



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

LUIS FERNANDO DOS SANTOS CAPIM

**EFEITO DA FARINHA DE VÍSCERAS HIDROLISADA EM ALIMENTOS
EXTRUSADOS PARA CÃES NA DIGESTIBILIDADE E FUNÇÃO RENAL**

AREIA

2022

LUÍS FERNANDO DOS SANTOS CAPIM

EFEITO DA FARINHA DE VÍSCERAS HIDROLISADA EM ALIMENTOS EXTRUSADOS PARA CÃES NA DIGESTIBILIDADE E FUNÇÃO RENAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba.

Orientador: Profa. Dra. Bruna Agy Loureiro

AREIA

2022

**Catalogação na publicação
Seção de Catalogação e Classificação**

C243e Capim, Luis Fernando dos Santos.

Efeito da farinha de vísceras hidrolisada em
alimentos extrusados para cães na digestibilidade e
função renal / Luis Fernando dos Santos Capim. -

Areia:UFPB/CCA, 2022.

32 f.

Orientação: Bruna Agy Loureiro.

TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Medicina Veterinária. 2. Aldosterona. 3.
Peptídeos bioativos. 4. Nutrição de cães. 5.
Dimetilarginina simétrica. I. Loureiro, Bruna Agy. II.
Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636.09(02)

LUÍS FERNANDO DOS SANTOS CAPIM

EFEITO DA FARINHA DE VÍSCERAS HIDROLISADA EM ALIMENTOS
EXTRUSADOS PARA CÃES NA DIGESTIBILIDADE E FUNÇÃO RENAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Medicina Veterinária pela
Universidade Federal da Paraíba.

Aprovado em: 22/08/2022.

BANCA EXAMINADORA

Bruna Agy Loureiro

Profa. Dra. Bruna Agy Loureiro (Orientador)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Wilmer Zamora

Prof. Dr. Wilmer Alejandro Zamora Restan
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Analia Texeira Amorim

Bela. Luna Analia Texeira Amorim dos Santos
Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Aos meus pais, Fátima e Lourival, por terem sonhado
este sonho comigo e por terem me ajudado a realizá-lo
e às minhas avós, Antonia e Hilda (in memorian), que
foram grandes exemplos para mim. DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por ter me concedido a graça de poder realizar este sonho de criança e por ter dado forças e discernimento para chegar até o fim.

À Nossa Senhora, nos seus mais diversos títulos, por sua intercessão e materna proteção.

Aos meus pais, Lourival e Maria de Fátima, pelo apoio em meio às tantas dificuldades enfrentadas, pela compreensão da minha ausência, sobretudo, em datas importantes, pelo cuidado com os meus animais na minha ausência e por tudo.

Às minhas avós, Hilda e Antônia (*in memoriam*), que sonharam e acompanharam o início da realização desse sonho e não puderam estar comigo nesta reta final. Embora fisicamente ausente, sinto a presença de vocês ao meu lado, dando-me coragem.

Aos meus irmãos, Marcos Gabriel e Vitória Cristina, pelo apoio e companheirismo ao longo dos anos.

À minha namorada, Ana Cecília, por todo amor e carinho a mim direcionados em todo o tempo e pela compreensão nos momentos de ausência.

Aos padres e amigos, Luciano Gustavo, Robson Bezerra e Lucivaldo Eugênio, por toda palavra amiga e direcionamento espiritual.

Aos meus colegas de experimento, Rayssa, Elias e Luna, por toda colaboração desde o início até o fim, com este trabalho de conclusão de curso.

Aos meus amigos, Marcos Vinicius, Meire, Eduardo, Michael, Gui, Nilda, Giannina, Aline, Marlon, Glauber e Cecília pela amizade mesmo na distância. Aos amigos que fiz em Areia, Jeisiany, Neriane, Wellington, José Lucas, Hugo Madruga, Wendell, Filipe, Osnar, Hugo Gabriel, Larissa Nelo, Laura, Iara Geovana, José Neto e Daniel que foram a minha família ao longo desses anos.

À minha orientadora, Prof^a Dra. Bruna Agy Loureiro, que pude acompanhar desde o primeiro semestre de minha graduação, pela transmissão de conhecimento e pela amizade.

Aos funcionários terceirizados da UFPB, Dona Gilma e Paulinha, pela solicitude, educação e alegria a cada encontro.

Ao técnico administrativo, Diogo, pela amizade e orientação durante os estágios no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva, do Hospital Universitário Veterinário do Campus II, Areia - PB

Aos meus cachorros, Apollo e Argus, que muitas vezes foram minha “válvula de escape”.

RESUMO

A farinha de vísceras de aves hidrolisada (F VH) é um ingrediente potencialmente funcional que tem sido utilizado em *pet food*. Trabalhos recentes têm demonstrado que além de ser uma fonte de proteína utilizada em alimentos hipoalergênicos, a F VH possui peptídeos bioativos que são capazes de modular mecanismos fisiológicos de forma benéfica, como regular a pressão arterial através da inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA). Deste modo, o presente estudo teve por objetivo: avaliar o efeito do consumo de duas dietas, uma com farinha de vísceras convencional e outra com inclusão de 10% de F VH, na função renal de cães saudáveis; avaliar a capacidade anti-hipertensiva das dietas. O experimento foi conduzido em dois canis particulares em João Pessoa e Campina Grande, ambas cidades da Paraíba. Foram selecionados 16 cães adultos machos, de diferentes raças e portes, com idade entre 1 a 6 anos e escore de condição corporal 4 ou 5 de 9 (Laflamme, 1997). A avaliação renal foi feita a partir de colheitas amostras de sangue nos dias 0, 60 e 120 por punção venosa padrão usando sistemas de coleta a vácuo de sangue; amostras simultâneas de urina foram obtidas por meio de cistocentese. Foram realizadas as seguintes análises: creatinina, Na e K. A análise de urina incluiu gravidade específica da urina, exame de fita reagente, avaliação microscópica do sedimento urinário, creatinina urinária, relação proteína/creatinina urinária (UP/C) e os eletrólitos urinários Na e K. A dimetilarginina simétrica (SDMA) foi mensurada para determinação de alteração da função renal. A pressão arterial sistólica foi medida no membro anterior em todos os cães. O comprimento do conjunto do manguito foi de aproximadamente 40% do perímetro do membro. Todas as variáveis foram verificadas quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk. Para a determinação do efeito da dieta ao longo prazo, os dados foram analisados usando ANOVA modelo misto com dois fatores com medidas repetidas do fator [tempo]. As comparações post-hoc dos dados foram realizadas usando um teste de comparação múltipla Tukey-Kramer. Os dados da digestibilidade foram submetidos à análise de variância e teste de F. As análises estatísticas foram realizadas no software SigmaPlot v.12.0 com nível de significância de 5%. Assim, foi possível concluir que não houve diferença significativa na digestibilidade quando comparados os dois tratamentos. A ingestão dos nutrientes apresentou uma pequena diferença entre as dietas. A aldosterona e ECA apresentaram redução em ambos os tratamentos. Não foi verificado efeito expressivo da ingestão dos alimentos sobre a função renal dos animais estudados, deste modo, é possível afirmar que inclusão de 10% de farinha de vísceras hidrolisadas em alimentos extrusados para cães de diferentes raças e portes é segura.

Palavras-Chave: aldosterona; peptídeos bioativos; nutrição de cães e gatos; dimetilarginina simétrica.

