

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

RENATA DIAS RODRIGUES

ESTUDO DAS ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E URINÁRIAS EM CÃES EM
DIFERENTES ESTÁGIOS DE DISFUNÇÃO RENAL E AVALIAÇÃO DO
BIOMARCADOR CISTATINA C

UBERLÂNDIA

2016

RENATA DIAS RODRIGUES

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E URINÁRIAS EM CÃES EM
DIFERENTES ESTÁGIOS DE DISFUNÇÃO RENAL E AVALIAÇÃO DO
BIOMARCADOR CISTATINA C**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Uberlândia, como exigência parcial para obtenção do Título de mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Saúde Animal

Orientador: Prof. Dr. Antonio Vicente Mundim

Co-orientador: Prof. Dr. João Paulo Elsen Saut

UBERLÂNDIA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

R696e Rodrigues, Renata Dias, 1976
2016 Estudo das alterações hematológicas e urinárias em cães em diferentes estágios de disfunção renal e avaliação do biomarcador cistatina C / Renata Dias Rodrigues. - 2016.
52 f. : il.

Orientador: Antonio Vicente Mundim.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Anemia - Teses. 3. Proteinúria - Teses. 4. Cão - Doenças - Teses. I. Mundim, Antonio Vicente, . II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

*Pedras no caminho?
Guardo todas, um
dia vou construir
um castelo...*

Fernando Pessoa.

A GRADECIMENTOS

Agradeço...

À Deus, que me colocou em uma família especial, que me deu a melhor mãe do mundo “mamis Luzia”, que sempre me apoia, que sempre olha com otimismo para todas as situações e que ensinou-me a amar e respeitar os animais incondicionalmente;

Ao meu pai Euronidio (in memorian) que mesmo estando longe fisicamente esta sempre próximo do meu coração;

Ao meu namorado pela paciência com o “dissertar”;

À equipe mais que especial do Laboratório Clínico, sem vocês este trabalho não teria sido executado;

Ao Professor Ednaldo pela imensa colaboração com a estatística deste trabalho;

À equipe de enfermagem e da Clínica pelo auxílio nas coletas;

Luiz Carlos pelo auxílio na inserção do protocolo no analisador bioquímico;

Aos funcionários do Hospital João Luiz e Raquel (recepção) pela disponibilidade em procurar as fichas clínicas;

Ao amigo e Professor Fernando Cristino, pela orientação durante a residência;

À querida amiga Lara pelo companheirismo e palavras de apoio;

Ao querido amigo Marcus Vinícius pelo auxílio com a estatística, gráficos e pelas palavras ditas na hora certa e da forma certa;

Ao Professor João Paulo pelo auxílio com aquisição de material para este trabalho;

À Professora Anna Lima, por permitir o uso do freezer -80°C;

A todos os “pacotinhos de amor” que fizeram parte minha vida, Rosa (Arara), Pipoca (cão), Biju e Chiquinha (Pássaro), Loro (Papagaio), Popó (Peixe), a Rebeca, Chiquinho e Chicão (cão) e aos que estão presente hoje Pretinha, Babi (cão) e Jorge (gato);

E por fim ao Professor Antonio Vicente Mundim pela orientação valiosa, pela dedicação com o meu experimento.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADE	=	Amplitude de distribuição do volume dos eritrócitos
Ca ²⁺ /P	=	Cálcio/Fósforo
CEUA	=	Comissão de Ética na Utilização de Animais
CHGM	=	Concentração da hemoglobina globular média
Cl ⁻	=	Cloreto
DP	=	Desvio padrão
DR	=	Doença renal
DRC	=	Doença renal crônica
EPO	=	Eritropoietina
IRA	=	Insuficiência renal aguda
IRC	=	Insuficiência renal crônica
IRIS	=	International Renal Interest Society
FA	=	Fosfatase alcalina
FG	=	Filtração glomerular
g	=	Gravidade
g/dL	=	Grama por decilitro
GGT	=	Gama glutamiltransferase
HOVET	=	Hospital Veterinário
HSR	=	Hiperparatireoidismo secundário renal
K ⁺	=	Potássio
mg/dL	=	Miligrama por decilitro
mL	=	Mililitro
Na ⁺	=	Sódio
NaCl	=	Cloreto de sódio
NH ₃	=	Amônia
PTH	=	Paratormônio
P	=	Fósforo
pH	=	Potencial hidrogeniônico
RDW	=	Red Cell Distribution Width
U/L	=	Unidades Internacionais por litro
VGM	=	Volume globular médio
VPM	=	Volume plaquetário médio

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 02

Tabela 1. Frequência de cães com valores desejável e elevado distribuídos em grupos de acordo com níveis de creatinina sérica.....26

Tabela 2. Frequência de cães com valores desejável e elevado de acordo com os níveis de creatinina sérica.....28

CAPÍTULO 03

Tabela 1. Média, desvios padrão (DP) dos parâmetros do eritrograma e plaquetograma de acordo com os níveis de creatinina sérica de cães atendidos na rotina clínica do HOVET – UFU, 2016.....40

Tabela 2. Média, desvios padrão (DP) dos parâmetros do leucograma de acordo com os níveis de creatinina sérica de cães atendidos na rotina clínica do HOVET – UFU, 2016.....42

Tabela 3. Médias, desvios padrão (DP), valores mínimo e máximo da densidade urinária nos estágios I, II, III, IV de cães atendidos na rotina clínica do HOVET – UFU, 2016.....43

Tabela 4. Frequência de proteinúria em cães atendidos na rotina clínica do HOVET-UFU de acordo com as concentrações de creatinina sérica.....44

Tabela 5. Frequência dos diferentes tipos de cilindros no sedimento urinário, nos quatro estágios de acordo com os níveis de creatinina sérica de cães atendidos na rotina clínica do HOVET – UFU, 2016.....46

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 03

- Figura 1.** Avaliação do pH urinário de acordo com os estágios de creatinina sérica: I (23 animais), II (16 animais), III (24 animais) e IV (23 animais) de cães atendidos na rotina clínica do HOVET – UFU, 2016.....47

SUMÁRIO

	Página
APRESENTAÇÃO.....	7
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	8
Referências	14
CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA CISTATINA C SÉRICA COMO BIOMARCADOR PRECOCE DA DISFUNÇÃO RENAL EM CÃES	21
Resumo	21
Abstract	21
Introdução	22
Material e métodos	23
Resultados	24
Discussão	29
Conclusão	32
Referências	32
CAPÍTULO 3 – ACHADOS HEMATOLÓGICOS E NA URINÁLISE DE CÃES EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DOENÇA RENAL	36
Resumo	36
Abstract	36
Introdução	37
Material e métodos	38
Resultados	39
Discussão	48
Conclusão	49
Referências	49

ANEXO A

Protocolo Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)	51
Diretrizes para autores – Ciência Animal Brasileira	52

APRESENTAÇÃO

A dissertação foi dividida em três capítulos e segue as orientações do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

No primeiro capítulo consta as considerações gerais, na qual são abordados os principais conceitos acerca da insuficiência renal aguda e doença renal crônica, aspectos anatômicos e fisiológicos do sistema renal e um enfoque envolvendo a hematologia, urinálise e bioquímica sanguínea de cães acometidos pela doença renal com ênfase nos biomarcadores precoces de disfunção renal.

No segundo capítulo intitulado “Avaliação da cistatina C sérica como biomarcador precoce da disfunção renal em cães”, esta estruturado como artigo científico do qual faz parte, resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências, objetivou-se neste estudo determinar a concentração sérica do biomarcador cistatina C, em cães agrupados de acordo com os níveis creatinina sérica, também mensurou-se outras variáveis bioquímicas utilizadas na avaliação da função renal na rotina clínica de pequenos animais, este artigo será encaminhado para publicação na revista Ciência Animal Brasileira, após as correções e sugestões propostas pela banca examinadora.

No terceiro capítulo intitulado “Achados hematológicos e na urinálise de cães em diferentes estágios de doença renal”, possui a mesma estrutura assumida pelo segundo capítulo, a ênfase deste artigo situa-se acerca do eritrograma, plaquetograma, leucograma e alguns determinantes da urinálise que serão analisados diante de diferentes concentrações de creatinina sérica. Este artigo também será encaminhado para publicação na revista Ciência Animal Brasileira, após as correções e sugestões propostas pela banca examinadora.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os rins nos mamíferos recebem aproximadamente 25% do débito cardíaco, respondem a distúrbios hídricos, eletrolíticos e ácido-básicos, além da produção de hormônios que regulam a pressão arterial e a produção de eritrócitos, todas essas funções são realizadas por um grande número de tipos celulares, dispostos na unidade funcional do rim, denominada néfron (VERLANDER, 2008).

Em relação a anatomia renal, o rim esquerdo é normalmente mais pesado que o direito, ambos possuem o formato de feijão, espessos dorsoventralmente, com uma superfície ventral arredondada e uma superfície dorsal menos convexa, são retroperitoneais e estão localizados na região sublombar (ELLENPORT, 1986).

Os principais segmentos do néfron são o glomérulo que responde pela filtração, o túbulo proximal onde ocorre a reabsorção isosmótica de 65-70% da água filtrada e de cloreto de sódio (NaCl), reabsorção de 90% do ânion bicarbonato (HCO_3^-) filtrado, neste local também se produz amônia (NH_3) e ocorre a reabsorção de potássio (K^+), fosfato, cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), ureia e uratos. A alça de Henle é responsável pela reabsorção de 15 a 25% do NaCl filtrado e pelo controle da excreção de Mg^{2+} .

O túbulo distal responde pelo controle ativo de excreção de Ca^{2+} , no ducto coletor medular temos a reabsorção ou secreção de K^+ e por fim no segmento conector e ducto coletor cortical, há a secreção de K^+ mediado por aldosterona nas células principais, secreção do íon H^+ pelas células α -intercaladas e reabsorção de K^+ e água (DiBARTOLA, 2007).

Algumas situações podem predispor a insuficiência renal aguda (IRA) e a longo prazo podem levam a doença renal crônica (DRC), cuja causa normalmente é difícil de determinar.

A IRA é potencialmente reversível, sendo caracterizada como uma perda abrupta da função renal, que pode ser de origem isquêmica ou tóxica (GRAUER, 2010; DiBARTOLA; WESTROPP, 2015).

Em contrapartida, o termo DRC é utilizado para definir a presença de lesão renal persistente pelo período mínimo de três meses, caracterizada pela perda definitiva e irreversível de massa funcional e/ou estrutural de um ou de ambos os rins, e pode-se observar redução da taxa de filtração glomerular (TFG) de até 50% em relação ao seu normal (POLZIN et al., 2008).

A IRA agride os sistemas gastrointestinal, nervoso, respiratório, musculoesquelético entre outros e a conduta terapêutica deve contemplar o paciente no todo, logo é necessário atenção com a dieta (restrição à ingestão oral até que o vômito desapareça), corrigir

desequilíbrios ácidos-básicos, evitar agentes nefrotóxicos, monitorar a produção de urina e considerar em alguns casos a diálise peritoneal ou a própria hemodiálise (COWGILL, 2008).

Alguns agentes nefrotóxicos podem ser citados como: antimicrobianos (aminoglicosídeos, cefalosporinas, sulfonamidas, entre outros), anfifúngicos (anfotericina B), analgésicos (anti-inflamatórios não esteroides), agentes quimioterápicos (cisplatina, metotrexato, doxorrubicina), anestésicos (metoxiflurano) e demais agentes (GRAUER, 2010).

A DRC também causa alteração nos sistemas citados para a IRA, porém a uremia presente neste estágio pode acometer secundariamente outros sistemas corpóreos. É necessário monitorar o paciente, corrigir a hipocalcemia, hiperfosfatemia, hipertensão, desidratação, fazer restrição de proteína em casos de DRC moderada a grave e hemodiálise, além de alertar o proprietário que o prognóstico é de reservado a desfavorável, porém devemos salientar que o transplante renal já está disponível nos hospitais de referência como Hospital Veterinário Fead-Minas, localizado em Belo Horizonte – Minas Gerais (ADAMS, 2008).

Atualmente a Sociedade Internacional de Interesse Renal (International Renal Interest Society – IRIS, 2015), utiliza o termo DRC e propõe um sistema de classificação composto por quatro estágios de evolução da doença em cães e em gatos.

Esses estágios foram estabelecidos a partir das concentrações séricas de creatinina, que é o marcador utilizado com frequência na rotina clínica de pequenos animais, porém esta análise deve ser realizada em conjunto com outros parâmetros, visto que a creatinina sofre influência de outros fatores (BRAUN; LEFEBVRE, 2008).

