qualquer caso.

2.9. Análise Estatística. As características dos cães entre os grupos foram comparadas no momento da atribuição ao grupo, e intragrupo durante o reexame nas semanas 4 a 8 do tratamento, usando o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Foram avaliados estatisticamente os seguintes parâmetros: ECC e PC, hematócrito, creatinina sérica, BUN, fosfato, pH sanguíneo, bicarbonato, e RPC.

O método Kaplan-Meier foi utilizado para avaliar a probabilidade de sobrevivência em ambos os grupos e foi utilizado o teste de Logrank para comparar as taxas de morte devido à crise urêmica entre os grupos. Além disso, o método de Kaplan-Meier foi utilizado para avaliar a probabilidade da creatinina sérica se manter estável (concentração de creatinina sérica não aumentada acima de 20% em comparação com o teste no momento da randomização) em ambos os grupos, e o teste de Logrank foi usado para comparar a variação das taxas de creatinina entre grupos. A análise estatística foi realizada com um

software comercial, usando o princípio da "intenção de tratar". Significância foi definida como $P < 0,05$.

3. Resultados

3.1. Cães e Grupos. Trinta e um cães foram incluídos no estudo. A idade média de todos os cães foi de 6 anos (variando de 10 meses a 13 anos). A idade média dos cães do grupo A foi de 5 anos. A idade média dos cães do grupo B foi de 7 anos. Quatro cães eram fêmeas inteiras, 16 eram fêmeas castradas, 11 eram machos. Sete cães eram sem raça definida, 2 dálmatas, 2 Pastor Alemão, 2 Boxer, 1 Beagle, 1 Boxer, 1 Cavalier King Charles Spaniel, 1 American Pittbull, 1 Dobermann, 1 Golden Retriever, 1 Labrador Retriever, 1 Rottweiler, 1 Border Collie, 1 Bullmastiff, 1 Bulldogue Inglês, 1 Cocker Inglês, 1 Setter Inglês, 1 Greyhound, 1 Irish Wolfhound, 1 York-Shire Terrier, e 1 Poodle miniatura.

Quinze cães foram alocados no grupo A, e 16 no grupo B. No momento da alocação, não houve diferença estatística entre os grupos em relação à PC e ECC, hematócrito, creatinina sérica, BUN, fosfato, pH sanguíneo, bicarbonato, e RPC (Tabela 2).

Quatro cães de ambos os grupos apresentavam elevação da pressão arterial (PA) no substágio 3 do sistema IRIS de estadiamento [12] e foram tratados com amlodipina oral (Norvasc, Pfizer Manufacturing Deutschland GmbH, Illertissen, Alemanha). Cinco cães do Grupo A e 6 cães do Grupo B apresentavam baixo nível de albumina sérica (concentração de albumina sérica $\leq 2,0$ g / dL) e receberam ácido acetilsalicílico por via oral na dose de 2,0 mg/kg a cada 24 horas.

3.2. *Acompanhamento: PC e ECC, Hematócrito, Creatinina Sérica, BUN, Fosfato, pH Sangüíneo, Bicarbonato, Potássio, Cálcio, e RPC.* Quando os valores registrados de 4-8 semanas após a administração do suplemento foram comparados com aqueles coletados no momento da randomização, em ambos os grupos, houve uma melhoria para as concentrações séricas médias de creatinina, BUN, fosfato, bicarbonato, e resultados da análise dos gases de sangue venoso, mas foi estatisticamente insignificante (Tabelas 3 e 4). Potássio e cálcio mantiveram-se estáveis em ambos os grupos A e B, e nenhum episódio de hipercalemia ou de hipercalemia foi identificado durante o período do estudo. Houve um aumento significativo no PC no grupo B no período de 4-8 semanas após o início do estudo (Tabela 3).