ABSTRACT

Hydrolyzed poultry viscera meal (FVH) is a potentially functional ingredient that has been used in pet food. Recent works have shown that in addition to being a source of protein used in hypoallergenic foods, FVH has bioactive peptides that are able to beneficially modulate physiological mechanisms, such as regulating blood pressure through the inhibition of the angiotensin-converting enzyme (ACE). Thus, the present study aimed to: evaluate the effect of the consumption of two diets, one with conventional viscera meal and the other with the inclusion of 10% of FVH, on the renal function of healthy dogs; to evaluate the antihypertensive capacity of the diets. The experiment was carried out at two private kennels in João Pessoa and Campina Grande, both cities in Paraíba. Sixteen adult male dogs of different breeds and sizes, aged 1 to 6 years and body condition score 4 or 5 out of 9, were selected (Laflamme, 1997). Renal assessment was performed from blood samples taken on days 0, 60, and 120 by standard venipuncture using vacuum blood collection systems; Simultaneous urine samples were obtained by cystocentesis. The following analyzes were performed: creatinine, Na and K. Urinalysis included urine specific gravity, reagent strip examination, microscopic evaluation of urinary sediment, urinary creatinine, urinary protein/creatinine ratio (UP/C) and urinary electrolytes Na and K. Symmetrical dimethylarginine (SDMA) was measured to determine changes in renal function. Systolic blood pressure was measured in the forelimb in all dogs. The length of the cuff assembly was approximately 40% of the limb perimeter. All variables were verified for normal distribution by the Shapiro-Wilk test. To determine the long-term effect of diet, data were analyzed using two-way mixed model ANOVA with repeated measures of the [time] factor. Post-hoc comparisons of data were performed using a Tukey-Kramer multiple comparison test. Digestibility data were submitted to analysis of variance and F test. Statistical analyzes were performed using SigmaPlot v.12.0 software with a significance level of 5%. Thus, it was possible to conclude that there was no significant difference in digestibility when comparing the two treatments. The intake of nutrients showed a small difference between the diets. Aldosterone and ACE showed a reduction in both treatments. There was no significant effect of food intake on the renal function of the animals studied, thus, it is possible to affirm that the inclusion of 10% of hydrolyzed viscera meal in extruded food for dogs of different breeds and sizes is safe.

Keywords: aldosterone; bioactive peptides; nutrition of dogs and cats; symmetrical dimethylarginine.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso corporal inicial dos cães, em kg, dos tratamentos FVC e FVH	18
Tabela 2. Composição química e de nutrientes estimada em porcentagem das dietas experimentais com farinha de vísceras de aves convencional (FVC) e hidrolisada (FVH)	19
Tabela 3. Composição química analisada dos alimentos utilizados no estudo (dados expressos em matéria seca)	23
Tabela 4. Ingestão de nutrientes dos cães alimentados com os alimentos FVC e FVH	24
Tabela 5. Coeficientes de digestibilidade aparente dos alimentos FVC e FVH	25
Tabela 6. Parâmetros renais avaliados durante o estudo	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAFCO - Association of American Feed Control Officials

AINEs - Antiinflamatórios Não Esteroidais

AngI - Angiotensina I

AngII - Angiotensina II

CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais

Cl - Cloro

CMS - Carne Mecanicamente Separada

ECA - Enzima Conversora de Angiotensina I

EF - Excreção Fracionada

Ex - Exemplo

FVC - Farinha de Visceras de Aves

FVH - Farinha de Visceras Hidrolisada.

K - Potássio

PAS - Pressão Arterial Sistólica

PGE2 - Prostaglandina-E2

PGI2 - Prostaciclina

pH - Potencial Hidrogeniônico

PPE - Período de Pré-Ejeção

mmHg - milímetros de mercúrio

NEM - Necessidade Energética de Manutenção

Na - Sódio

SRAA - Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

SDMA - Dimetilarginina simétrica

UAldo:C - Relação Aldosterona: creatinina urinária

UP/C - Relação Proteína/Creatinina Urinária

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 PROTEÍNAS HIDROLISADAS E PEPTÍDEOS BIOATIVOS	11
2.2 ATIVIDADE ANTI-HIPERTENSIVA DOS HIDROLISADOS PROTEICOS DE ORIGEM ANIMAL	12
2.3 SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA (SRAA)	14
2.4 SRAA E FUNÇÃO RENAL	15
2.5 ESCAPE DE ALDOSTERONA	16
3 METODOLOGIA.....	17
3.1 LOCAL.....	17
3.2 ANIMAIS, DIETAS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	17
3.3 COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE DAS DIETAS	19
3.4 ATIVIDADE SÉRICA DA ECA, CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ALDOSTERONA E RELAÇÃO ALDOSTERONA: CREATININA URINÁRIA (UALDO:C).....	21
3.5 AVALIAÇÃO DE FUNÇÃO RENAL	21
3.6 MENSURAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL	22
3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5 CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

1 INTRODUÇÃO

Dentre as principais fontes de proteína usadas pela indústria *pet food* temos a farinha de vísceras de aves convencional (FVC), uma vez que detém equilíbrio de aminoácidos apropriado, possui custo relativamente barato quando comparado com outras fontes de proteína. É importante ressaltar que a FVC é uma opção sustentável, pois o uso de subprodutos animais resulta na redução da pegada de carbono, tendo em vista que os subprodutos não recuperados precisam ser incinerados (Bechaux et al., 2019). Economicamente, a valorização dos subprodutos animais permite às empresas de alimentos criar, beneficiar e melhorar sua economia circular.

O processo convencional de obtenção da FVC consiste, brevemente, no tratamento térmico do material *in natura* em altas temperaturas, prensagem para separação do óleo e moagem da fase sólida remanescente. Atualmente, novos métodos de processamento com o uso de enzimas estão sendo estudados no intuito de melhorar a qualidade final do ingrediente e obter propriedades funcionais (Brandelli et al., 2015). Além das vantagens econômicas e ambientais, a valorização dos subprodutos animais constitui um direcionamento estratégico de pesquisa para a cadeia de abastecimento e produção de alimentos para animais. Neste contexto, destaca-se o desenvolvimento da farinha de vísceras hidrolisadas (FVH).

A FVH é um potencial ingrediente funcional que tem sido utilizado em *pet food*. Além de ser fonte de proteína com características desejáveis para compor alimentos hipoalergênicos, possui também peptídeos com características bioativas (Bechaux et al., 2019). Peptídeos bioativos podem ser definidos como pequenos fragmentos compreendendo 2 a 20 aminoácidos, obtidos a partir de uma proteína parental que pode modular positivamente as funções fisiológicas do organismo. Alguns peptídeos são capazes de regular a pressão arterial ao inibir a enzima responsável por elevar a pressão arterial (enzima conversora da angiotensina I, ECA) (Campbell 2003; Murray e FitzGerard 2007). Outros benefícios relacionados à atividade biológica destes peptídeos, como elevar a capacidade antioxidante orgânica, também foram relatados (Alves et al., 2021; da Silva et al., 2019; Beermann e Hartung 2013; Bernardini et al. 2011; Elias et al. 2008; Ohba et al., 2003). Um estudo recente avaliou o uso de FVH em alimentos para gatos, verificando efeito inibidor da ECA (Miltemburg et al., 2021). Não foram localizados estudos neste sentido na espécie canina.

A ECA é responsável pela conversão da angiotensina I (AngI) em angiotensina II (AngII), potente vasoconstritor e estimulador da secreção de aldosterona pertencente ao sistema renina-angiotensina-aldosterona, o qual está envolvido no controle da pressão arterial.

Drogas anti-hipertensivas como enalapril e benazepril atuam inibindo a ECA, porém efeitos adversos são reportados em cães e gatos (Ames et al, 2019). Contudo, apesar do benefício verificado no emprego dos inibidores da ECA, estudos recentes têm demonstrado que a utilização destes inibidores pode desencadear escape de aldosterona, tornando esta terapia farmacológica por vezes ineficiente (Adin et al., 2020).

Neste sentido, desenvolver alternativas dietéticas que possam eventualmente auxiliar ou substituir tratamentos farmacológicos convencionais, é de grande importância, pois peptídeos bioativos encontrados nos hidrolisados proteicos podem ser menos potentes do que as moléculas sintéticas e menos propensos a se acumular nos tecidos corporais e induzir efeitos colaterais. Estudar o efeito do consumo da FVH na alimentação de cães como modulador do sistema renina-angiotensina e aldosterona, sobretudo a respeito da sua eficácia e segurança, são imprescindíveis para respaldar o uso deste ingrediente e compreender seu potencial para auxiliar ou substituir tratamentos convencionais.