Na medicina veterinária é crescente o número de cães e gatos que chegam à senilidade, isto deve-se principalmente aos cuidados que seus proprietários proporcionam aos animais de estimação, como alimentação equilibrada, exercício físico, realização de exames, além de produtos veterinários e tratamentos complementares que em conjunto favorecem a longevidade. Dentre várias alterações vivenciadas por esta população idosa, encontram-se as doenças crônicas, das quais a doença renal está presente.

A DRC é considerada uma condição sem alternativas de melhora rápida, de evolução progressiva, custo elevado de tratamento e impacto negativo sobre a qualidade de vida do animal. Assim, o estabelecimento de um diagnóstico precoce é primordial para instituição de medidas que auxiliem na recuperação do órgão, antes que o organismo desempenhe mecanismos metabólicos adaptativos e compensatórios que culminem na impossibilidade de reverter o quadro patológico. A avaliação precoce da função renal é a chave para o diagnóstico, monitorização e manejo das doenças renais (STEVENS et al., 2006).

Os parâmetros usuais para avaliação laboratorial da função renal são creatinina e a ureia séricas. A creatinina é formada através do metabolismo da creatina e fosfocreatina muscular. O nível de creatinina sérica é influenciado pela idade, pela raça, sexo e também pela massa muscular, a mensuração nesta condição é limitada e pode subestimar a função renal em pacientes caquéticos, geriátricos, e muito jovens, bem como em cães de raças pequenas (MÉDAILLE et al., 2004; MIYAGAWA; TAKEMURA; HIROSE, 2010; DUNLOP et al., 2011; ZALDÍVAR-LÓPEZ et al., 2011; ROSSET et al., 2012; MISBACH et al., 2014; RØRTVEIT et al., 2015). Logo intervalos de referência específicos, contemplando idade e raça poderiam fornecer resultados fidedignos da concentração sérica da creatinina, porém esta ainda não é uma realidade (HOKAMP; NABILITY, 2016).

A creatinina é totalmente excretada pelos glomérulos, não havendo a reabsorção tubular, logo pode ser utilizada como índice de filtração glomerular, sua elevação na circulação ocorre mais tarde nos estados de insuficiência renal (IR), quando comparado com a ureia sanguínea. A creatinina pode estar elevada no soro devido a fatores pré-renais como diminuição do fluxo sanguíneo, renais como a diminuição da filtração glomerular (FG) e pós-renais como a ruptura e/ou obstrução do trato urinário (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

A ureia é produzida no fígado através da arginase (ciclo da ureia) e é o principal produto final do catabolismo proteico. Por ser de baixo peso molecular, a ureia difunde-se igualmente pelos fluidos orgânicos.

É excretada através do filtrado glomerular, em torno de 25 a 40% da ureia é reabsorvida através dos túbulos renais, na dependência do fluxo urinário e 60% é eliminada através da urina. Em situações em que ocorre diminuição da FG, observa-se maior retenção da ureia, isso ocasiona um aumento da concentração sanguínea, mas somente será considerada azotemia renal primária quando 75% dos néfrons de ambos os rins tornarem-se afacionais (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

A concentração de ureia é afetada por fatores extra-renais como ingestão proteica elevada e jejum prolongado. Devido a essas interferências, a ureia não é um bom indicador do funcionamento renal quando analisada isoladamente. Para se analisar a função renal, esse parâmetro deve ser interpretado juntamente com os níveis de creatinina, proteína e densidade urinária (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

Dentre os biomarcadores precoces de disfunção renal, podemos mencionar a cistatina C, considerada uma alternativa promissora e utilizada em humanos com resultados positivos, porém em medicina veterinária o uso é ainda limitado a trabalhos acadêmicos e poucos

laboratórios executam este teste devido ao custo elevado e não padronização dos valores de referência para cão e gato.

A cistatina C, uma proteína inibidora das cisteíno-proteases. As proteases ou proteinases são enzimas cuja atividade é regulada por seus inibidores e estão envolvidas em processos de degradação proteica intra e extracelular e em uma variedade de reações metabólicas. As cistatinas atuam formando complexos com suas enzimas alvo na proteção dos tecidos do hospedeiro contra a destruição proteolítica (SHLIPAK; PRAUGHT; SARNAK, 2006).

É considerada a inibidora fisiologicamente mais importante das proteases endógenas da cisteína, pois seu papel é o de inibir tais proteases secretadas ou “vazadas” dos lisossomos de células doentes ou rompidas, protegendo o tecido conjuntivo. A cistatina C é sintetizada e secretada de forma constante por todas as células nucleadas. Portanto, mesmo em processos infecciosos, a sua concentração sérica depende fundamentalmente da TFG e não é influenciada pela massa muscular, estado nutricional ou febre (SHLIPAK; PRAUGHT; SARNAK, 2006; PRATES et al., 2007). Devido à sua pequena massa molecular e à sua carga positiva em pH fisiológico, a cistatina C é livremente filtrada pelos glomérulos, sendo quase totalmente removida da circulação. Sua metabolização se dá nos túbulos proximais distais, onde ocorre reabsorção quase completa (99%) pelas células tubulares, e posterior degradação enzimática dentro dos lisossomos (ROYAKKERS et al., 2011). Assim, em condições fisiológicas, a concentração urinária de cistatina C é mínima (SCHWARTZ; FURTH, 2007).

A enzima gama glutamiltransferase (GGT) urinária, também pode ser citada nesta conjuntura, visto que, quando presente na urina indica injúria, usualmente associada à lesão epitelial tubular ou necrose (FREITAS; VEADO; CARREGARO, 2014).

A GGT é considerada uma enzima de indução, sendo sintetizada por quase todos os tecidos corporais, com maior concentração no pâncreas e rins. O que se observa normalmente é a elevação das concentrações de GGT, sem que as concentrações de ureia e creatinina, importantes marcadores da função renal estejam alteradas. Portanto, a GGT urinária pode ser um marcador útil na monitoração da descontinuidade de agressões e/ou das possíveis causas de lesões irreversíveis (FAGLIARI et al., 1996; LASSEN, 2007).

O aumento da excreção de proteínas, denominado proteinúria também tem valor diagnóstico ou prognóstico na detecção inicial e confirmação de doença renal, (FORTERRE; RAILA; SCHWEIGERT, 2004; PRICE; NEWALL; BOYD, 2005; ROSSI et al., 2012).

A proteinúria é uma análise semi-quantitativa, que é realizada por meio de tiras reagentes, o resultado deve ser interpretado juntamente com a densidade urinária. A

proteinúria pode ser decorrente de glomerulonefropatia, defeitos de transporte tubular, inflamação ou infecção do trato urinário (GONZALEZ; SILVA, 2006).

Considerada uma enzima de indução, a fosfatase alcalina (FA) é amplamente distribuída no organismo, sintetizada no fígado, osteoblastos, epitélios intestinal e renal e na placenta. Porém os hepatócitos respondem pela maior parte da atividade sérica normal dessa enzima. O aumento da produção de FA e de sua concentração sérica pode ser notado em casos de maior atividade osteoblástica, colesterol, indução por drogas e doenças crônicas, inclusive neoplasias. Nos distúrbios hepáticos detecta-se o aumento de sua atividade no soro em decorrência de colesterol tanto por obstrução dos canalículos intra como extrabiliares (LASSEN, 2007).

Os eletrólitos sódio (Na^+), potássio (K^+) e cloreto (Cl^-) também estão intrinsecamente relacionados com o desequilíbrio eletrolítico. O Na^+ pode alterar seu padrão de normalidade, quando os distúrbios afetarem a função tubular renal, resultando em um aumento patológico da taxa de Na filtrado, mas não reabsorvido.

A hiponatremia é o resultado de anormalidades no equilíbrio hídrico, geralmente um defeito na excreção renal de água, ou seja, pode ocorrer a perda de soluto por ação primária da aldosterona, sendo excretado na urina como sal e em pequenas quantidades nas fezes e no suor ou pela retenção de água, situações que podem levar a concentração sérica de Ca^{2+} abaixo do limite inferior de referência para a espécie (GONZÁLEZ; SILVA, 2006; ELLIOTT; DELANEY; NELSON, 2010).

A hipernatremia desenvolve-se quando há perda de fluidos hipotônicos, condição que ocorre na DRC e IRA poliúrica (DELANEY; NELSON, 2015).

O K^+ é o principal cátion intracelular das células de mamíferos, aproximadamente 95% do conteúdo total de potássio corporal estão localizados nas células, com o músculo contendo de 60 a 75% desse elemento. O rim é o principal regulador do equilíbrio de K^+ , sendo filtrado nos glomérulos e cerca de 70% da carga filtrada reabsorvidos isosmoticamente com água e sódio nos túbulos proximais (MORAIS; DiBARTOLA, 2007).

Em geral a concentração do Cl^- está inversamente relacionada com a do ânion bicarbonato (HCO_3^-) e diretamente relacionada com a de íon Na^+ . As mudanças de Cl^- estão reguladas principalmente pela sua excreção no rim (GONZÁLEZ; SILVA, 2006).

Outros eletrólitos que também são importantes na fisiologia renal, são o Ca^{2+} e o fósforo (P), o primeiro possui função estrutural do sistema esquelético, além de participar ativamente do controle da entrada de íons através das membranas celulares, ativação de funções secretoras e de contração celular e também apresentar-se como co-fator em reações

do metabolismo intermediário. O desequilíbrio no metabolismo do Ca²⁺ resulta-se alteração da transmissão de estímulos nervosos sinápticos, da contração de músculo esquelético e função do músculo cardíaco. Aproximadamente 50% do Ca²⁺ total do sangue estão ligados as proteínas plasmáticas (principalmente a albumina) (FETTMAN, 2007).

A hipercalcemia é o aumento na concentração plasmática de Ca²⁺ pode apresentar-se em 10% dos cães com IRC, elevação esta decorrente da diminuição da excreção renal, falha tubular renal em inativar o paratormônio, aumento do complexo cálcio-citrato e uma resposta exagerada à vitamina D, causando o aumento da absorção de Ca²⁺ nos intestinos (BUSH, 2004).

Porém a hipocalcemia também pode estar presente em casos de IR, ou seja, nesta condição há uma retenção de fosfóro, logo há um aumento na massa total de minerais e a excreção de cálcio por sua vez será aumentada, a ativação da vitamina D, também pode estar reduzida, pois esta é dependente da função renal, levando a uma menor absorção intestinal de Ca²⁺ e menor mobilização óssea (MEYER; COLES; RICH, 1995).

O outro eletrólito é o P que pode apresentar aumento na circulação sanguínea quando ocorre DRC, principalmente nos estágios mais avançados da doença (POLZIN; OSBORNE; ROSS, 2008). Segundo estudo realizado por NASSAR (2000), a presença de hiperfosfatemia foi constatada em 87% dos casos e o aumento da concentração sérica de paratormônio (PTH) em 93%, observando-se correlação positiva entre os dois parâmetros.

A elevação da concentração sérica de P parece estimular diretamente a secreção do PTH e assim, desenvolve-se o hiperparatiroidismo secundário renal na tentativa de regular o desequilíbrio do metabolismo de Ca²⁺ e P.

Uma das ações do PTH é de mobilizar o Ca²⁺ dos ossos (promovendo a reabsorção óssea), o que resulta em picos de hipercalcemia, a qual favorece a deposição de sais de cálcio, em tecidos moles (calcificação metastática) e principalmente nos rins, ocasionando perda ainda maior de néfrons (OSBORNE; STEVENS; LULICH, 1995; VANHOLDER; SMET, 1999; DHONT et al., 2000).

Além disso, a perda de tecido renal funcional leva a uma diminuição da atividade da vitamina D, pela enzima 1- α -hidroxilase presente nos rins, o que também é um fator estimulador da secreção de PTH (BROWN et al., 1997).

A análise hematológica compreende o estudo do eritrograma, leucograma e plaquetograma, sendo uma ferramenta que pode auxiliar no diagnóstico das alterações ocorridas devido a doença renal, em estágios iniciais as alteração são sutis, mas com a evolução da doença e com os desequilíbrios ocorrendo de forma persistente, é possível

verificar a presença de uma anemia, que resulta principalmente da redução na produção de eritropoietina (EPO) pela massa diminuída de fibroblastos peritubulares do córtex renal funcional (CANZIANI et al., 2006). A anemia nestes casos é progressiva, classificada como normocítica, normocrômica e não regenerativa (ABENSUR, 2010).