3.3. *Associações entre o Suplemento Alimentar e a Creatinina sérica ou com a Morte devido a Crises Urêmicas.* Houve uma diferença estatisticamente significativa ($P = 0,0063$; Qui-quadrado = 7,44; 95% IC 0,1231 a 0,8615) entre os grupos A e B em relação à probabilidade de manter estável o nível de creatinina sérica, com um período médio de 16 semanas para o grupo A e 32 semanas para o grupo B (Figura 1 (a)). Ao final do estudo, 9 dos 15 cães do grupo A estavam mortos (8 devido a crise urêmica), contra 6 de 16 no grupo B (5 devido a crise urêmica). A sobrevida média dos cães do grupo B foi de 42 semanas e foi significativamente maior em relação ao grupo controle, com uma sobrevida média de 16 semanas ($P = 0,0015$; Qui-quadrado = 5,88; 95% IC 0,1093 a 0,9476) (Figura 1 (b)). Causas não renais de morte incluíram um caso de pneumonia por aspiração no grupo B, e no grupo A um animal morreu devido a um hemangiosarcoma metastático. O percentual de óbitos por causas não renais não diferiu entre os grupos.

4. Discussão

Em um estudo publicado anteriormente, a concentração inicial de creatinina sérica não influenciou a sobrevida em cães com DRC espontânea se uma RD foi administrada [1]. De fato, a sobrevivência média dos 21 cães alimentados com uma RD e com uma concentração média de 3,3 mg de creatinina sérica/dL foi de 615 dias, e a sobrevivência média para os cães com creatinina sérica entre 2,0 e 3,1 mg/dL também foi de 615 dias [1]. Diferentemente, entre os 17 cães alimentados com uma dieta de manutenção, a sobrevida média para os que apresentavam uma média de creatinina sérica de 3,7 mg/dL foi de apenas 252 dias, enquanto que na subpopulação com creatinina sérica entre 2,0 e 3,1 mg/dL a sobrevida média foi de 461 dias [1].

No presente estudo, todos os cães foram alimentados com uma RD, e a média da concentração da creatinina sérica no momento da randomização foi de 5,7 mg/dL no grupo A e 4,9 mg/dL no grupo B. Após 336 dias de tratamento, 10 dos 16 cães do grupo B estavam vivos, contra 6 dos 15 cães no grupo A, com um tempo médio de sobrevivência de 42 e 16 semanas, respectivamente ($P = 0,0015$), sugerindo que a quitosana em conjunto com os agentes alcalinizantes são úteis na manutenção de longo prazo das boas condições clínicas em cães, semelhante a estudos anteriores realizados

em humanos e gatos [8-10]. Além disso, o efeito benéfico do suplemento alimentar foi evidente sobre a função renal, com base na concentração de creatinina, que se manteve estável pelo dobro do tempo longo no grupo B em relação ao grupo A ($P = 0,0063$). Vale ressaltar que a melhoria das análises de sangue observadas no grupo A tratado com placebo após 4-8 semanas de tratamento foi influenciada pela morte de 3 cães que morreram devido a insuficiência renal grave e, portanto, não foram incluídos na análise. Em contraste, nenhum dos cães do grupo B morreu nas semanas 4-8, e portanto nenhum foi excluído das análises.

Nos seres humanos, duas explicações possíveis têm sido propostas para a redução das concentrações séricas de metabolitos de nitrogênio, incluindo a sua depuração aumentada devido à hipertrofia compensatória dos néfrons remanescentes, e a sua excreção aumentada ligada à quitosana no trato digestivo [8, 15]. Além disso, tem sido relatado que a quitosana pode se combinar com substâncias ácidas suspeitas de serem toxinas urêmicas, resultando na sua maior excreção do corpo, o que leva a melhora das condições clínicas [8, 16]; ainda não havia se estudado se esses mesmo efeitos acontecem em cães, mas os resultados presentes podem sugerir que um ou mais destes mecanismos funcionam também nesta espécie. Além disso, porque o suplemento contém diferentes substâncias, não pode ser excluída a possibilidade de que os quelantes de fosfato e os agentes alcalinizantes, ou sua combinação, são ativos contra as toxinas urêmicas, ao invés da quitosana. Em resumo, o presente estudo mostra os efeitos benéficos de um suplemento alimentar comercial incluindo quitosana, quelantes de fosfato entéricos, e agentes alcalinizantes em cães afetados por DRC espontânea em estágios 2, 3 e 4 da IRIS, alimentados com uma RD. O fato de que a concentração da creatinina sérica foi significativamente mais estável e por um período mais longo em cães que receberam o suplemento (Grupo B) é consistente com a hipótese de que o atraso no aparecimento das crises urêmicas e a taxa de mortalidade associada estavam relacionados, pelo menos em parte, com uma redução da progressão da insuficiência renal.