Diante do exposto, esse estudo teve como objetivo avaliar a farinha de vísceras de aves hidrolisada em alimentos extrusados para cães adultos. Foram objetivos específicos deste estudo: avaliar o efeito do consumo das dietas na função renal de cães saudáveis; avaliar a capacidade anti-hipertensiva das dietas; determinar os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo em hidrolise ácida, energia bruta e fibra bruta.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PROTEÍNAS HIDROLISADAS E PEPTÍDEOS BIOATIVOS

Atualmente, os hidrolisados proteicos têm sido estudados em razão das propriedades funcionais que podem ser obtidas a partir da hidrólise enzimática. São exemplos, a elevação da atividade antioxidante, antimicrobiana, imunomoduladora, atividade inibitória da dipeptidil peptidase IV e inibitória da ECA (Kang et al., 2020; Brandelli et al., 2015). Na nutrição de animais de companhia, sua aplicação não é tão ampla, sendo utilizada principalmente para reduzir a alergenicidade das proteínas em dietas hipoalergênicas e para compor aditivos palatabilizantes. Proteínas hidrolisadas também são recomendadas para pacientes com doença inflamatória intestinal (Cave, 2006).

Nesse aspecto, diversas fontes proteicas estão sendo avaliadas em relação a sua capacidade de, após a hidrólise, fornecer peptídeos bioativos. Peptídeos bioativos são sequências específicas de aminoácidos que, além do seu valor nutricional, possuem a

capacidade de regular diversos processos fisiológicos afetando a saúde de maneira benéfica (Möller et al., 2008). As vísceras obtidas da indústria avícola são, normalmente, processadas de maneira convencional para obtenção da farinha de vísceras de aves. No entanto, a hidrólise enzimática desse material é uma alternativa para produção de um ingrediente com maior possibilidade de aplicações, como também no fornecimento de peptídeos bioativos. Diferentemente do modo convencional, o processamento consiste na drenagem do material cru e Trituração, transporte até o reator, aplicação da enzima e posterior hidrólise enzimática, separação das fases (fase solúvel, resíduo não solúvel e gordura), secagem por desidratação da fase solúvel, resfriamento e moagem.

A hidrólise enzimática consiste na clivagem das ligações peptídicas das proteínas pela ação das proteases, resultando na formação de peptídeos de diferentes tamanhos moleculares e aminoácidos livres (Clemente, 2000). A escolha da enzima a ser aplicada depende da fonte proteica (matéria prima) utilizada, o grau de hidrólise e as características adicionais (por exemplo, propriedades bioativas) desejadas no produto final. As enzimas podem ser obtidas de diversas fontes, sendo de animais (ex: pancreatina, tripsina, pepsina, carboxipeptidases e aminopeptidases), de vegetais (ex: papaína e bromelina), de origem fúngicas (*Aspergillus niger*, *Aspergillus melleus*, entre outros) e bacterianas (*Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, entre outras) (Rao et al., 1998). Devido a maior facilidade de produção, rápido crescimento, pequeno espaço necessário para o cultivo e grande variedade de atividade catalítica, as proteases bacterianas são as mais utilizadas pelas indústrias químicas e alimentícias (Giongo, 2006).

Os peptídeos bioativos são inicialmente inativos dentro da proteína de origem e tornam-se ativos após sua liberação, a qual pode ser realizada internamente através das proteases do trato gastrointestinal ou externamente pelo prévio tratamento ácido, alcalino ou enzimático da fonte proteica. Visto que a atividade das enzimas endógenas é incontrolável, possui sítios específicos de clivagem e fornece uma quantidade limitada de peptídeos bioativos, outras formas de obtenção de peptídeos bioativos são requeridas (Lafarga and Hayes, 2014).

2.2 ATIVIDADE ANTI-HIPERTENSIVA DOS HIDROLISADOS PROTEICOS DE ORIGEM ANIMAL

Alimentos de origem animal como leite, ovos e variadas carnes de diferentes espécies animais demonstraram conter peptídeos capazes de auxiliar no controle da pressão arterial em função da sua atividade inibitória da ECA (MARTÍNEZ-MAQUEDA et al., 2012; BHAT ET AL., 2017).

No que diz respeito às proteínas de aves, há evidências que peptídeos derivados desta fonte sejam capazes de contribuir para o controle da pressão arterial. Estudos *in vitro* que avaliaram a digestão da carne de aves pelas proteases de *Aspergillus spp*, proteases gástricas e simulações de digestão gastrointestinal observaram que por meio destes métodos a carne de frango libera peptídeos capazes de inibir a atividade da ECA (SAIGA et al., 2003; SAIGA et al., 2008; TERASHIMA et al., 2010; SANGSAWAD et al., 2017). Por sua vez, um estudo *in vivo* em ratos espontaneamente hipertensos demonstrou que a administração oral (100mg de peptídeos/Kg de peso corporal) de hidrolisados obtidos pela digestão da proteína da pele de coxa de frango e da proteína da pele de peito de frango (enzimas alcalase e pepsina) foram capazes de reduzir a pressão arterial sistólica, após 6 horas da ingestão, em -32,67mmHg e -31,33mmHg, respectivamente, demonstrando o seu potencial hipotensor (ONUH et al., 2015). Além disso, em modelos de hipertensão induzida em ratos, também se constatou que a ingestão de extrato de frango e de colágeno de frango hidrolisado são eficazes na redução da pressão arterial (MATSUMURA et al., 2001; ZHANG et al., 2010).

Em humanos, as principais drogas utilizadas para regular a pressão como captopril, benazepril e enalapril atuam inibindo a ECA, porém efeitos adversos são relatados, sendo eles angioedema, tosse seca, distúrbios do paladar, reações cutâneas, entre outros (Sica, 2004). Esses efeitos colaterais, juntamente com a alta incidência de pacientes hipertensos e o fato da hipertensão ser um fator de risco conhecido para derrames e doenças cardiovasculares, contribuíram para a busca de peptídeos anti-hipertensivos derivados de alimentos (Ryan et al., 2011).

Os peptídeos bioativos podem inibir a ECA de duas maneiras, ligando-se ao seu sítio ativo ou modificando sua conformação ao ligar-se a um sítio inibidor impedindo a ligação da Ang I ao local ativo (Ryan et al., 2011). Diversos estudos demonstraram a capacidade de inibição da ECA *in vitro* por hidrolisados de diferentes subprodutos de aves: da crista e da “papada” (Bezerra et al., 2019), dos pés (Mas-Capdevila et al., 2018), de vísceras (dos Santos Aguilar et al., 2019; Mane and Jamdar, 2017), da pele (Onuh et al., 2015; Yusop et al., 2016), do colágeno comercial obtido de aves (Soladoye et al., 2015), do extrato de osso (NAKADE et al., 2008), entre outros. No entanto, estudos *in vitro*, embora sejam uma ferramenta interessante para avaliar a atividade dos peptídeos bioativos, não necessariamente confirmam seu efeito fisiológico (Mas-Capdevila et al., 2018).

Para exercer efeito benéfico *in vivo*, os peptídeos bioativos devem ser resistentes aos diferentes pH e enzimas do trato gastrointestinal, devendo ser absorvidos pelos enterócitos para o soro, chegando completos ao sítio de ligação desejado e em quantidade suficiente

(Lopez-Barrios et al., 2014). Mane e Jamdar (2017) avaliaram a resistência de três peptídeos bioativos obtidos de vísceras de frango a degradação por enzimas gastrointestinais (pepsina, tripsina e quimotripsina) e observaram atividade residual de 82% em relação à atividade inicial. Anna et al. (2016) avaliaram o efeito da digestão gastrointestinal *in vitro* sobre a atividade inibitória da ECA de peptídeos obtidos de proteína hidrolisada de frango e observaram aumento de 2,23 vezes na inibição da ECA após a digestão. Diversos estudos também demonstraram a capacidade de absorção dos peptídeos bioativos pelo organismo (Ding et al., 2016; Fan et al., 2018; Gallego et al., 2016; Sangsawad et al., 2018).