As toxinas urêmicas produzidas na DRC podem afetar os leucócitos, em especial, os neutrófilos, tornando estes mais susceptíveis à apoptose celular (JABER et al., 2001).

A urinálise pode ser dividida em três partes: propriedades físicas, onde avalia-se a aparência, densidade específica, exame químico: pH, proteínas, glicose, cetonas, bilirrubina, sangue oculto e análise do sedimento urinário, avaliação das células, cilindros e cristais (FETTMAN; REBAR, 2007). A gravidade específica da urina ou densidade é um indicador útil da habilidade de concentração urinária, a isostenúria (1,008 a 1012) ocorre quando há lesões que afetam mais de 66% do parênquima renal (insuficiência renal), sendo que a azotemia não ocorre até que mais de 75% dos rins tenham sido lesionados (GONZALEZ; SILVA, 2006).

Referências

- ABENSUR, H. Deficiência de ferro na doença renal crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.32, suplemento 2, p.84-88, 2010.
- ADAMS, L.G. Insuficiência renal crônica. In: TILLEY, L.P.; SMITH JR, F.W.K. **Consulta veterinária em 5 minutos: espécies canina e felina**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2008. p. 852-853.
- BRAUN, J.P; LEFEBVRE, H.P. Kidney function and damage. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**, 6.ed. London: Elsevier, 2008. p.485–528.

BROWN, S.A.; CROWELL, W. A.; BROWN J.A.; BARSANTI J.A.; FINCO, D.R. Pathophysiology and management of progressive renal disease. **Veterinary Journal**, v. 154, n.2, p.93-109, 1997.

BUSH, B.M. **Interpretação de resultados laboratoriais para clínico de pequenos animais.** São Paulo: Roca, 2004. p.274-276.

CANZIANI, M. E. F.; BASTOS, M. G.; BREGMAN, R.; PECOITS-FILHO, R.; TOMIYAMA, C.; DRAIBE, S. A.; CARMO, W. B.; RIELLA, M. C.; ROMÃO-JUNIOR, J. E.; ABENSUR, H. Deficiência de ferro e anemia na doença renal crônica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 28, n. 2, p. 86-90, 2006.

COWGILL, L.D. Insuficiência renal aguda. In: TILLEY, L.P.; SMITH JR, F.W.K. **Consulta veterinária em 5 minutos: espécies canina e felina.** 3. ed. São Paulo: Manole, 2008. p.850-851.

DELANEY, S.J.; NELSON, R.W. Desordens eletrolíticas e metabólicas. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais.** 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p.863-894.

DHONT, A.; VANHOLDER, R.; BIESEN, V.W; LAMIERE, N. The removal of uremic toxins. **Kidney International**, v.76, suplemento, p.47-59, 2000.

DiBARTOLA, S.P. Fisiologia renal aplicada. In: DiBARTOLA, S.P. **Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico na clínica de pequenos animais.** 3. ed. São Paulo: Rocca, 2007. p.26-42.

DiBARTOLA, S.P.; WESTROPP, J.L. Insuficiência renal aguda e crônica. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais.** 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p.663-678.

DUNLOP, M.M.; SANCHEZ-VAZQUEZ, M.J.; FREEMAN, K.P.; GIBSON, G.; SACCHINI, F.; LEWIS, F. Determination of serum biochemistry reference intervals in a large sample of adult greyhounds. **Journal Small Animal Practice**, v.52, n.1, p.4–10, 2011.

ELLENPORT, C. R. Aparelho urogenital. In: GETTY, R.; SISSON, S.; GROSSMAN, J.D. **The anatomy of the domestic animals**, 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. p.1481-1485.

ELLIOTT, D.A.; DELANEY, S.J.; NELSON, R.W. Distúrbios eletrolíticos. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 4. ed. Rio de Janeiro:Elsevier, 2010. p. 866-883.

FAGLIARI, J.J.; OLIVEIRA, E.C.; PEGORER, M.F.; FERRANTE JUNIOR, L.C.; CAMPOS FILHO, E. Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividade de gammaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recentemente nascidos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.48, n.2, p.105-112, 1996.

FETTMAN, M.J. Metabolismo de fluidos e eletrólitos. In: THRALL, M.A.; BAKEE, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**, São Paulo: Rocca, 2007. p.311-334.

FETTMAN, M.J.; REBAR, A. Avaliação laboratorial da função renal. In: THRALL, M.A.; BAKEE, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**, São Paulo: Rocca, 2007. p.285-310.

FORTERRE, S.; RAILA, J.; SCHWEIGERT, F. J. Protein profiling of urine from dogs with renal disease using ProteinChip analysis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 16, n. 4, p. 271-277, 2004.

FREITAS, G. C.; VEADO, J. C. C.; CARREGARO, A. B. Teste de avaliação de injúria renal precoce em cães e gatos, **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 411-426, 2014.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2006. 364p

GRAUER, G.F. Insuficiência renal aguda e doença renal crônica. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G.; GRAUER, G. F.; HAWKINS, E.C.; JOHNSON, C.A.; LAPPIN, M.R.; SCOTT-MONCRIEFF, J.C.; TAYLOR, S.M.; WARE, W.A.; WATSON, P.J.; WILLARD, M.D. **Medicina interna de pequenos animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 648-662.

HOKAMP, J.A.; NABILITY, M.B. Renal biomarkers in domestic species. **Veterinary Clinical Pathology**, v.45, n.1, p.28-56, 2016.

IRIS - Staging of Chronic Kidney disease. Disponível: www.iris-kidney.com/pdf/staging-of-kd.pdf#page=6. Acesso em: 07 abr. 2016.

JABER, B. L.; CENDOROGLO, M.; BALAKRISHNAN, V. S.; PERIANAYAGAM, M.C.; KING, A.J.; PEREIRA, B.J. Apoptosis of leukocytes: basic concepts and implications in uremia. **Kidney International**, v.78, suplemento, p. 197-205, 2001.

LASSEN, E.D. Avaliação laboratorial do fígado. In: THRALL, M.A.; BAKEE, D.C.; CAMPBELL, T,W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.;

WEISER, G. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**, São Paulo: Rocca, 2007, p.335-345.

MÉDAILLE, C.; TRUMEL, C.; CONCORDET, D.; VERGEZ, F.; BRAUN, J.P. Comparison of plasma/serum urea and creatinine concentrations in the dog: a 5-year retrospective study in a commercial veterinary clinical pathology laboratory. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v.51, n.3, p.119-123, 2004.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. **Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995, p. 91-96.

MISBACH, C.; CHETBOUL, V.; CONCORDET, D.; MÉDAILLE, C.; GRUET, P.; SPERANZA, C.; HOFFMANN, A.C.; ROCHA, A.; BALOUKA, D.; PETIT, A.M.; TREHIOU-SECHI, E.; POUCHELON, J.L.; LEFEBVRE, H.P. Basal plasma concentrations of routine variables and packed cell volume in clinically healthy adult small-sized dogs: effect of breed, body weight, age, and gender, and establishment of reference intervals. **Veterinary Clinical Pathology**, v.43, n.3, 381-380, 2014.

MIYAGAWA, Y.; TAKEMURA, N.; HIROSE, H. Assessments of factors that affect glomerular filtration rate and indirect markers of renal function in dogs and cats. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.72, n. 9, p.1129–1136, 2010.

MORAIS, H. A.; DiBARTOLA, S.P. Distúrbios relacionados ao potássio: hipo e hipercalemia. In: DiBARTOLA, S.P. **Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio acido-básico na clínica de pequenos animais**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2007: p. 87-114.

NASSAR, P.L. **Avaliação da concentração sérica de paratormônio intacto (PTHi), pelo método imunofluorométrico, em cães hígidos e cães com insuficiência renal crônica em hiperazotemia**. 93 f. 2000. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

OSBORNE, C. A.; STEVENS, J.B.; LULICH, J.P. A clinician's analysis of urinalysis In: OSBORNE, C. A.; FINCO, D.R. **Canine and feline nephrology and urology**, 2.ed. Philadelphia: Willimas & Willkins, 1995. p.136- 205.

POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A.; ROSS, S. Chronic renal failure. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine**. 6. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2008. p. 1756-1785.

PRATES, A. B.; AMARAL, F. B.; VACARO, M. Z.; GROSS, J. L.; CAMARGO, J. L.; SILVEIRO, S. P. Avaliação da filtração glomerular através da medida da cistatina C sérica. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 29, n. 1, p. 48-55, 2007.

PRICE, C. P.; NEWALL, R. G.; BOYD, J. C. Use of protein:creatinine ratio measurements on random urine samples for prediction of significant proteinuria: A systematic. **Clinical Chemistry**, v. 51, n. 9, p. 1-11, 2005.

RØRTVEIT, R.; SAEVIK, B.K.; EGGERTSDÓTTIR, A.V.; SKANCKE, E.; LINGAAS, F.; THORESEN, S.I.; JANSEN, J.H. Age-related changes in hematologic and serum biochemical variables in dogs aged 16-60 days. **Veterinary Clinical Pathology**, v.44, n.1, p.47–57, 2015.

ROSSI, G.; GIORI, L.; CAMPAGNOLA, S.; ZATELLI, A.; ZINI, E.; PALTRINIERI, S. Evaluation of factors that affect analytic variability of urine protein-to creatinine ratio determination in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 6, p. 779-788, 2012.

ROSSET, E.; RANNOU, B.; CASSELEUX, G.; CHALVET-MONFRAY, K.; BUFF, S. Age-related changes in biochemical and hematologic variables in Borzoi and Beagle puppies from birth to 8 weeks. **Veterinary Clinical Pathology**, v.41, n.2, p.272–282, 2012.

STEVENS, L.A.; CORESH, J.; GREENE, T.; LEVEY, A.S. Assessing kidney function - measured and estimated glomerular filtration rate. New **England Journal of Medicine**, v.354, n.8, p.2473-83, 2006.

ROYAKKERS, A. A. N. M.; KOREVAAR, J. C.; VAN SUIJLEN, J. D. E.; HOFSTRA, L. S.; KUIPER, M. A.; SPRONK, P. E.; SCHULTZ, M. J.; BOUMAN, C. S. C. Serum and urine cystatin C are poor biomarkers for acute kidney injury and renal replacement therapy. **Intensive Care Medicine**, v. 37, n.3, p. 493-501, 2011.

SCHWARTZ, G. J.; FURTH, S. L. Glomerular filtration rate measurement and estimation in chronic kidney disease. **Pediatric Nephrology**, v. 22, n. 11, p. 1839-48, 2007.

SHLIPAK, M. G.; PRAUGHT, M. L.; SARNAK, M. J. Update on cystatin C: new insights into the importance of mild kidney dysfunction. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 15, n. 3, p. 270-275, 2006.

VANHOLDER, R.; SMET, R. Pathophysiologic effect of uremic retention solutes. **Journal of the American Society Neprholoy**, n.10, n.8, p.1815-1823, 1999.

VERLANDER, J.W. Filtração glomerular. In: CUNNINGHAM, J.G.; KLEIN, B.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.531-538.

ZALDÍVAR-LÓPEZ, S.; MARÍN, L.M.; IAZBIK, M.C.; WESTENDORF-STINGLE, N.; HENSLEY, S.; COUTO, C.G. Clinical pathology of greyhounds and other sighthounds. **Veterinary Clinical Pathology**, v.40, n.4, p.414–425, 2011.

AVALIAÇÃO DA CISTATINA C SÉRICA COMO BIOMARCADOR PRECOCE DA DISFUNÇÃO RENAL EM CÃES

Resumo

A cistatina C é uma proteína catiônica não glicosilada, produzida num ritmo constante por todas as células nucleadas e presente nos líquidos biológicos, sendo livremente filtrada pelos glomérulos e quase completamente catabolizada no túbulo proximal, trata-se de um promissor marcador de disfunção renal precoce. Objetivou-se determinar e comparar a concentração sérica do biomarcador cistatina C em 86 cães. Os animais foram divididos em quatro grupos de acordo com níveis de creatinina sérica: G1 - até 1,4 mg/dL (23 animais), G2 - 1,5-2,0 mg/dL (16 animais), G3 - 2,1-5,0 mg/dL (24 animais) e G4 - acima de 5,1 mg/dL (23 animais). Realizou-se a mensuração dos parâmetros utilizados na rotina clínica de pequenos animais como ureia, gama glutamiltransferase urinária, proteinúria, fosfatase alcalina, sódio, potássio, cloreto, cálcio, fósforo, relação cálcio/fósforo e cistatina C. Houve diferença estatística para ureia, proteinúria, fósforo, relação cálcio/fósforo, potássio e cistatina C, entretanto, os demais não apresentaram diferença estatística. Baseado nos resultados obtidos podemos inferir que a cistatina C não foi um bom indicador precoce de doença renal em cães.