Abreviações

DRC: Doença renal crônica
RD: Dieta renal
IRIS: International Renal Interest Society
PC: Peso corporal
ECC: Escore de condição corporal
BUN: Nitrogênio ureico sanguíneo
RPC: Relação proteína-creatinina na urina
PA: Pressão arterial
RR: Risco relativo
IC 95%: 95% intervalo de confiança.

Agradecimento

Este estudo foi apoiado por uma bolsa do *Istituto Farmaceutico Candioli*, Itália.

Referências

- [1] F. Jacob, D. J. Polzin, C. A. Osborne et al., "Clinical evaluation of dietary modification for treatment of spontaneous chronic renal failure in dogs," *Journal of the American Veterinary Medical Association*, vol. 220, no. 8, pp. 1163–1170, 2002.
- [2] D. J. Polzin, C. A. Osborne, F. Jacob et al., "Chronic renal failure," in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, S. J. Ettinger and C. R. Feldman, Eds., pp. 1634–1662, WB Saunders, Philadelphia, Pa, USA, 5th edition, 2000.
- [3] S. A. Brown, "Chronic renal failure: recent developments in medical managements," in *Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*, J. Bainbridge and J. Elliott, Eds., pp. 195–208, British Small Animal Veterinary Association, Cheltenham, UK, 1996.
- [4] J. Elliott and A. D. J. Watson, "Chronic kidney disease: staging and management," in *Kirk's Current Veterinary Therapy*, J. D. Bonagura and D. C. Twedt, Eds., pp. 883–892, Elsevier Saunders, St. Louis, Mo, USA, 14th edition, 2009.
- [5] D. J. Polzin, "Chronic kidney disease," in *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, S. J. Ettinger and E. C. Feldman, Eds., pp. 1990–2021, Elsevier Saunders, St. Louis, Mo, USA, 7th edition, 2010.
- [6] D. J. Polzin, C. A. Osborne, and S. Ross, "Evidence-based management of DRC," in *Kirk's Current Veterinary Therapy*, J. D. Bonagura and D. C. Twedt, Eds., pp. 872–879, Elsevier Saunders, St. Louis, Mo, USA, 14th edition, 2009.
- [7] http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_2009_Treatment_Recommendations_Summary.pdf.
- [8] S.-B. Jing, L. Li, D. Ji, Y. Takiguchi, and T. Yamaguchi, "Effect of chitosan on renal function in patients with chronic renal failure," *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 49, no. 7, pp. 721–723, 1997.
- [9] V. Savica, L. A. Cal'ò, P. Monardo et al., "Salivary phosphate-binding chewing gum reduces hyperphosphatemia in dialysis patients," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 20, no. 3, pp. 639–644, 2009.
- [10] E. Wagner, I. Schwendenwein, and J. Zentek, "Effects of a dietary chitosan and calcium supplement on Ca and P metabolism in cats," *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochen-schrift*, vol. 117, no. 7-8, pp. 310–315, 2004.
- [11] S. A. Brown, M. Rickertsen, and S. Sheldon, "Effects of an intestinal phosphate binder on serum phosphate and parathyroid hormone concentration in cats with reduced renal function," *Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, vol. 6, no. 3, pp. 155–160, 2008.
- [12] http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS2009_Staging_DRC.pdf.
- [13] S. Brown, C. Atkins, R. Bagley et al., "Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats," *Journal of Veterinary Internal Medicine*, vol. 21, no. 3, pp. 542–558, 2007.
- [14] S. A. Brown, R. A. Henik, and D. R. Finco, "Diagnosis of systemic hypertension in dogs and cats," in *Kirk's Current Veterinary Therapy*, J. D. Bonagura, Ed., pp. 835–838, WB Saunders, Philadelphia, Pa, USA, 13th edition, 2000.
- [15] Y. Maezaki, K. Tsuji, Y. Nakagawa et al., "Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult males," *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 57, pp. 1439–1446, 1983.
- [16] H. Yoshimoto, S. Jing, and T. Yamaguchi, "Application of chitosan for oral sorbents," *Chitin Chitosan Research*, vol. 1, pp. 6–14, 1995.