Além dos fatores citados acima, a forma que o ingrediente contendo os peptídeos bioativos é fornecido ao animal também é importante. Uma vez que, para dietas secas, as matérias-primas são misturadas, extrusadas e secas, diversos fatores podem influenciar na atividade inibitória da ECA do produto final.

2.3 SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA (SRAA)

O sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) é uma cascata neuro-hormonal ativada em diferentes momentos fisiológicos ou patológicos no intuito de manter a homeostasia do sistema renal e cardiovascular. A ativação do SRAA inicia com a síntese de renina nas células epitelioides do aparelho justaglomerular, sendo armazenados em forma de grânulos, liberados de forma controlada. Esta liberação acontece geralmente em situações de baixa pressão arterial sistêmica, hipovolemia, privação de sódio e estimulação simpática (Ames et al, 2019). Por outro lado, o angiotensinogênio é liberado pelo fígado ficando livre na circulação sistêmica. No sangue, a renina metaboliza o angiotensinogênio, produzindo assim, a AngI. Posteriormente a enzima conversora de angiotensina (ECA), que é liberada das células endoteliais, converte AngI em AngII. As ações da AngII são determinadas pelo tipo de receptor de AngII envolvido. Os efeitos da AngII nos receptores de Ang1, levam ao aumento da retenção de sódio, vasoconstrição, estimulação da sede e desejo por sal, além do aumento da atividade do sistema nervoso simpático e liberação de aldosterona pela glândula adrenal (Castrop et al, 2005; Sztechmanet al, 2018). Por outro lado, as ações da estimulação dos receptores de Ang2, são contra regulatórias às do receptor tipo-1. A estimulação do receptor tipo 2 produzem efeitos anti-inflamatórios, anti-fibróticos e vasodilatadores (Ames et al, 2019). Nesta ordem de fatores, o principal metabólito final do SRAA é a aldosterona. A aldosterona é um regulador chave do equilíbrio de sódio, potássio e fluidos corporais (Hall & Guyton, 2010). A ação da aldosterona modula a expressão de canais iônicos, bombas e trocadores em tecidos epiteliais (especialmente no rim), levando a aumento na reabsorção

transepitelial de Na^+ e água e excreção de K^+ (Ames et al, 2019). Além da remodelação patológica dos tecidos cardíacos, vasculares e renais (Adin et al, 2020). A exposição crônica a altas concentrações de aldosterona resulta em retenção excessiva de sódio com expansão do volume extracelular, favorecendo a perda de potássio e magnésio, diminui a sensibilidade dos barorreceptores, contribui para a disfunção endotelial e inflamação vascular e está associada com remodelação renal, vascular e cardíaca, além de insuficiência cardíaca (Ames et al, 2019).

Embora a ativação do SRAA possa compensar estágios iniciais da doença cardiovascular e renal, a ativação de longo prazo é mal adaptativa. (Ames et al, 2019; Adin et al, 2020). Assim, na atualidade, a busca de novos protocolos terapêuticos para controlar a ativação do SRAA é necessária.

2.4 SRAA E FUNÇÃO RENAL

As células justaglomerulares, as quais produzem renina, estão localizadas entre as células da mácula densa e as arteríolas aferente e eferente, estruturas que formam o aparelho justaglomerular (Ames et al, 2019). Existem vários mecanismos para a liberação de renina pelas células justaglomerulares incluindo baixa da pressão arterial sistêmica, hipovolemia, privação de sódio e estimulação simpática (Ames et al, 2019). A liberação de renina é aumentada quando a pressão arterial baixa é detectada pelos barorreceptores intrarrenais, desencadeando a liberação de prostaglandinas (PGE2, PGI2). Por outro lado, a diminuição da reabsorção de Na^+ e Cl^- detectada pela mácula densa, estimula a liberação de renina através das prostaglandinas (PGE2, PGI2). A liberação de renina também pode ser estimulada por um mecanismo extra-renal, estimulação nervosa simpática de receptores $\beta 1$ nas células justaglomerulares, ativando assim, o sistema SRAA (Riviere, & Papich, 2018). Os principais efeitos da AngII no rim incluem vasoconstrição da artéria interlobular e arteríolas aferentes e eferentes, resultado em aumento da taxa de filtração glomerular (Ivy & Bailey, 2014). A vasoconstrição induzida por AngII na maioria dos casos diminui a taxa de filtração glomerular por afetar a arteríola aferente mais do que a artéria eferente. No entanto, durante a hipotensão renal, a AngII afeta a artéria eferente em maior extensão do que a artéria aferente, resultando em aumento da taxa de filtração glomerular (Riviere et al 2018).

A administração de inibidores da ECA durante a hipotensão renal (como por exemplo, em casos de desidratação, hipovolemia ou perda de sangue) aumenta o risco de insuficiência renal aguda, pois os fármacos provocam diminuição da resposta de vasoconstrição da arteríola eferente mediada pela AngII, o que resulta em redução da resistência arteriolar eferente, da

pressão capilar glomerular e da taxa de filtração glomerular. Como consequência, ocorre azotemia aguda e possível lesão renal aguda. O potencial nefrotóxico de inibidor de ECA pode ser aumentado em caso de depleção de sódio, uso de diurético ou insuficiência cardíaca congestiva, e agravado se houver, concomitantemente, doença renal crônica ou uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (Cowgill et al. 2011).

2.5 ESCAPE DE ALDOSTERONA

O escape de aldosterona pode ser definido como uma condição na qual os inibidores da ECA, falham em suprimir efetivamente a atividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona, ou seja, o organismo cria maneiras alternativas de ativar a produção de aldosterona, sem necessidade ou participação da ECA. Os mecanismos pelos quais ocorrem a passagem da aldosterona ainda não são bem compreendidos e o fenômeno é provavelmente de origem multifatorial (Bomback & Klemmer, 2007; Nobakht et al, 2011). A explicação mais popular é que vias alternativas e enzimas para conversão de AngI em AngII são evocados, incluindo quimase e catepsina G. Estudos recentes têm demonstrado que outros tipos de angiotensina (1,12 e 1,25), que são encontrados em tecidos cardiovasculares e renais, servem como precursores para peptídeos de AngII e podem ser responsáveis pela liberação de AngII (Nagata et al, 2013). Além disso, a quimase, uma serino-protease, catalisa a formação de AngII a partir da AngI (Waanders et al, 2011), permitindo a formação de AngII independente da ECA no tecido. Esta via é provavelmente o principal gerador AngII no tecido (Nagata et al, 2006). Estudos sobre ativação do SRAA induzido pela administração de amlodipina ou furosemida têm sido realizados recentemente. Nestes estudos foram observados aumentos de duas a três vezes nas concentrações de aldosterona/creatinina na urina (UAldo:C), e esta ativação não foi controlada com o uso de inibidor da ECA (Atkins et al., 2007; Sayer et al., 2009; Ames et al 2016). Embora o benazepril suprima com sucesso a ECA, ele não reduz significativamente a excreção urinária de aldosterona induzida por furosemida, indicando escape de aldosterona (Lantis et al., 2014). A presença de escape de aldosterona, apesar da supressão da ECA, levou a várias hipóteses sobre este mecanismo, incluindo a geração de AngII não mediada por ECA e a formação extra-adrenal de aldosterona.