Palavras-chave: bioquímica sérica, cães, doença renal, eletrólitos, marcador precoce.

EVALUATION OF SERUM CYSTATIN C MARKER EARLY RENAL DYSFUNCTION IN DOGS

Abstract

Cystatin C is a cationic protein is not glycosylated, produced a steady state for all nucleated and present in biological fluids cells being freely filtered by the glomeruli and almost completely catabolized in the proximal tubule, it is a promising early renal dysfunction marker. This study aimed to determine and compare the serum concentration of cystatin C biomarker in 86 dogs. The animals were divided into four groups according to serum creatinine levels: G1 - up. 1.4 mg / dL (23 animals), G2 - 1.5-2.0 mg / dL (16 animals), G3 - 2.1 to 5.0 mg / dL (24 animals) and G4 - above 5.1 mg / dL (23 animals). There was the measurement of the parameters used in the clinical routine of small animals such as urea, urinary gamma glutamyl transferase, proteinuria, alkaline phosphatase, sodium, potassium, chloride, calcium, phosphorus, calcium/phosphorus ratio and cystatin C. There was no statistical difference for urea, proteinuria, phosphorus, calcium/phosphorus, potassium and cystatin C, however, the other showed no statistical difference. Based on the results we can infer that cystatin C was not a good early indicator of kidney disease in dogs.

Keywords: biochemistry serum, dogs, kidney disease, electrolyte, early marker.

Introdução

A doença renal (DR) frequentemente progride sem ser detectada, pois os danos renais não causam dor e a sintomatologia é sutil e inespecífica, passando despercebida pelos proprietários, logo o diagnóstico ocorre em estágios tardios, quando a doença já está avançada.

A ureia e a creatinina são parâmetros sanguíneos utilizados na avaliação da filtração glomerular (FG), sendo que grande parte da ureia produzida pelo organismo é excretada pela urina, logo se há redução deste mecanismo, a concentração sérica deste analito estará elevada. A creatinina é filtrada pelo glomérulo, não reabsorvida pelos túbulos renais e pode ter a síntese influenciada pela massa muscular, idade, exercícios prolongados. Mantem-se dentro dos valores de referência até que 75% ou mais dos néfrons tornem-se sem função, podendo ser considerada marcador tardio e de baixa sensibilidade⁽¹⁻³⁾.

Dentro deste contexto os exames laboratoriais para detecção precoce de DR são necessários, evitando o agravamento do quadro clínico do animal e desta forma colaborando para prognóstico favorável. Os estudos apontam para a cistatina C, como um potencial marcador precoce de DR, porém ainda são necessárias algumas investigações⁽⁴⁻⁷⁾.

Em medicina veterinária a primeira validação desta proteína em cães, ocorreu nos estudos conduzidos por Jensen e colaboradores⁽⁸⁾ eles concluíram que a cistatina C, foi maior nos grupos de cães com insuficiência renal (IR) com sintomatologia clínica, em comparação com cães saudáveis e cães portadores de outras patologias não renais.

A enzima gama glutamiltransferase (GGT), quando presente na urina esta usualmente associada à lesão epitelial tubular ou necrose, sendo considerada não só um marcador precoce de lesão renal, mas também um marcador persistente da mesma^(9,10).

Em relação à proteinúria para Forterre e colaboradores⁽¹¹⁾ e Price e colaboradores⁽¹²⁾ a detecção de um aumento na excreção de proteínas tem valor diagnóstico ou prognóstico na detecção inicial e confirmação de DR, logo a quantificação da proteinúria pode ter valor considerável na avaliação dos agentes terapêuticos e progressão da doença.

A fosfatase alcalina (FA) é uma enzima de indução, sendo que o aumento da sua atividade sérica é maior quando há atividade osteoblástica, mas também pode estar associada colestase em cães e ao uso de medicamentos⁽¹³⁾.

O sódio (Na^+), potássio (K^+) e cloreto (Cl^-), também são úteis na monitorização do paciente renal. Durante o processo de evolução da doença renal crônica (DRC), a fim de manter o

balanço eletrolítico, os túbulos renais diminuem a reabsorção de Na^+ , aumentando gradativamente sua concentração na urina⁽¹⁴⁾.

Da mesma forma o K^+ que é o cátion intracelular mais abundante do organismo, diante de situações patológicas que interfiram com a absorção ou reabsorção no rim, manifesta-se levando a quadros de hipocalemia⁽¹⁵⁾.

A determinação do Cl^- é utilizado na avaliação de distúrbios ácido-básicos, em geral sua concentração pode ser alterada em resposta a variação de outros eletrólitos, a hipocloremia pode ser observada na acidose metabólica por acúmulo ácidos orgânicos, o que ocorre em casos de DR⁽¹⁵⁾.

A mensuração dos níveis de cálcio (Ca^{2+}) e fósforo (P) e da relação Ca^{2+}/P , também são importantes, a IR produz um quadro denominado hiperfosfatemia. O Ca^{2+} pode sofrer diminuição dos níveis séricos, o que favorece a precipitação e a deposição de fosfato de cálcio em tecidos moles, principalmente nas células renais, nas membranas basais tubular e glomerular. A diminuição da relação Ca^{2+}/P , pode levar ao hiperparatireoidismo secundário renal (HSR), que é uma tentativa de equilíbrio destes minerais, porém como a função renal está comprometida, o que ocorre é a progressão da doença renal⁽¹⁵⁾.

Sendo assim, a importância deste estudo consiste em analisar a viabilidade da cistatina C como marcador precoce de função renal em grupos de cães divididos de acordo com níveis de creatinina sérica e avaliar os parâmetros usuais utilizados para diagnóstico de disfunção renal.

Material e métodos

Utilizou-se neste estudo 86 cães oriundos da rotina clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (HOVET-UFU).

Os animais foram divididos em quatro grupos de acordo com níveis de creatinina sérica: G1 (23 animais) até 1,4 mg/dL; G2 (16 animais) 1,5-2,0 mg/dL; G3 (24 animais) 2,1-5,0 mg/dL e G4 (23 animais) creatinina acima de 5,1 mg/dL.

A obtenção das amostras de sangue foi realizada por punção das veias cefálica, jugular, femoral ou safena lateral, em cada coleta obteve-se cinco mililitros (mL) de sangue de cada animal acondicionados em tubo a vácuo sem anticoagulante (BD Vacutainer®). As amostras de urina foram coletadas por cateterismo vesical, cistocentese ou micção natural, aproximadamente 3 a 7 mL, sendo acondicionada em recipiente estéril⁽¹⁶⁾. As amostras sanguíneas e urinárias foram encaminhadas ao Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, o sangue foi centrifugado a 720g durante cinco minutos

para a obtenção do soro e determinação imediata das concentrações séricas de creatinina, ureia, Ca²⁺, P e FA. Uma alíquota foi separada e armazenada em freezer -80 °C, por período máximo de 60 dias, para mensuração da cistatina C, Na⁺, Cl⁻ e K⁺.

Para a determinação da concentração de GGT urinária utilizou-se aproximadamente 2 mL da amostra de urina, antes da centrifugação e acondicionados em eppendorf® e imediatamente analisada, os resultados obtidos foram corrigidos pela formula proposta por De Schepper e colaboradores ⁽¹⁷⁾, X= Yx25/Z, onde X= concentração da GGT urinária calculada, Y= concentração da GGT urinária da amostra, Z= últimos dois dígitos da densidade urinaria da amostra, a qual foi aferida com uso do refratômetro. Em seguida avaliou-se a proteinúria através de tiras reativas Combur ¹⁰ Teste M, seguindo as normas do fabricante.

Foram determinadas em cada amostra as concentrações séricas da creatinina, ureia (método enzimático cinético UV), cistatina C (método imunoturbidimetria), gama glutamiltransferase (método szasz modificado) e fosfatase alcalina (método cinético optimisado), cálcio (método CPC-cresolftaleina complexona) e fósforo (método cinético UV IFCC), em analisador automático multicanal ChemWell (Awareness Technology Inc., Palm City, FL, USA), previamente calibrado com calibra H e aferido com soro controle universal qualitrol H. Para a calibração da cistatina C, utilizou-se calibra e qualitrol plus cistatina C, Kits comerciais da Labtest Diagnóstica[®]). O valor da relação Ca/P foi calculada.

As concentrações de Na⁺, K⁺ e Cl⁻ foram determinadas pelo método eletrodo de íons seletivos, em analisador Easylyte Plus (Medica Corporation, Bedford-USA).

Utilizou-se análise de tabela cruzada entre grupos e elementos codificados, seguido do teste qui-quadrado (χ^2) de independência, adotou-se significância de 5%. Os procedimentos estatísticos foram realizados no programa SPSS (IBM).

O projeto foi aprovado pelo CEUA (Comitê de Ética na Utilização de Animais), protocolo nº 028/15.

Resultados

Na Tabela 1, estão listadas as variáveis utilizadas na avaliação da função renal, em relação à ureia no G1 esta foi estatisticamente diferente de G2, G3 e G4, apresentando nestes grupos frequência maior de animais acima dos valores de referência para a espécie canina.

Na avaliação da frequência da cistatina C, o G1 diferiu estatisticamente do G4, o G2 apresentou diferença entre G3 e G4, enquanto que G3 apresentou diferença G2, o G4 apresentou diferença significativa entre G1 e G2, apenas em G4 observou-se que a frequência

de animais foi sutilmente maior para aqueles que exibiram valor acima da média estabelecida neste experimento. A GGT urinária não apresentou diferença estatística e todos os grupos apresentaram comportamento similar, com a maior frequência de animais agrupada dentro dos limites desejáveis para a espécie.

A proteinúria apresentou diferença entre G1 e G2 e G1 e G3, em todos os grupos a predominância de frequência foi para valores acima de ($> 0,30 \text{ g/L}$), que pode ser interpretado como 1+ (cruz).

A atividade sérica da FA não apresentou diferença estatística entre os grupos e todos situaram-se em maior frequência dentro dos valores desejáveis para a espécie.

Tabela 1. Frequência de cães com valores desejável e elevado distribuídos em grupos de acordo com níveis de creatinina sérica.

	GRUPO 1 Creatinina (<1,4 mg/dL) (N=23)	GRUPO 2 Creatinina (1,5-2,0 mg/dL) (N=16)	GRUPO 3 Creatinina (2,1-5,0 mg/dL) (N=24)	GRUPO 4 Creatinina (> 5,1 mg/dL) (N=23)	
VARIÁVEL	DESEJÁVEL* ELEVADO**	FREQUÊNCIA (%)	FREQUÊNCIA (%)	FREQUÊNCIA (%)	FREQUÊNCIA (%)
Ureia (mg/dL)	≤60*	19(82,6) ^a	2(12,5) ^b	2(8,3) ^b	0(0,0) ^b
	>60**	4(17,4) ^a	14(87,5) ^b	22(91,7) ^b	23(100,0) ^b
Cistatina C (mg/L)	≤0,73*	21(91,3) ^{a,b}	16(100,0) ^b	15(62,5) ^{a,c}	11(47,8) ^c
	>0,73**	2(8,7) ^{a,b}	0(0,0) ^b	9(37,5) ^{a,c}	12(52,2) ^c
GGT urinária (U/L)	≤92*	19(82,6) ^a	10(62,5) ^a	12(50,0) ^a	18(78,3) ^a
	>92**	4(17,4) ^a	6(37,5) ^a	12(50,0) ^a	5(21,7) ^a
Proteinúria (g/L)	≤0,30*	11(47,8) ^a	1(93,7) ^b	2(8,3) ^b	6(26,1) ^{a,b}
	>0,30**	12(52,2) ^a	15(6,3) ^b	22(91,7) ^b	17(73,9) ^{a,b}
FA (U/L)	≤156*	19(82,6) ^a	11(68,7) ^a	15(62,5) ^a	15(65,2) ^a
	>156**	4(17,4) ^a	5(31,3) ^a	9(37,5) ^a	8(34,8) ^a

(a,b,c) frequências nas linhas seguidas por letras diferentes, são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).Intervalo de referência (ureia e FA) estabelecido por Kaneko e colaboradores⁽¹⁸⁾

Na Tabela 2, a concentração sérica de Na^+ não apresentou diferença estatística entre os grupos, sendo que a maior frequência situou-se dentro dos limites desejáveis. Em relação ao K^+ apenas o G4 foi diferente estatisticamente do G1 e G2. O Cl^- não apresentou diferença estatística entre os grupos e a maior frequência de animais apresentou valores acima do limite para a espécie.