Um estudo feito com cães com degeneração da válvula mitral, demonstrou que o escape de aldosterona apresentou prevalência em 32% de cães com insuficiência cardíaca congestiva (ICC) e 30% em cães sem ICC. Este trabalho caracterizou o escape de aldosterona pela concentração UAldo:C > 1.0 ug/g (Ames et al, 2017). Em humanos, aproximadamente 50% dos pacientes com insuficiência cardíaca não apresentam escape de aldosterona e, portanto,

ocorre efeito satisfatório do benazepril na população com insuficiência cardíaca. Contudo, não existe consenso sobre o tempo que este fenômeno leva para acontecer. Estudos relatam ativação do fenômeno de escape de aldosterona entre 4 e 6 semanas após o início da terapia com inibidor da ECA, já outros estudos apontam duração de 6 a 12 meses (Bomback & Klemmer, 2007; Waanders et al, 2011).

3 METODOLOGIA

Todos os procedimentos realizados no presente experimento foram aprovados pela Comissão de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB), com número de protocolo 3870020621.

3.1 LOCAL

O experimento foi conduzido em dois canis, no Canil Altos do Miramar, localizado na cidade de João Pessoa e no Canil Quinta Di Cani, localizado na cidade de Campina Grande, ambas cidades da Paraíba.

3.2 ANIMAIS, DIETAS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram selecionados 16 cães adultos (6 cães da raça American Pitbull Terrier, 2 cães da raça Dacshound Miniatura, 6 cães da raça Bulldog Francês e 2 cães da raça Shih Tzu), machos, com idade entre 1 a 6 anos e escore de condição corporal 4 ou 5 de 9 (Laflamme, 1997), que foram divididos igualmente considerando o peso corporal e as raças em dois tratamentos, : farinha de vísceras convencional (FVC), com peso inicial médio $15,92 \pm 8,24$ e farinha de vísceras hidrolisada (FVH), com peso inicial médio $15,59 \pm 7,98$. Os pesos dos animais estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Peso corporal inicial dos cães, em kg, dos tratamentos FVC e FVH.

Tratamento	Cães	Peso corporal inicial (kg)	Média de peso corporal por tratamento (kg)
FVC	Dashound Miniatura	4,5	
	American Pitbull Terrier	28,1	
	American Pitbull Terrier	24,5	
	American Pitbull Terrier	20,25	15,92
	Bulldog Francês	14,4	
	Bulldog Francês	15,6	
	Bulldog Francês	14	
FVH	Shih Tzu	6	
	Dashound Miniatura	4,15	
	American Pitbull Terrier	22,4	
	American Pitbull Terrier	19,35	
	American Pitbull Terrier	27,5	15,59
	Bulldog Francês	13,7	
	Bulldog Francês	16,8	
	Bulldog Francês	15,6	
	Shih Tzu	5,2	

As duas dietas isonutrientes foram formuladas para atender as necessidades nutricionais de cães adultos (FEDIAF, 2020), com 31,91% de farinha de vísceras convencional para o alimento FVC e 10% de farinha de vísceras de aves hidrolisada e 20,77% de farinha de vísceras convencional para o alimento FVH, descritos na Tabela 2. A farinha de vísceras hidrolisada (Proteína hidrolisada de frango, BRF S.A., Concórdia, Brasil) selecionada para o estudo apresentou satisfatória inibição da atividade da ACE (90,4%) em avaliação *in vitro* (Miltenburg et al., 2021).

Tabela 2. Composição química e de nutrientes estimada em porcentagem das dietas experimentais com farinha de vísceras de aves convencional (FCV) e hidrolisada (FVH).

	FVC	FVH
Ingredientes (%)		
Milho	39,3400	39,0700
Cloreto de Potassio	0,3900	0,3700
Fosfato Bicalcico		0,1700
Levedura de cerveja	1,0000	1,0000
DL Metionina 99%	0,1200	0,1200
Antifungico	0,1000	0,1000
AAM	0,1000	0,1000
Óleo de Visceras Fr.	7,4900	8,7000
Polpa de beterraba	4,0000	4,0000
Quirera de Arroz	12,0000	12,0000
Sal	0,3000	0,3000
Colina 60%	0,1300	0,1900
Oleo de Peixe 18/12	0,5500	0,5500
Antiox. PET-OX PLUS	0,0700	0,0700
Super L- GF	2,0000	2,0000
Px Vit. 150/V3	0,3700	0,3700
Px Min. PP	0,1300	0,1300
Farinha de Aves Hidrolisada		10,0000
Farinha de Aves Convencional	31,9100	20,7600
Composição química esperada (%)		
Proteína Bruta	26,0000	26,0000
Extrato Etéreo	14,5000	14,5000
Matéria Mineral	5,9300	5,3200
Fibra Bruta	1,8000	1,8000
Fibra Dietética Total	4,3300	4,3100
Umidade	7,0900	7,1800
Extrato Não Nitrogenado	40,2000	40,0000
Amido	33,5900	33,4100

Os cães foram vermifugados, receberam pour-on contra pulgas e carapatos e, antes do início do período experimental foram realizados exames laboratoriais para comprovação da saúde e aptidão para participar do projeto. Todos os cães estavam saudáveis e livres de doenças. Cada animal foi alimentado de acordo a necessidade energética de manutenção de cães de canil (NEM), onde $NEM \text{ (kcal)} = 130 \times \text{kg peso corporal}^{0,75}$. A quantidade diária foi dividida em duas refeições, oferecida às 8 e 16 horas. A água foi fornecida *ad libitum*.

3.3 COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE DAS DIETAS

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes foram determinados pelo método de coleta total de fezes, considerando as recomendações da *American Association of Feed Control Official* (AAFCO, 2014).

As dietas foram ofertadas por um período de adaptação de cinco dias, seguidos de quatro dias de coleta. A água foi fornecida *ad libitum*. Os cães foram alojados em baías individuais com 2m² de área coberta e 4m² de solário. Os animais foram monitorados e as fezes coletadas a cada 3 horas nas baías. As fezes recolhidas recebiam o escore fecal, eram pesadas, acondicionadas em recipientes apropriados e congeladas em freezer (-15°C) para posterior análise. A consistência fecal foi realizada utilizando notas de 0 a 5, no qual: 0 para fezes líquidas; 1 para fezes pastosas e sem forma; 2 para fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3 para fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4 para fezes bem formadas e consistentes, que não marcam o piso (escore ideal); 5 para aquelas também bem formadas, mas duras e ressecadas (CARCIOFI et al., 2008). Consideram-se normais os valores entre 3 e 4.

As análises dos alimentos e das fezes foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal (LAANA), localizado na Universidade Federal da Paraíba, Campus II, no município de Areia – PB.

Para determinação da digestibilidade dos nutrientes, foi utilizado as fezes dos animais e o alimento FVC e FVH. As fezes foram pesadas, acondicionadas em sacos plástico, identificados por dia, animal e tratamento, armazenadas em freezer (-15°C). Para determinação da matéria seca do alimento, foram pesados, acondicionados em sacos plásticos e identificadas por tratamento. Para determinação da matéria seca das fezes, as amostras foram retiradas do freezer e descongeladas, posteriormente foram homogeneizadas e pesadas para serem levadas a estufa de ventilação forçada a 55°C durante 72 horas até manter um peso constante e garantir a secagem das amostras junto com amostra do alimento. As amostras foram moídas em moinho do tipo bola, pesadas e secas na estufa a 105°C. A matéria seca foi determinada por diferença de peso.