A concentração sérica Ca^{2+} não apresentou diferença estatística e a maior frequência de animais ficou dentro dos padrões desejáveis para a espécie.

O G1 para a variável P diferiu estatisticamente do G3 e G4, o grupo 2 apresentou diferença em relação ao G4. Os grupos 2,3 e 4 nesta variável apresentaram a maior frequência de animais acima dos valores de referência, para esta variável.

Na relação Ca^{2+}/P , houve diferença entre o grupo 1 e o grupo 3 e 4, entre G2 e G4, G3 e G4. O comportamento apresentado pelo G1 e G2 evidencia que a maior frequência de animais concentrou na relação $>1:1$, enquanto que para o G3 e G4 a maior frequência foi verificada na relação $\leq 1:1$.

Tabela 2. Frequência de cães com valores desejável e elevado de acordo com os níveis de creatinina sérica.

	GRUPO 1 Creatinina (<1,4 mg/dL) (N=23)	GRUPO 2 Creatinina (1,5-2,0 mg/dL) (N=16)	GRUPO 3 Creatinina (2,1-5,0 mg/dL) (N=24)	GRUPO 4 Creatinina (> 5,1 mg/dL) (N=23)	
VARIÁVEL	DESEJÁVEL* ELEVADO**	FREQUÊNCIA (%)	FREQUÊNCIA (%)	FREQUÊNCIA (%)	FREQUÊNCIA (%)
Na ⁺ (mEq/L)	≤152,3*	14(82,6) ^a	12(75,0) ^a	16(66,7) ^a	12(52,2) ^a
	>152,3**	9(17,4) ^a	4(25,0) ^a	8(33,3) ^a	11(47,8) ^a
K ⁺ (mEq/L)	≤5,65*	18(78,3) ^a	14(87,5) ^a	18(75,0) ^{a,b}	11(47,8) ^b
	>5,65**	5(21,7) ^a	2(12,5) ^a	6(25,0) ^{a,b}	12(52,2) ^b
Cl ⁻ (mg/dL)	≤115*	7(69,6) ^a	6(37,5) ^a	10(41,7) ^a	10(43,5) ^a
	>115**	16(30,4) ^a	10(62,5) ^a	14(58,3) ^a	13(56,5) ^a
Ca ²⁺ (mg/dL)	≤11,3*	22(95,7) ^a	15(93,7) ^a	20(83,3) ^a	18(78,3) ^a
	>11,3**	1(4,3) ^a	1(6,3) ^a	4(16,7) ^a	5(21,7) ^a
P (mg/dL)	≤6,2*	19(82,6) ^a	7(43,7) ^{a,b}	4(16,7) ^{b,c}	0(0,0) ^c
	>6,2**	4(17,4) ^a	9(56,3) ^{a,b}	20(83,3) ^{b,c}	23(100,0) ^c
Rel Ca ²⁺ /P	≤1:1	4(17,4) ^a	5(31,3) ^{a,b}	13(54,2) ^b	19(82,6) ^c
	>1:1	19(82,6) ^a	11(68,7) ^{a,b}	11(45,8) ^b	4(17,4) ^c

(a,b,c) frequências nas linhas seguidas por letras diferentes, são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).Intervalo de referência (Ca e P) estabelecido por Kaneko e colaboradores⁽¹⁸⁾/Intervalo de referência (Na, K, Cl⁻) estabelecido por Meyer e Harvey⁽¹⁹⁾

Discussão

Os resultados deste estudo acerca da variável ureia, são semelhantes com o trabalho de Poppl e colaboradores⁽²⁰⁾, que ao avaliarem cães com transtornos renais, observaram que a ureia estava acima dos valores de referência nos animais em que a creatinina também demonstrou estar acima da normalidade. A ureia é o produto final do metabolismo proteico nos mamíferos, sendo seu nível avaliado em relação a quantidade de proteína na dieta e ao funcionamento renal, neste estudo níveis séricos elevados de ureia (>60 mg/dL), acompanham os níveis de creatinina sérica elevada, o que permite inferir que quando ocorre diminuição da FG, observa-se maior retenção da ureia, levando a um aumento na concentração sanguínea, o que pode ser traduzido como perda ou redução da função renal, demonstrando que os nefróns tornaram-se afacionais.

Neste estudo determinou-se a média da cistatina C (0,73 mg/L) a partir da mensuração desta proteína nos 86 animais, os resultados obtidos neste estudo não corroboram com Didem e colaboradores⁽²¹⁾, que avaliaram grupos distintos de cães infectados naturalmente por *Babesia canis vogeli*, *Ehrlichia canis* e um terceiro grupo de cães saudáveis, nos dois grupos de cães parasitados a creatinina apresentou discreto aumento e a ureia permaneceu dentro dos valores de referência (creatinina: 0,5-1,4 mg/dL e ureia: 16-54 mg/dL) enquanto que a cistatina C apresentou os seguintes valores 5,28 mg/L para o grupo *B.c. vogeli* e 3,02 mg/L para o grupo *E. canis*, os autores consideraram que a cistatina C foi um indicador precoce de injuria renal no grupos de cães envolvidos na duas patologias.

Braun e colaboradores⁽²²⁾, encontraram o limite de 1,3 mg/L para animais saudáveis, estudo este composto por 179 cães, neste trabalho observou ainda que os valores de cistatina C reduziam drasticamente logo após alimentação e permaneciam assim por até 9 horas. Esta pode ser uma das razões para os valores mais baixos para cistatina C nos cães deste experimento, visto que não era solicitado aos proprietários que realizassem o jejum dos animais.

Outro ponto importante é em relação à metodologia, Jonkisz e colaboradores⁽²³⁾ observaram diferença significativa nos resultados da cistatina C sérica para cães classificados de acordo com a Sociedade Internacional de interesse renal (IRIS)⁽²⁴⁾, quando mensurados através PETIA – particle-enhanced turbidimetric immunoassay e não observaram esta diferença quando utilizou PENIA – particle-enhanced nephelometric.

A partir dos dados apresentados pode se inferir que este biomarcador ainda deve ser base de mais pesquisas, pois são inúmeras as possíveis causas para divergências de resultados, dentre

elas as diferenças intrínsecas de cada animal, tempos de armazenagem, índice de atividade física e diferenças entre as raças⁽²⁵⁾.

O comportamento apresentado pela GGT urinária neste estudo não corresponde ao trabalho executado por Melchert e colaboradores⁽²⁶⁾, que concluíram ser esta enzima um indicador confiável e precoce da insuficiência renal aguda (IRA) induzida por gentamicina em cães, já que os resultados demonstraram que a atividade da enzima GGT urinária revelou elevação significativa após quatro dias da aplicação da gentamicina, enquanto que os níveis séricos de ureia e creatinina elevaram-se significativamente após sete dias.

Andrade e colaboradores⁽²⁷⁾, avaliaram a GGT urinária em cadelas com piometra e também consideraram ser um teste adequado para detecção de lesão tubular aguda, apresentando média e desvio padrão de $180,17 \pm 176,79$ U/L.

Porém os resultados obtidos por Matsuoka⁽²⁸⁾, demonstraram que a atividade desta enzima em cães e gatos com IR é considerada baixa, apresentando média e desvio padrão $19,4 \pm 10,3$ U/L, diferindo dos resultados obtidos por De Schepper e colaboradores⁽¹⁷⁾ que descrevem o intervalo de normalidade da atividade do GGT urinária entre 13-92 U/L.

Alguns motivos podem ser elencados para explicar a dinâmica deste resultado, dentre eles podemos citar, a referência utilizada, a não triagem dos animais, ou seja, dentro dos grupos haviam cães com pH urinário, tanto ácido, neutro e alcalino. Estudos relatam que o pH da amostra de urina pode interferir no resultado⁽²⁹⁾. A densidade urinária acima e abaixo dos valores de referência, também pode conforme Scott e Stockham⁽³⁰⁾, alterar os resultados, visto que esta variação reflete na concentração de todos os solutos diluídos na urina, tendo por consequência a influência direta nos valores da GGT urinária. A coleta foi mista (cateterismo vesical, cistocentese ou micção natural), a presença de atividade bacteriana na amostra de urina pode ser fator interferente nos valores da atividade da enzima estudada, pois segundo Beck e Sammons⁽³¹⁾, a presença dessa atividade bacteriana pode causar a diminuição na concentração da GGT na amostra de urina analisada.

Na análise da proteinúria realizada através de tiras reagentes, a presença de proteína na urina é um possível indicador de que o paciente apresenta uma redução da função renal, logo a sua mensuração auxilia na monitoração⁽³²⁻³⁵⁾.

De acordo com Harley e Langston⁽³⁶⁾, o aumento na excreção de proteína urinária correlaciona-se com a diminuição da sobrevivência do paciente e que a doença renal proteinúrica progride mais rapidamente do que quando não proteinúrica, logo reduzir a excreção urinária de proteínas retarda a progressão da doença renal e inflamação intersticial renal em seres humanos e cães.

A enzima FA também obteve maior frequência de valores dentro da normalidade em todos os grupos, isto ratifica que estes animais não chegaram ao estágio de aumento da atividade osteoblástica, pois se este comportamento fosse verificado haveria hipocalcemia acompanhada por hiperfosfatemia, aumento da FA. No entanto, o que foi verificado foi a apenas hiperfostatemia.

O Na^+ em todos os grupos apresentou o mesmo comportamento, mantendo-se dentro dos limites de referência para a espécie ($<152,3 \text{ mEq/L}$). Os resultados deste estudo corroboram com Martinez e Carvalho⁽³⁷⁾ que observaram cães com IRC em diferentes estágios apresentando média é desvio padrão $145,8 \pm 2,70 \text{ mEq/L}$.

O K^+ também apresentou um comportamento similar, ou seja, há um mecanismo tubular compensatório capaz de manter a homeostase do potássio em estágios iniciais e intermediários da IRC^(37,38).

O Cl^- é o ânion de maior concentração no fluido extracelular, neste estudo todos os grupos apresentaram uma hiperclorolemia ($> 115 \text{ mg/dL}$), o mecanismo para aumento ou diminuição deste eletrólito pode ser comparado com os descritos para Na^+ . Segundo Fettman⁽³⁹⁾, o cloreto é mais sensível na detecção de doença tubular renal que o aumento de Na^+ , porém esta informação é compatível com experimentos em seres humanos, nos animais ainda não há relatos, entretanto com os achados deste estudo, pode-se deduzir que os cães apresentam comportamento similar aos humanos.

O Ca^{2+} sérico em todos os grupos manteve-se dentro dos valores de referência, esta também foi a dinâmica encontrada por Rocha e colaboradores⁽⁴⁰⁾, em estudo com cães saudáveis e com doença renal. Possivelmente a hipocalcemia desenvolva-se em períodos mais tardios, e consequentemente o excesso de fósforo na corrente sanguínea estimule a síntese e secreção de PTH, que estimula a hiperplasia da glândula paratireóide, gerando HSR e hiperfosfatemia⁽⁴¹⁾.

O P sérico com o decorrer dos estágios direcionou-se para valores acima do padrão, a concentração sérica de fósforo depende da ingestão desse componente na dieta, da absorção intestinal, da translocação dos sítios intracelulares e da sua eliminação na urina, favorecendo o controle da sua concentração na corrente sanguínea⁽⁴²⁾.

Os resultados obtidos neste estudo, foram semelhantes aos encontrados por Rocha e colaboradores⁽⁴⁰⁾ e por Kojika e colaboradores⁽⁴³⁾, que detectaram hiperfosfatemia em 92% dos cães do grupo com DRC.

Na nefropatia crônica a excreção do íon fosfato diminui com a redução na capacidade de FG, consequentemente as concentrações séricas apresentam-se elevadas^(37, 44-46). Para a relação Ca^{2+}/P os grupos 3 e 4 apresentaram frequência de animais com valor $\leq 1:1$, fato que pode ser

explicado pela alteração decorrente da manutenção dos níveis de Ca^{2+} e da retenção de P que ocorre em pacientes renais, principalmente em estágios mais avançados da doença devido ao comprometimento deste órgão.

Conclusão

Há vários testes disponíveis e indicados para avaliação da função renal, porém até o momento, não há um biomarcador que individualmente forneça resultados livres de interferências. Com base nos resultados conclui-se que as concentrações séricas de creatinina, ureia, fósforo e a relação Ca^{2+}/P e proteinúria foram compatíveis com a evolução da doença renal. A concentração sérica do íon cloreto manifestou alteração precoce nos grupos estudados, o que nos leva a inferir que este pode ser um melhor avaliador dos distúrbios eletrolíticos quando comparado com o Na^+ e K^+ .

Referências

- 1.Fettman MJ. Metabolismo de Fluidos e Eletrólitos. In: Thrall MA, Bakee DC, Campbell TW, Denicola D, Fettman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G.Hematologia e Bioquímica clínica veterinária, São Paulo: Rocca, 2007; 311-334. Portuguese.
- 2.Grauer GF. Insuficiência Renal Aguda e Doença Renal Crônica. In: Nelson RW, Couto CG, Grauer GF, Hawkins EC, Johnson CA, Lappin MR, Scott-Moncrieff JC, Taylor SM, Ware WA, Watson PJ, Willard MD. Medicina interna de pequenos animais. 4nd ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010, p.648-662. Portuguese.
- 3.Cheew DJ, Dibartola SP, Schenck PA. Urologia e nefrologia do cão e do gato. 2nd ed. Rio de Janeiro:Elsevier; 2012. 524p. Portuguese.
- 4.Butler EA, Flynn FV. The occurrence of post-gamma protein in urine: a new protein abnormality. Journal of Clinical Pathology. 1961; 14(2):172–178.
- 5.Clausen J. Proteins in normal cerebrospinal fluid not found in serum. Experimental Biology and Medicine.1961;107(1): 170–172.
- 6.Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. 1985; 45(2):97–101.
- 7.Hokamp JA, Nabity MB. Renal Biomarcadores in Domestic Species. Veterinary Clinical Pathology. 2016; 45(1):28-56.
- 8.Jensen A.L, Bomholt M, Moe L. Preliminary evaluation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay (PETIA) for the determination of serum cystatin C-like immunoreactivity in dogs. Veterinary Clinical Pathology. 2001;30(2):86–90.
- 9.Greco DS, Turnwald GH, Adams R, Gossett KA, Kearney M, Casey H. Urinary gamma-glutamyl transpeptidase activity in dogs with gentamicin-induced nephrotoxicity. American Journal of Veterinary Research, 1985; 46(11):2332-2335.

- 10.Rivers BJ, Walter PA, O'brien TD, King VL, Polzin DJ. Evaluation of urine gamma-glutamyl transpeptidase-to-creatinine ratio as a diagnostic tool in an experimental model of aminoglycoside-induced acute renal failure in the dog. *Journal of the American Hospital Association*. 1996;32(4):323-336.
- 11.Forterre S, Raila J, Schweigert FJ. Protein profiling of urine from dogs with renal disease using Protein Chip analysis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2004;16(4):271-277.
- 12.Price CP, Newall RG, Boyd JC. Use of protein:creatinine ratio measurements on random urine samples for prediction of significant proteinuria: A systematic Clinical Chemistry. 2005; 51(9):1-11.
- 13.Lassen ED. Avaliação Laboratorial do Fígado. In: Thrall MA, Bakee DC, Campbell TW, Denicola D, Fettman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G. *Hematologia e Bioquímica clínica veterinária*. 1 st ed. São Paulo: Rocca, 2007, p.335-345. Portuguese.
- 14.Yu L, Burdmann E, Seguro AC, Helou CMB, Zatz R. Insuficiência Renal Aguda. In: Zatz R. *Fisiopatologia Renal*. 1 st ed. São Paulo: Atheneu; 2000. p.261-82. Portuguese.
- 15.González FHD, Silva SC. Perfil Bioquímico no Exercício. In: Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária. 2nd ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006. 364p. Portuguese.
- 16.Carvalho MB. Semiologia do Sistema Urinário. In: Feitosa FLF. *Semiologia veterinária – a arte do diagnóstico*. 2nd ed. São Paulo:Rocca; 2008. p.426-448. Portuguese.
- 17.De Schepper J, De Cock I, Capiau E. Urinary gamma-glutamiltransferase and degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. *Research in Veterinary Science*. 1989; 46(3):396-400.
- 18.Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5nd ed. New York:Academic Press, 1997. 932p.
- 19.Meyer DJ, Harvey JW. *Veterinary laboratory medicine: interpretation and diagnosis*. 3nd ed. Philadelphia:Sauders, 2004. 351p.
- 20.Poppl AG, González FHD, Silva SC. Alterações clinico-laboratoriais em transtornos renais de cães (*Canis familiaris*). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 2004;2(6):92-98.
- 21.Didem P, Kerem U, Nuran A, Murat -G, Gulay C. Assessment Of Renal Function Using Canine Cystatin-C Levels In Canine Babesiosis And Ehrlichiosis. *Acta Veterinária*. 2015;65(1): 56–65.
- 22.Braun JP, Perxachs A, Pechereau D, De La Farge F. Plasma cystatin C in the dog: reference values and variations with renal failure. *Comparative Clinical Pathology*. 2002;11: 44-49.
- 23.Jonkisz P, Kungl K, Sikorska A, Kurosad A, Nicpón J. Cystatin C analysis in the dog: a comparison of turbidimetric and nephelometric assay results. *Acta Veterinaria Hungarica*. 2010; 58(1): 59-67.
- 24.IRIS - Staging of Chronic Kidney disease. Disponível: www.iris-kidney.com/pdf/staging-of-kd.pdf#page=6. Acesso em: 07 abr. 2016.
- 25.Pagitz M, Frommlet F, Schwendenwein I. Evaluation of biological variance of cystatin C in comparison with other endogenous markers of glomerular filtration rate in healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2007;21(5):936-942.

- 26.Melchert A, Laposy CB, Motta YP, Garcia ACFZ. Gama-glutamil transpeptidase urinária como indicador de insuficiência renal aguda induzida por gentamicina em cães. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar.2007; 10(2):111-116.
- 27.Andrade MGMG, Leme FOP, Paes PRO, Gheller VA. Avaliação da gama-glutamiltransferase na urina de cadelas com piometra. Veterinária Notícias. 2014;20(1): 1-7.
- 28.Matsuoka S. Diagnostic significance of urinary enzymes in veterinary practice. Japanese Journal of Veterinary Research. 1995;43(1):70-71.
- 29.Bunker JD, Ponzio NM, Payton ME. Indices of urine N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and gamma-glutamyl transpeptidase activities in clinically normal adult dogs. American Journal of Veterinary Research. 2009;70(2):297–301.
- 30.Scott MA, Stockham SL. Urinary system. In: Fundamentals of veterinary clinical pathology. 1 st. Ed.Iowa: Iowa State Press, 2002. p. 277-336.
- 31.Beck PR, Sammons HG. A Stabilising Factor for γ -Glutamyl Transpeptidase in Urine. Clinica Chimica Acta.1975; 65(3):351-359.
- 32.Rossing P, Hommel E, Smidt UM, Parving HH. Reduction in albuminuria predicts a beneficial effect on diminishing the progression of human diabetic nephropathy during antihypertensive treatment. Diabetologia. 1994; 37(5): 511-516.
- 33.Apperloo AJ, De Zeew D, De Jong PE. Short term antiproteinuric response to antihypertensive treatment predicts long-term GFR decline in patients with non-diabetic renal disease. Kidney International Supplements. 1994; 45(1):174-178.
- 34.Abbate M, Zaja C, Remuzzi G. How does proteinuria cause progressive renal damage? Journal of the American Society of Nephrology. 2006; 17(11): 2974-2984.
- 35.Brantsma AH, Bakker SJ, De Zeeuw D, De Jong PE. Gansevoort, R. T. Extended prognostic value of urinary albumin excretion for cardiovascular events. Journal of the American Society of Nephrology. 2008;19(9):1785-1791.
- 36.Harley L, Langston C. Proteinuria in dogs and cats. Canadian Veterinary Journal. 2012; 53(6):6321-638.
- 37.Martínez PP, Carvalho MB. Participação da excreção renal de cálcio, fósforo, sódio e potássio na homeostase em cães saudáveis e cães com doença renal crônica. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2010;30(10):868-876.
- 38.Cheung DJ, Dibartola SP. Diagnóstico e fisiopatología da molestia renal. In: Ettinger SJ. Tratado de medicina interna Veterinária: moléstias do cão e gato. 3nd ed. São Paulo:Manole; 1992, p.1975-2046. Portuguese.
- 39.Fettman MJ, Rebar A.Avaliação laboratorial da função renal. In: Thrall MA, Baken DC, Campbell TW, Denicola D, Fettman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G. Hematologia e Bioquímica clínica veterinária, São Paulo:Rocca, 2007;485-528. Portuguese.
- 40.Rocha JR, Santos LM, Bocardo M, Ribeiro TB, Ribeiro TB, Godoy RCS, Sacco SR. Determinação das concentrações séricas de cálcio e fósforo de cães normais e com insuficiência renal crônica. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. 2009;7(13):1-7.

41. Block GA, Port FK. Re-Evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: recommendations for a change in management. American Journal of Kidney Diseases. 2000;35(6):1226-1237.
42. Kidder A, Chew D. Treatment options for hyperphosphatemia in feline CKD: What's out there? Journal of Feline Medicine and Surgery. 2009;11(11):913-924.
43. Kojika MM, Lustosa MD, Notomi MK, Wirthl VA, Mirandola RM, Hagiwara MK. Serum ionized calcium in dogs with chronic renal failure and metabolic acidosis. Veterinary Clinical Pathology. 2006; 35(4):441-445.
44. Brown SA, Crowell WA, Brown CA, Barsanti JA, Finco DR. Pathophysiology and management of progressive renal disease. Veterinary Journal. 1997;154(2):93-109.
45. Notomi MK, Kogika MM, Ikesaki JYH, Monteiro GPR, Marquesi ML. Estudo retrospectivo de casos de insuficiência renal crônica em cães no período de 1999 a 2002. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. 2006;43: 12-22.
46. Lazaretti P, Kogika MM, Hagiwara MK, Lustosa MD, Mirandola RMS. Concentração sérica de paratormônio intacto em cães com insuficiência renal crônica. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2006;58(4):489-494.

ACHADOS HEMATOLÓGICOS E NA URINÁLISE DE CÃES EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DOENÇA RENAL

Resumo

Objetivou-se determinar os valores hematológicos e elementos da urinálise como densidade, proteinúria, cilindros e pH em 86 cães. Os animais foram divididos em quatro estágios de acordo com níveis de creatinina sérica: I - até 1,4 mg/dL (23 animais), II - 1,5-2,0 mg/dL (16 animais), III- 2,1-5,0 mg/dL (24 animais) e IV - acima de 5,1 mg/dL (23 animais). Nos estágios III, IV verificou-se anemia do tipo normocítica normocrômica. O estágio II apresentou um quadro de leucocitose por neutrofilia, com desvio a esquerda regenerativo e o estágio III e IV desvio para esquerda degenerativo. A proteinúria apresentou diferença estatística para a classificação 2+ (1,0 g/L), entre o estágio I e II, II e IV. Apenas o cilindro granuloso apresentou diferença estatística na classificação 2+ entre o estágio II e III, e em 3+ entre o estágio I e III. O pH predominante foi ácido. Os valores hematológicos quando comparados com os estágios de creatinina sérica demonstraram que as alterações na hemoglobina, volume globular e hemácias tornam-se mais pronunciadas à medida que os valores de creatinina sérica elevam-se, este também é o comportamento dos neutrófilos em bastonetes e da proteinúria.

Palavras-chave: anemia, eritrograma, leucograma, proteinúria.

FINDINGS HEMATOLOGICAL AND URINALYSIS IN DOGS DIFFERENT STAGES KIDNEY DISEASE

Abstract

This study aimed to determine the hematological and urinalysis elements such as density, proteinuria, cylinders and pH in 86 dogs. The animals were divided into four stages according to serum creatinine levels: I - up to 1.4 mg/dL (23 animals), II - 1.5-2.0 mg/dL (16 animals), III from 2.1 to 5.0 mg/dL (24 animals) and IV - above 5.1 mg/dL (23 animals). In stage III, IV there was anemia normocytic normochromic type. Stage II had a leukocytosis frame by neutrophilia with a regenerative left shift and stage III and IV detour degenerative left. The density remained within the reference values all stages. Proteinuria showed statistical significance for the classification 2+ (1.0 g/L), between stage I and II, II and IV. Only the cylinder granular statistical difference in the classification 2+ between stage II and III, and 3+ between stage I and III. The prevailing pH was acid. The hematological values compared to serum creatinine stages showed the changes in hemoglobin and packed cell volume erythrocytes become more pronounced as serum creatinine values rise , this is also the behavior of neutrophils rods and proteinuria.