Para determinação da matéria mineral ou cinzas, após determinação da ASE das fezes, as mesmas foram para mufla fria por um período de quatro horas, depois foram para estufa a 105°C, por no mínimo 20 minutos, para posterior pesagem, cálculo e obtenção do peso das cinzas. A matéria orgânica foi determinada pela subtração:

$$MO = 100 - CZ \text{ ----- Umidade (H}_2\text{O) = 100 - MS Total}$$

A determinação do extrato etéreo em hidrólise ácida foi utilizada o Extrator de Gordura do Tipo Goldfish/Randall Modelo Tecnal. Após preparo dos balões em estufa a 105°C por 3 horas, os mesmos foram identificados para uso posterior. Foram pesadas 2g de cada amostra em tubos Falcon, adicionado 2ml de álcool etílico P.A e homogeneizado, com aplicação de 10ml de solução ácida, homogeneizado, e colocados no banho maria a 80°C por 40 minutos, mexendo a cada 15 minutos. Após 40 minutos, esperou-se esfriar e adicionou 10ml de álcool etílico e homogeneização. Acrescentou-se 25 ml de éter etílico, fechando bem e agitando vigorosamente por cerca de 1 minuto. Após a homogeneização, os tubos foram para centrífuga por 8 minutos, retirou-se o sobrenadante com pipeta e colocou a amostra no papel filtro, após repetição desse procedimento 3 vezes, lavou-se os papéis filtros com 10ml de éter etílico, com auxílio de pipeta e passagem pelo funil para garantir que toda a gordura escorreu para o balão. Após esse processo, os balões foram para estufa semiaberta, de um dia para o outro, a 55°C. Retirou-se os balões da estufa e após esfriar no dessecador, ocorreu a pesagem dos balões e a determinação do extrato etéreo em hidrólise ácida.

As demais análises como teores proteína bruta, energia bruta e fibra bruta foram determinadas de acordo com AOAC (2006). Todas as análises foram realizadas em duplicata, sendo repetidas quando variavam mais de 5%.

3.4 ATIVIDADE SÉRICA DA ECA, CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ALDOSTERONA E RELAÇÃO ALDOSTERONA: CREATININA URINÁRIA (UALDO:C)

As amostras de sangue (3 mL) foram coletadas da veia jugular por venopunção nos dias 0, 60 e 120. A relação aldosterona: creatinina urinária (UAldo:C) foi determinada nos mesmos dias de coleta (0, 60 e 120), a partir da coleta de 5 mls de urina por cistocentese, uma vez ao dia. A determinação da atividade sérica da ECA e concentração de aldosterona foi realizada seguindo mesmo protocolo descrito no teste anterior.

3.5 AVALIAÇÃO DE FUNÇÃO RENAL

As amostras de sangue foram coletadas nos dias 0, 60 e 120 por punção venosa padrão usando sistemas de coleta a vácuo de sangue; amostras simultâneas de urina foram obtidas por meio de cistocentese. As amostras foram coletadas e posteriormente centrifugadas durante 10 min a 1400 g a 4°C para a obtenção de soro. Posteriormente, foram guardadas em tubos à - 80°C, até o momento da análise. Foram realizadas as seguintes análises: creatinina, Na e K. A

análise de urina incluiu gravidade específica da urina, exame de fita reagente, avaliação microscópica do sedimento urinário, creatinina urinária, relação proteína/creatinina urinária (UP/C) e os eletrólitos urinários Na e K. As amostras de urina pigmentada foram excluídas das medições de UP/C. A dimetilarginina simétrica (SDMA) foi mensurada para determinação de alteração da função renal. Os bioquímicos foram medidos usando métodos colorimétricos comercialmente disponíveis.

A excreção fracionada (EF) de eletrólitos, incluindo Na e K foram calculados de acordo com a equação relatada anteriormente (Brown et al, 2015):

$$EFX = uX \text{ sCr} / uCr \text{ sX} \text{ (com base na amostra pontual de urina)}$$

Onde uX e sX foram as concentrações de um analito específico na urina e no soro, respectivamente. Além disso, foram realizadas mensurações da relação creatinina aldosterona na urina, (UAldo:C), com o intuito de mensurar ativação do sistema SRAA causada pela dieta.

3.6 MENSURAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

Após aclimatação dos cães, a pressão arterial sistólica (PAS) foi determinada por metodologia Doppler (DL330, Delta Life, São Paulo, Brasil). As medidas da pressão arterial foram realizadas de acordo com a recomendação do American College of Veterinary Internal Medicine (Acierno, et al. 2018). A pressão arterial sistólica foi medida no membro anterior em todos os cães. O comprimento do conjunto do manguito foi de aproximadamente 40% do perímetro do membro. A pressão sistólica média foi determinada pela mensuração de três medições consecutivas com tolerância de variação máxima de 10%. A hipotensão foi definida como PAS <80 mmHg (Acierno et al. 2018).

3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as variáveis foram verificadas quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk. Para a determinação do efeito da dieta ao longo prazo, os dados foram analisados usando ANOVA modelo misto com dois fatores [grupo (Duas dietas: FVC e FVH) x tempo (Três momentos: 0, 60, 120 dias de consumo das dietas)] com medidas repetidas do fator [tempo]. As comparações post-hoc dos dados foram realizadas usando um teste de comparação múltipla Tukey-Kramer. Os dados da digestibilidade foram submetidos à análise de variância e teste de F. As análises estatísticas serão realizadas no software SigmaPlot v.12.0 com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante todo o período experimental, todos os animais permaneceram saudáveis com base na ausência de sinais clínicos e parâmetros sanguíneos normais. Todos os cães mantiveram peso corporal adequado para sua idade. As dietas foram bem aceitas pelos animais, não apresentando quadros de recusa, vômito ou diarreia.

Na Tabela 3, está demonstrado a composição química analisada, onde é possível verificar que houve diferença na composição (%) dos nutrientes entre as dietas formuladas.

Tabela 3. Composição química analisada dos alimentos utilizados no estudo (dados expressos em matéria seca).

Nutrientes	FVC	FVH
Umidade (%)	6,64	6,21
Proteína bruta (%)	26,63	26,90
Extrato etéreo em hidrólise ácida (%)	13,74	14,99
Matéria mineral (%)	5,95	4,53
Matéria orgânica (%)	94,05	95,47
Matéria seca (%)	93,36	93,79
Energia bruta (kcal/kg)	5373,00	5142,00
Energia metabolizável (kcal/kg)	4840,00	4505,00

Na tabela 5 estão demonstrados a ingestão dos nutrientes pelos cães alimentados com FVC e FVH. Observou-se uma diferença na ingestão de nutrientes, como matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, fibra bruta, extrativo não nitrogenado, proteína bruta e energia metabolizável, o ideal é que não houvesse essa diferença na ingestão de nutrientes, já que se objetiva uma semelhança na mesma para que não haja impactos na digestibilidade. Não obstante, apesar de estatisticamente haver uma pequena variação dos nutrientes ingeridos, não foi observado impactos fisiológicos que impactassem na avaliação da digestibilidade das rações, resultados semelhantes obtidos por Rossin; et al. (2022) para os mesmos tratamentos em experimento com gatos.

Tabela 4. Ingestão de nutrientes dos cães alimentados com os alimentos FVC e FVH.

Nutrientes	Alimento		P valor ¹
	FVC	FVH	
Matéria Seca	28,5 ± 0,3	29,2 ± 0,6	<0,001
Matéria Orgânica	26,8 ± 0,2	27,9 ± 0,6	<0,001
Extrato Etéreo	3,90	4,4 ± 0,1	<0,001
Fibra Bruta	0,5	0,60	<0,001
Extrativo Não Nitrogenado	14,9 ± 0,1	15,1 ± 0,3	0,397
Proteína Bruta	7,6 ± 0,1	7,9 ± 0,2	<0,001
Energia Metabolizável	4,70	4,6 ± 0,2	0,0138

¹Foi estabelecido nível de significância de 5% (P<0,05) e tendências consideradas quando 0,05≤P≤0,010.

Na Tabela 5 estão descritos os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta, energia bruta, extractivos não nitrogenado e fibra bruta dos alimentos FVC e FVH. A digestibilidade aparente dos nutrientes foi semelhante entre os tratamentos ($P>0,05$), corroborando com os dados apresentados por Rossin; et al. (2022) que em estudo com farinha de vísceras hidrolisada em dietas extrusadas para gatos em comparação com farinha convencional, verificou semelhante digestibilidade aparente entre os nutrientes comparando os tratamentos. No entanto a fibra bruta foi significativa ($P <0,05$), sendo uma maior média para cães que consumiram a FVH comparado ao consumo de FVC.

Os níveis de fibra nos alimentos comerciais foram constatados em estudos anteriores (Burrows et al., 1982; Fahey et al., 1990a, 1990b), demonstrando que alimentos com maior teor de fibras apresentaram menor digestibilidade. Porém, segundo Carciofi; et al. (2005) a fibra bruta no alimento, quantifica apenas frações da fibra de baixa fermentação, dessa forma, não demonstra o comportamento digestivo do alimento, não influenciando a digestão das dietas, nem demonstrando menor digestibilidade da dieta, sendo assim as frações de fibra bruta pouco explicam o comportamento digestivo do alimento.

Tabela 5. Coeficientes de digestibilidade aparente dos alimentos FVC e FVH.

Digestibilidade Aparente	Alimento		P valor ¹
	FVC	FVH	
Matéria Seca	82,43 ± 1,23	82,57 ± 1,85	0,442
Matéria Orgânica	86,65 ± 1,49	86,55 ± 1,07	0,902
Extrato Etéreo	93,57 ± 0,79	93,98 ± 0,77	0,134
Proteína Bruta	85,85 ± 1,61	86,1 ± 1,54	0,373
Energia Bruta	88,44 ± 1,37	87,73 ± 1,14	0,127
Extrativo Não Nitrogenado	87,63 ± 2,00	86,97 ± 1,49	0,238
Fibra Bruta	9,59 ± 17,26	28,22 ± 18,68	0,038

¹Foi estabelecido nível de significância de 5% ($P<0,05$) e tendências consideradas quando $0,05 \leq P \leq 0,001$.

Na tabela 6 estão demonstrados os parâmetros renais durante o consumo de FVH e FVC pelos cães do experimento. Os resultados dos parâmetros renais em comparação com os dois grupos da dieta ofertada aos cães, não tiveram divergência significativa. Considerando o efeito intervalo (tempo), foi possível constatar estatisticamente um efeito nos parâmetros dos perfis renais, aumentando ao longo do tempo, considerando o intervalo: Dia 0, 60 dias e 120 dias. Dessa forma, foi possível constatar que o uso da FVH a longo prazo é seguro e benéfico com relação ao aumento do perfil de antioxidantes avaliado.

As concentrações de sódio e potássio apresentaram valores similares na dieta FVH e FVC não tendo efeito significativo ($P>0,05$). Corroborando com o estudo feito por Anna et. al (2016), onde avaliaram que a ingestão de proteína hidrolisada de frango fez ocorrer um aumento na inibição da ECA após a digestão, na tabela 6 é possível comparar que apesar de semelhantes as médias da ECA entre as dietas, a FVH demonstrou uma maior inibição da ECA comparado a FVC diminuindo ao longo do tempo, estando no momento 120 uma menor média para FVH ($P>0,05$), corroborando com os resultados apresentados por Miltenburg et al. (2020), onde foi feita a mesma avaliação em felinos que demonstrou tendência de redução da ECA.. Em ambos os tratamentos o nível de aldosterona apresentou-se diminuído no período 60 sendo mais significativo na dieta FVC, estando próximo do nível mensurado no período basal no momento 120. Os demais parâmetros avaliados tiveram efeito significativo estatisticamente no intervalo de tempo ($P>0,05$), não havendo diferença entre os grupos bem como na interação grupo-intervalo.

Os resultados das mensurações de creatinina e SDMA demonstram que a utilização a longo prazo de FVH não causou lesões renais nos animais, uma vez que o aumento dos valores séricos da SDMA pode ser observado previamente ao aumento da creatinina sérica quando na presença de lesão renal aguda, doença renal crônica (DAHLEM et al., 2017) ou cálculos renais (HALL et al., 2017), enquanto permanecem inalterados em animais saudáveis (NABILITY et al., 2015).

Devido a limitação no estudo não foi possível mensurar e avaliar a Pressão Arterial Sistólica de maneira fidedigna, uma vez que os cães tiveram picos de estresse durante o manejo e mensuração.

Tabela 6. Parâmetros renais avaliados durante o estudo.

	FVC			FVH			P valor		
	Basal dia 0	60 dias	120 dias	Basal dia 0	60 dias	120 dias	grupo	intervalo	interação
Creatinina	0,96 ± 0,28 ^a	1,47 ± 0,33 b	1,48 ± 0,36 b	0,99 ± 0,26 ^a	1,43 ± 0,45b	1,27 ± 0,33b	0,601	<0,001	0,391
Ureia	39,00 ± 16,54 ^a	55,36 ± 11,77b	50,91 ± 14,99ab	42,75 ± 12,03	52,50 ± 12,83	44,39 ± 11,90	0,689	0,013	0,96
SDMA	9,38 ± 1,85 ^a	11,75 ± 3,11ab	13,63 ± 3,38b	10,25 ± 2,49	12,25 ± 1,98	12,13 ± 1,46	0,958	0,003	0,0323
Na	146,95 ± 14,21	149,63 ± 12,52	149,24 ± 4,83	145,38 ± 6,67	151,63 ± 10,21	144,38 ± 6,41	0,711	0,282	0,511
K	4,91 ± 0,80	5,64 ± 0,37	4,90 ± 0,55	4,89 ± 0,88 ^a	5,93 ± 0,68 ^a	4,87 ± 0,24 ^a	0,689	<0,001	0,701
ECA	39,23 ± 10,33 ^a	31,38 ± 5,10b	23,03 ± 7,42c	34,84 ± 10,60 ^a	34,63 ± 6,02b	21,70 ± 4,21b	0,762	<0,001	0,281
Aldosterona	44,17 ± 19,38 ^a	17,07 ± 1,57b	39,16 ± 9,09c	49,38 ± 20,61 ^a	18,84 ± 3,77b	39,77 ± 18,11c	0,505	<0,001	0,909
FeNa	0,62 ± 0,28b	2,72 ± 0,64c	3,25 ± 2,06 ^a	0,54 ± 0,16 ^a	2,78 ± 1,26b	2,69 ± 1,35c	0,562	<0,001	0,735
FeK	1,44 ± 0,68c	2,61 ± 0,68 ^a	1,09 ± 0,66b	0,92 ± 0,31c	2,65 ± 0,99 ^a	0,91 ± 0,70b	0,377	<0,001	0,451

Letras diferentes (a, b, c) na coluna indicam diferenças significativas entre as médias dos tratamentos