Keywords: anemia, erythrocyte, leukogram, proteinuria.

Introdução

O estudo do comportamento hematológico associado à doença renal (DR) pode fornecer informações importantes e colaborar para que medidas terapêuticas sejam instituídas precocemente, através dos distúrbios dos eritrócitos é possível avaliar a anemia, que é uma condição frequente em estágios avançados da doença renal crônica (DRC), geralmente classificada como normocítica normocrômica arregenerativa.

A anemia presente nesta fase pode ter origem na deficiência de eritropoietina (EPO), além de distúrbios nutricionais, diminuição da vida média dos eritrócitos, perdas sanguíneas, depressão da medula óssea, devido ao acúmulo de toxinas urêmicas⁽¹⁾.

A urinálise também é uma ferramenta importante, pois é capaz de sinalizar anormalidades presentes na urina, é um teste laboratorial simples, não invasivo e de baixo custo que pode rapidamente fornecer valiosas informações a respeito do trato urinário e de outros sistemas corporais⁽²⁾.

Dentro deste contexto é importante conhecer a fisiologia renal e sua extensa variedade de funções, dentre elas manutenção da homeostase, com a excreção e retenção de substâncias necessárias ao organismo, funções endócrinas essenciais ao controle da produção de eritrócitos pela medula óssea e regulação da pressão arterial sistêmica, dentre outras⁽³⁾.

A insuficiência renal aguda (IRA), geralmente decorre de agressão isquêmica ou tóxica aos rins, causando um declínio abrupto da função renal, resultando em desequilíbrio hídrico, eletrolítico, ácido-básico, e inabilidade em excretar compostos nitrogenados resultantes dos processos metabólicos orgânicos^(4,5).

Em contrapartida, a etiologia da DRC é difícil de ser determinada, desenvolve-se ao longo de meses ou anos, os sinais clínicos incluem perda de peso, polidipsia, poliúria, anemia dentre outros. Para um melhor diagnóstico e tratamento foi instituído pelo IRIS (International Renal Interest Society) um sistema de classificação baseada na concentração plasmática de creatinina e dividida em quatro estágios e após em subcategorias por meio da mensuração da proteinúria e pressão arterial⁽⁶⁾.

Diante deste quadro é necessário buscar conhecer as alterações que podem ser visualizadas tanto no hemograma como na urinálise, acerca da dinâmica do funcionamento renal em cães. Objetivou-se realizar um estudo da hematologia e da urinálise em cães, agrupados em estágios de acordo com as concentrações séricas de creatinina sérica.

Material e métodos

Neste estudo utilizou-se 86 cães provenientes da rotina clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (HOVET-UFU), os animais foram divididos em quatro estágios de acordo com os níveis de creatinina sérica, proposto por⁽⁶⁾ : I - creatinina até 1,4 mg/dL (23 animais), II - creatinina 1,5-2,0 mg/dL (16 animais), III - creatinina 2,1-5,0 mg/dL (24 animais) e IV - creatinina acima de 5,1 mg/dL (23 animais).

A coleta de sangue foi realizada por punção das veias cefálica, jugular, femoral ou safena lateral, sendo coletado três mililitros (mL) em tubo a vácuo (BD Vacutainer) contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético sal tripotássico (EDTA-K₃). As amostras de sangue foram imediatamente encaminhadas ao Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia e processadas.

Para hematologia utilizou-se o método eletrônico em contador automático de células sanguíneas ABC VET® (Animal Blood Counter). Confeccionou-se a extensão sanguínea de cada animal, com sangue proveniente de capilares marginais da orelha ou do próprio tubo para a realização da contagem diferencial dos leucócitos. As extensões sanguíneas foram coradas pelo método May-Grunwald-Giemsa⁽⁷⁾.

A coleta da urina foi realizada por cateterismo vesical ou por cistocentese ou micção natural, sendo colhido aproximadamente 5 a 7 mL em recipiente estéril⁽⁸⁾. Em seguida, foram encaminhadas ao Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, para avaliação da densidade urinária por refratometria, o pH e a proteinúria, por meio de tiras reativas Combur¹⁰ Teste M, conforme recomendações do fabricante.

A urina remanescente foi vertida em tubo cônico e centrifugado a 400g por 5 minutos em centrifuga Excelsa Baby I Modelo 206, em seguida descartou-se o sobrenadante e a gota restante foi colocada em uma lâmina para microscopia, sobre a qual foi colocada uma lamínula e em seguida procedeu-se a observação do sedimento urinário em microscópio Binocular Nova 106 em objetiva de 40x. Foi realizada análise descritiva (média e desvio padrão) dos dados, os mesmos não seguiram distribuição normal e foram analisados pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis para os estágios. Adotou-se significância de 5%. Os procedimentos estatísticos foram realizados no programa SPSS (IBM). O projeto foi aprovado pelo CEUA (Comitê de Ética na Utilização de Animais), protocolo nº 028/15.

Resultados

Na Tabela 1, os parâmetros hemoglobina e volume globular apresentaram o mesmo comportamento estatístico, onde a média e o desvio padrão do estágio I diferiram estatisticamente apenas do estágio III. Em relação às hemácias a diferença estatística ocorreu entre os estágios I e IV.

Nos estágios III, IV verificou-se anemia do tipo normocítica normocrômica. Para o volume globular médio (VGM), concentração de hemoglobina globular média (CHGM), red cell distribution width (RDW) ou amplitude de distribuição do volume dos eritrócitos (ADE) e plaquetas não houve diferença estatística entre os estágios I, II, III e IV. Os valores para plaquetas nos animais no estágio III foram ligeiramente inferiores aos da literatura confrontados.

O volume plaquetário médio (VPM) demonstrou diferença estatística entre os estágios II e IV, embora mantendo dentro dos limites fisiológicos nos quatro estágios.

Tabela 1. Média, desvios padrão (DP) dos parâmetros do eritrograma e plaquetograma de acordo com os níveis de creatinina sérica de cães atendidos na rotina clínica do HOVET – UFU, 2016.

Parâmetros	Estágio I <1,4 mg/dL	Estágio II 1,5 – 2,0 mg/dL	Estágio III 2,1 -5,0 mg/dL	Estágio IV >5,1 mg/dL	Valores de Referência⁽⁹⁾
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
Hemoglobina (g/dL)	12,78±3,23 ^a	12,17±3,92 ^{a,b}	11,38±3,30 ^b	11,03±3,40 ^{a,b}	12,00-18,00
Volume globular (%)	38,07±9,58 ^a	36,18±11,37 ^{a,b}	33,82±10,08 ^b	33,82±11,24 ^{a,b}	37,00-55,00
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5,86±1,60 ^a	5,60±1,95 ^{a,b}	5,03±1,41 ^{a,b}	5,00±1,46 ^b	5,50-8,50
VGM (μm^3)	65,44±4,10 ^a	64,54±3,72 ^a	67,28±4,18 ^a	67,25±5,08 ^a	60,00-77,00
CHGM (g/dL)	33,57±0,69 ^a	33,28±1,21 ^a	33,75±1,50 ^a	32,82±1,69 ^a	31,00-36,00
RDW (%)	12,52±2,31 ^a	14,34±2,52 ^a	12,50±1,63 ^a	13,85±1,99 ^a	14,00 – 17,00*
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	308,52±194,93 ^a	206,33±150,59 ^a	160,14±129,33 ^a	248,91±201,93 ^a	200,00 – 500,00
VPM (μm^3)	9,71±1,36 ^{a,b}	11,11±1,13 ^a	10,25±1,49 ^{a,b}	9,59±1,90 ^b	6,70 – 11,10

(a,b,c) letras minúsculas diferentes na mesma linha, diferem estatisticamente ($p<0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis.
Rizzi e colaboradores⁽⁹⁾

* Valor fornecido pelo manual do fabricante do contador hematológico.

Na Tabela 2 estão relacionados os valores dos parâmetros do leucograma, onde os leucócitos totais, neutrófilos em bastonetes, neutrófilos segmentados, neutrófilos totais, eosinófilos e monócitos não apresentaram diferença estatística entre os quatro estágios estudados. Os cães do estágio II apresentaram um quadro de leucocitose por neutrofilia, com desvio nuclear de neutrófilos a esquerda e os animais dos estágios III e IV apenas desvio para esquerda. Uma eosinopenia foi observada no estágio IV. Na avaliação dos linfócitos houve diferença estatística entre os estágios III e IV.

Tabela 2. Média, desvios padrão (DP) dos parâmetros do leucograma de acordo com os níveis de creatinina sérica de cães atendidos na rotina clínica do HOVET – UFU, 2016.

Parâmetros	Estágio I <1,4 mg/dL	Estágio II 1,5 – 2,0 mg/dL	Estágio III 2,1 -5,0 mg/dL	Estágio IV >5,1 mg/dL	Valores de Referência⁽⁷⁾
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	
Leucócitos totais (/µL)	14300±15962 ^a	24977±20979 ^a	16471±9439 ^a	12950±9328 ^a	6000-18000
Neutrófilos em bastonetes (/µL)	528±436 ^a	4200±8535 ^a	1255±1337 ^a	665±578 ^a	0-540
Neutrófilos Segmentados (/µL)	11176±15029 ^a	17753±12494 ^a	11726±8927 ^a	10872±8195 ^a	3600-13860
Neutrófilos totais (/µL)	11704±15465 ^a	21953±21029 ^a	12981±10264 ^a	11537±8773 ^a	3600-14400
Eosinófilos (/µL)	696±769 ^a	214±313 ^a	368±522 ^a	116±176 ^a	120-1800
Linfócitos (/µL)	1703±1087 ^{a,b}	2127±2053 ^{a,b}	2878±1432 ^a	812±424 ^b	720-5400
Monócitos (/µL)	255±193 ^a	681±853 ^a	389±254 ^a	482±668 ^a	180-1800

(a,b,c) letras minúsculas diferentes na mesma linha, diferem estatisticamente ($p<0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis.
Intervalo de referência de acordo com Ferreira Neto e colaboradores⁽⁷⁾.

Na aferição da densidade urinária as médias situaram-se dentro dos valores de referência para a espécie (1014-1045) de acordo com Ferreira Neto e colaboradores⁽⁷⁾, houve diferença estatística entre o estágio I e III, I e IV (Tabela 3).

Tabela 3. Médias, desvios padrão (DP), valores mínimo e máximo da densidade urinária nos estágios I, II, III, IV de cães atendidos na rotina clínica do HOVET – UFU, 2016.

Densidade	Estágio I	Estágio II	Estágio III	Estágio IV
Média	1031 ^a	1022 ^{a,b}	1018 ^b	1014 ^b
DP	19	6	9	3
Mínimo	1006	1014	1010	1008
Máximo	1071	1030	1036	1018

(a,b,c) letras minúsculas diferentes na mesma linha, diferem estatisticamente ($p<0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis.

A proteinúria apresentada na Tabela 4, demonstrou diferença estatística, apenas na classificação 2+ (1,0 g/L) quando confrontados a frequência entre o estágio I e II, II e IV.

Tabela 4. Frequência de proteinúria em cães atendidos na rotina clínica do HOVET-UFU de acordo com as concentrações de creatinina sérica.

	Proteinúria			
	Estágio I		Estágio II	
	Frequência (%)	Frequência (%)	Frequência (%)	Frequência (%)
Negativo (0,0 g/L)	3 (13,0) ^a	0 (0,0) ^a	0 (0,0) ^a	1 (4,3) ^a
Traços (0,15 g/L)	4 (17,4) ^a	0 (0,0) ^a	1 (4,2) ^a	0 (0,0) ^a
1+ (0,30 g/L)	3 (13,0) ^a	1 (6,3) ^a	4 (16,7) ^a	4 (17,4) ^a
2+ (1,0 g/L)	4 (17,4) ^a	8 (50,0) ^b	6 (25,0) ^{a,b}	4 (17,4) ^a
3+ (3,0 g/L)	9 (39,2) ^a	7 (43,7) ^a	13 (54,1) ^a	14 (60,9) ^a

(a,b,c) letras minúsculas diferentes na mesma linha, diferem estatisticamente ($p<0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis

Na avaliação dos tipos de cilindros, não houve diferença estatística entre os estágios I, II, III e IV, para hialino e céreo, porém para o cilindro granuloso houve diferença estatística na classificação negativo, entre I e III, em 2+, entre II e III e 3+ entre I e II (Tabela 5).