5 CONCLUSÃO

Não houve diferença significativa na digestibilidade dos nutrientes quando comparados os dois tratamentos. A ingestão dos nutrientes apresentou uma pequena diferença entre as dietas, porém, como essa diferença não foi discrepante não houve influência na avaliação da digestibilidade e pode ser justificado pela divergência da composição químicas das dietas. A ECA apresentou redução em ambos os tratamentos, sendo mais significativo no momento 120 para a dieta FVH. A aldosterona também apresentou diminuição em ambos os alimentos extrusados sendo mais significativo no tratamento FVC. A creatinina e a SDMA mantiveram-se dentro dos valores de referência para animais saudáveis, assim não foi verificado efeito significativo da ingestão dos alimentos sobre a função renal dos animais estudados. Deste modo, é possível afirmar que inclusão de 10% de FVH no alimento extrusado para cães é seguro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acierno, M. J., Brown, S., Coleman, A. E., et al. (2020). ACVIM consensus statement: guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Japanese association of Veterinary Nephrology and Urology**, 12(1), 30-49.
- Adin, D., Atkins, C., Domenig, O., DeFrancesco, T., Keene, B., Tou, S., & Meurs, K. M. (2020). Renin-angiotensin aldosterone profile before and after angiotensin-converting enzyme-inhibitor administration in dogs with angiotensin-converting enzyme gene polymorphism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 34(2), 600-606.
- Aguilar, J. G., A. K. S. de Souza, and R. J. S. de Castro. 2019. Enzymatic Hydrolysis of Chicken Viscera to Obtain Added-Value Protein Hydrolysates with Antioxidant and Antihypertensive Properties. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**.
- Alves, Fillemon Edillyn da Silva Bambirra et al. Valorization of an Abundant Slaughterhouse By-product as a Source of Highly Technofunctional and Antioxidant Protein Hydrolysates. **Waste and Biomass Valorization**, v. 12, n. 1, p. 263-279, 2021.
- Ames, M. K., Atkins, C. E., & Pitt, B. (2019). The renin-angiotensin-aldosterone system and its suppression. **Journal of veterinary internal medicine**, 33(2), 363-382.
- Association of American Feed Control Officials (AAFCO). 2014. **Official publication**. Oxford.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2006. **Official methods of analysis**. 17th ed. Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists.
- Bechaux, J., P. Gatellier, J.-F. Le Page, Y. Drillet, and V. Sante-Lhoutellier. 2019. A comprehensive review of bioactive peptides obtained from animal byproducts and their applications. **Food & Function** 10: 6244-6266.
- Brandelli, A., L. Sala, and S. J. Kalil. 2015. Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. **Food Research International** 73: 3-12.
- Bomback AS, Klemmer PJ. The incidence and implications of aldosterone breakthrough. **Nat Clin Pract Nephrol** 2007;3:486-492
- BOON, J. A. Evaluation of size, function and hemodynamics. In: Manual of Veterinary Echocardiography. 2. ed. Philadelphia: **Wiley-Blackwell**, 2011. P. 153-266
- Brown N, et al. Glomerular filtration rate, urine production and fractional clearance of electrolytes in acute kidney injury in dogs and their association with survival. **J Vet Intern Med**. 2015;29:28–34
- BURROWS, C.F.; KRONFELD, D.S.; BANTA, C.A.; MERRITT, A.M. Effects of fiber on digestibility and transit time in dogs. **Nutr. J.**, v.112, p.1726-1732, 1982.

CARCIOFI, A. C. Emprego de fibras em alimentos para cães e gatos. In: **SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO**, 5., 2005, São Paulo. Anais ... Campinas, SP: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2005. p95-108.

Carciofi, A. C. et al. 2008. Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. **Journal of Animal Physiology Animal Nutrition** 92: 326-336.

Castrop H, Lorenz JN, Hansen PB, et al. Contribution of the basolateral isoform of the Na-K-2Cl- cotransporter (NKCC1/BSC2) to renin secretion. **Am J Physiol - Ren Physiol.** 2005;289:1185-1192

Cowgill LD, Langston C. Acute kidney insufficiency. In: Bartges J, Polzin DJ. **Nephrology and urology of small animals**. Ames: **Wiley-Blackwell**; 2011. p. 472- 523.

Da Silva, Vítor Geniselli; DE CASTRO, Ruann Janser Soares. Enzymatic hydrolysis of proteins from chicken viscera in the presence of an ionic liquid enhanced their antioxidant properties. **Waste and Biomass Valorization**, p. 1-11, 2019.

DAHLEM,D.P; NEIGER, R.; SCHWEIGHAUSER, A.; FRANCEY, T.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; STEINBACH, S.M.L. Plasma Symmetric Dimethylarginine Concentration in Dogs with Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.31, n.3, p.799–804,2017

Di Bernardini, Roberta et al. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1296-1307, 2011

EMBRAPA. Unidade de Apoio, Pesquisa e Desenvolvimento de Instrumentação Agropecuária (São Carlos, SP). Paulo Estevão Cruvinel. **Medidor digital multissensor de temperatura para solos**. BR n. PI 8903105-9, 26 jun. 1989, 30 maio 1995.

European Pet Food Industry (FEDIAF) (2020). **Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs**. <http://www.fediaf.org/self-regulation/nutrition>

FAHEY JR, G.C.; MERCHEN, N.R.; CORBIN, J.E.; HAMILTON, A.K. et al. Dietary fiber for dogs: I. Effects of graded levels of dietary beet pulp on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. **Anim. Sci. J.**, v.68, p.4221-4228, 1990^a.

Faul, Franz, et al. "Statistical power analyses using G* Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses." **Behavior research methods** 41.4 (2009): 1149-1160.

FORTES, C. M. L. S. **Digestibilidade in vivo e in vitro de fontes de fibra para cães**. 2001. 68f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Gardner SY, Atkins CE, Rausch WP, et al. Estimation of 24-h aldosterone secretion in the dog using the urine aldosterone:creatinine ratio. **J Vet Cardiol** 2007; 9: 1–7.

GOMES, L. G. F. F. **Novela e sociedade no Brasil**. Niterói: EdUFF, 1998.

HOUAISS, Antonio (Ed.). **Novo dicionário Folha Webster's**: inglês/português, português/inglês. Co-editor Ismael Cardim. São Paulo: Folha da Manhã, 1996.

Hall, J.A.; Yerramilli, M.; Obare, E.; Jun, L.; Yerramilli, M.; Jewell, D.E. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in cats with kidney stones. **Plos One**, v.12, n.4, 2017.e0174854

Hall JE, Guyton AC. Role of the kidneys in long-term control of arterial pressure and in hypertension: the integrated system for arterial pressure regulation. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. Philadelphia, PA: **Elsevier Health Sciences**; 2010:213-228Ivy JR, Bailey MA. Pressure natriuresis and the renal control of arterial blood pressure. *J Physiol*. 2014;592(18):3955-3967

KOOGAN, André; HOUAISS, Antonio (Ed.). **Enciclopédia e dicionário digital 98**. Direção geral de André Koogan Breikmam. São Paulo: Delta: Estadão, 1998. 5 CD-ROM.

Miltenburg, T. Z, Uana da Silva, M., Bosch, G., & Vasconcellos, R. S. (2021). Effects of enzymatically hydrolysed poultry byproduct meal in extruded diets on serum angiotensin-converting enzyme activity and aldosterone in cats. **Archives of Animal Nutrition**, 75(1), 64-77.

NABILITY,M.B.; LEES, G.E.; BOGESS, M.M.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; RAKITIN, A.; AGUIAR, J.; RELFORD, R. Symmetric Dimethylarginine Assay Validation, Stability, and Evaluation as a Marker for the Early Detection of Chronic Kidney Disease in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.29, n.4, p.1036–1044, 2015.

Nagata S, Hatakeyama K, Asami M, et al. Big angiotensin-25: a novel glycosylated angiotensin-related peptide isolated from human urine. **Biochem Biophys Res Comm**. 2013;441(4):757-762

Nobakht N, Kamgar M, Rastogi A, Schrier R. Limitations of angiotensin inhibition. **Nat Rev Nephrol** 2011;7:356-359

Nutrient requirements of dogs and cats (NRC). 2006. In: **N. R. Council** (ed.). p 398. The National Academy, Whashington, DC.

OHBA, Riichiro et al. Physiological functions of enzymatic hydrolysates of collagen or keratin contained in livestock and fish waste. **Food Sci. Technology Research**, v. 9, n. 1, p. 91-93, 2003

PERFIL da administração pública paulista. 6. ed. São Paulo: FUNDAP, 1994. 317 p. SILVA, R. N.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife: UFPE, 1996. Disponível em: <<http://www.xxx.com.br>>. Acesso em: 21 jan. 1997.

RUIZ-ROSO, B.; PÉREZ-OLLEROS, L.; REQUEJO, A. Posibilidades de la fibra dietética em el control del enfermo diabético no insulinodependiente. **Schironia**, n. 1, p. 22-26, 2002.

ROSSIN, Gabriel Furtado; SCARPIM, Lucas Bassi; CARCIOFI, Aulus Cavalieri. FARINHA DE VÍSCERAS HIDROLISADA EM DIETAS EXTRUSADAS PARA GATOS.. In: **Anais do XXXIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp**: Agenda 2030 e as Perspectivas da Iniciação Científica da Unesp. Anais...São Paulo(SP) Plataforma virtual: <https://www.even3.com.br/xxxiiicicunesp/>, 2021.