Tabela 5. Frequência dos diferentes tipos de cilindros no sedimento urinário, nos quatro estágios de acordo com os níveis de creatinina sérica de cães atendidos na rotina clínica do HOVET – UFU, 2016.

Estágio Creatinina (mg/dL)	Negativo Frequência (%)	1+ Frequência (%)	2+ Frequência (%)	3+ Frequência (%)	Número de animais
CILINDRO HIALINO					
I - <1,4	15 (65,20) ^a	7 (30,5) ^a	0 (0,00) ^a	1 (4,3) ^a	23
II - 1,5 -2,0	10 (62,50) ^a	5 (31,3) ^a	1 (6,2) ^a	0 (0,0) ^a	16
III - 2,1 - 5,0	16 (66,70) ^a	5 (20,8) ^a	3 (12,5) ^a	0 (0,0) ^a	24
V - >5,1	12 (52,20) ^a	9 (39,1) ^a	2 (8,7) ^a	0 (0,0) ^a	23
CILINDRO GRANULOSO					
I- <1,4	8 (34,7) ^a	9 (39,2) ^a	4 (17,4) ^{a,b}	2 (8,7) ^a	23
II- 1,5 -2,0	3 (18,8) ^{a,b}	5 (31,2) ^a	2 (12,5) ^b	6 (37,5) ^b	16
III - 2,1 - 5,0	2 (8,3) ^b	7 (29,2) ^a	9 (37,5) ^a	6 (25,0) ^{a,b}	24
IV - >5,1	6 (26,1) ^{a,b}	6 (26,1) ^a	8 (34,8) ^{a,b}	3 (13,0) ^{a,b}	23
CILINDRO CÉREO					
I - <1,4					
II - 1,5 -2,0	22 (95,6) ^a	0 (0,0) ^a	1 (4,4) ^a	0 (0,0) ^a	23
III - 2,1 - 5,0	14 (87,6) ^a	1 (6,2) ^a	1 (6,2) ^a	0 (0,0) ^a	16
IV - >5,1	18 (75,0) ^a	1 (4,2) ^a	3 (12,6) ^a	2 (8,2) ^a	24
	19 (82,6) ^a	1 (4,3) ^a	3 (13,1) ^a	0 (0,0) ^a	23

(a,b,c) letras minúsculas diferentes na mesma coluna, diferem estatisticamente ($p<0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis.

Em relação ao pH urinário, não houve diferença estatística (Figura 1). A urina ácida, considerada normal para espécie canina, foi a prevalente em todos os estágios.

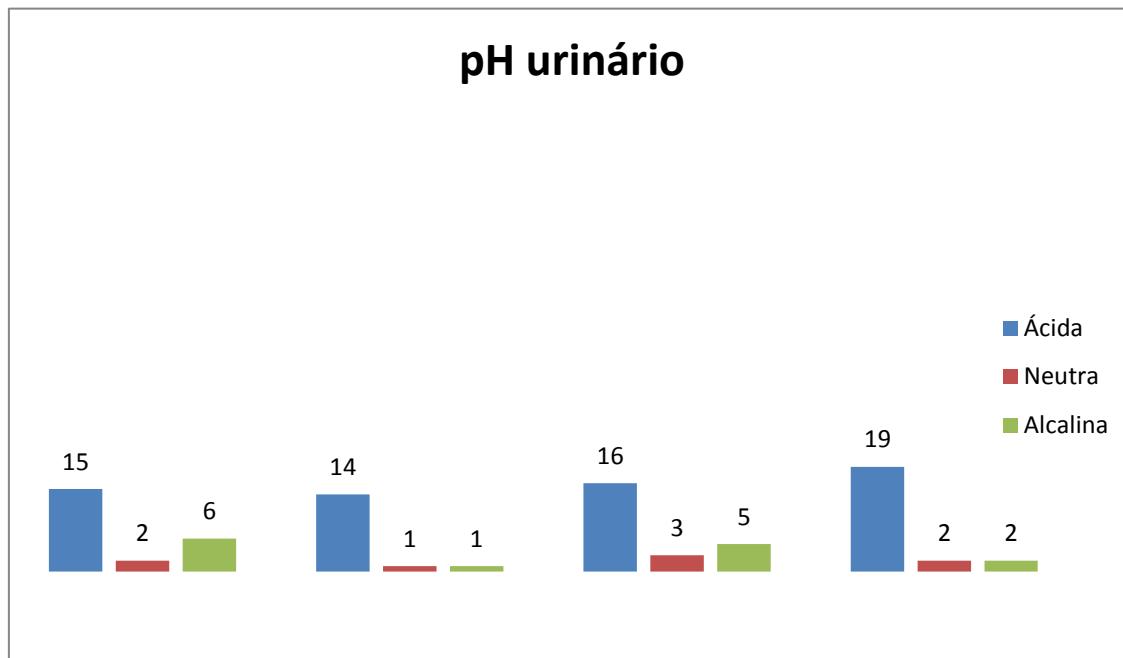


Figura 1. Avaliação do pH urinário de acordo com os estágios de creatinina sérica: I (23 animais), II (16 animais), III (24 animais) e IV (23 animais) de cães atendidos na rotina clínica do HOVET – UFU, 2016.

De acordo com a literatura a anemia é uma característica quase sempre presente em estágios mais avançados da insuficiência renal, os achados do presente estudo assemelham-se ao trabalho conduzido por Cowgill⁽¹⁰⁾, no qual o autor descreve a anemia como sendo uma complicação grave e previsível da insuficiência renal crônica progressiva.

A razão para esta anemia deve-se principalmente a deficiência na produção da EPO, que é um hormônio glicoproteico essencial para o desenvolvimento da célula tronco eritróide e para produção de hemácias, tendo como sitio principal o rim. Elevadas concentrações sanguíneas de fósforo e do paratormônio pode contribuir para este quadro, além de outras condições que são desencadeadas como o agravamento da doença^(11,12).

Em relação ao leucograma apresentado no estágio II, as alterações encontradas podem ser explicadas por inúmeras razões, já que estes animais são oriundos da rotina clínica, podendo apresentar diversas patologias, porém a leucocitose pode também estar associada ao quadro de uremia^(13,14). Na avaliação da densidade urinária todos os estágios permaneceram dentro da faixa de normalidade para a espécie, porém com a evolução dos estágios a densidade foi diminuindo, ou seja, houve redução da capacidade dos túbulos renais em absorver água e concentrar a urina.

A quantificação da proteinúria é um achado indicativo de comprometimento renal, pode ser decorrente de glomerulonefropatia, defeitos de transporte tubular, inflamação ou infecção do trato urinário⁽¹⁵⁾. Neste estudo os achados em maior intensidade, ou seja, proteinúria 3+ (5,0 g/L), são preponderantes nos estágios III e IV, que correspondem a valores de creatinina entre $3,21 \pm 0,90$ e $9,92 \pm 4,40$ mg/dL e ureia de $173,65 \pm 146,14$ a $343,44 \pm 128,80$, embora não conste em tabelas.

Alguns trabalhos têm demonstrado que a proteinúria é altamente relacionada à sobrevida reduzida em cães e gatos (azotêmicos e não azotêmicos), desta forma reduzir a proteinúria aumenta a sobrevida em humanos e cães⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Na avaliação do sedimento urinário, é importante ressaltar que os cilindros originam-se dos túbulos renais, e sua presença mesmo em pequenas quantidades são consideradas anormais, porém nem sempre associada a quadros de patologia renal⁽¹⁹⁾. Os cilindros granulosos ou granulares estão associados com danos degenerativos tubulares⁽²⁰⁾. Com o decorrer dos estágios a densidade apresentou os valores decrescentes, sendo esta uma condição (urinas diluídas e/ou alcalinas), onde pode ocorrer a desintegração dos cilindros⁽²¹⁾. A quantificação neste estudo por estar subestimada, ou seja, a formação de cilindros poderia ser mais representativa.

O pH predominante em todos os estágios foi o ácido, considerado normal para os carnívoros, em um estudo retrospectivo com cães apresentando alterações renais, o pH mais observado foi o ácido também⁽²²⁾.

Conclusão

Os valores hematológicos quando comparados com os estágios de creatinina sérica demonstraram que as alterações na hemoglobina, volume globular e hemácias tornam-se mais pronunciadas a medida que os valores de creatinina sérica elevam-se, este também é o comportamento quando analisamos o leucograma, especificamente neutrófilos em bastonetes. Os parâmetros da urinálise quando comparados entre os estágios, permite-se afirmar que a

densidade urinária decresce a medida que os valores de creatina sérica aumentam, enquanto que a proteinúria torna-se mais evidente em estágios mais avançados da doença renal crônica.

Referências

- 1.Aronson LR, Preston A, Bhalerao DP. Evaluation of erythropoiesis and changes in serum erythropoietin concentration in cats after renal transplantation. American Journal of Veterinary Research. 2003;64(10): 1248-1254.
- 2.Strasinger SK. Uroanálise e fluidos biológicos. 3nd ed. São Paulo: Premier, 2000. 233p.Portuguese.
- 3.Dibartola SP. Fisiologia Renal Aplicada. In: Dibartola SP. Anormalidade de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico na clínica de pequenos animais.3nd ed. São Paulo:Rocca. 2007, p.26-44. Portuguese.
- 4.Singri N, Ahya SN, Levin ML. Acute renal failure. Journal of the American Veterinary Medical Association. 2003; 289(6): 747-751.
- 5.Grauer GF. Insuficiência Renal Aguda e Doença Renal Crônica. In: Nelson RW, Couto CG, Grauer GF, Hawkins EC, Johnson CA, Lappin MR, Scott-Moncrieff JC, Taylor SM, Ware WA, Watson PJ, Willard MD. Medicina interna de pequenos animais. 4nd ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2010, p.648-662. Portuguese.
- 6.IRIS - Staging of Chronic Kidney disease. Disponível: www.iris-kidney.com/pdf/staging-of-kd.pdf#page=6. Acesso em: 07 abr. 2016.
- 7.Ferreira Neto JM, Viana ES, Magalhães LM. Patologia clínica veterinária. 2nd ed. Belo Horizonte: Rabelo, 1982. 279p.Portuguese.
- 8.Carvalho MB. Semiologia do Sistema Urinário. In: Feitosa FLF. Semiologia veterinária – a arte do diagnóstico. 2nd ed. São Paulo:Rocca; 2008. p.426-448. Portuguese.
- 9.Rizzi TE, meinkoth JH, clinkenbeard KD. Normal Hematology of the dog. In: Weiss DJ, Wardrop KJ. Schalm's Veterinary Hematology, Iowa:Willey-blackwell. 2010; 799-810.
- 10.Cowgill L. Pathophysiology and Management of Anemia in chronic progressive renal failure. Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal). 1992;7(3): 175-182.
- 11.Burke SK. Phosphate is a uremic toxin. Journal of Renal Nutrition. 2008;18(1):27-32.
- 12.Cheew DJ, Dibartola SP, Schenck P A. Urologia e nefrologia do cão e do gato. 2nd ed. Rio de Janeiro:Elsevier. 2012. 524p. Portuguese.
- 13.Cohen G, Haag-Weber M, Horl WH. Immune dysfunction in uremia. Kidney International. 1997;62:79–82.
- 14.Jaber BL, Cendoroglo M, Balakrishnan VS, Perianayagam, MC, King AJ, Pereira BJG. Apoptosis of leukocytes: Basic concepts and implications in uremia. Kidney International. 2001; 59(78): 197-205.
- 15.Mendes RS, Bregman R. Avaliação e metas do tratamento da proteinúria. Revista Brasileira de Hipertensão. 2010; 17(3):174-177.
- 16.Lees GE, Brown AS, Elliott J, Grauer GF, Vaden SL. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM forum consensus statement (small animal), Journal of Veterinary Internal Medicine. 2005; 19(3):377–385.

17. Wehner A, Hartmann K, Hirschberger J. Associations between proteinuria, systemic hypertension and glomerular filtration rate in dogs with renal and non-renal diseases. *The Veterinary Record*. 2008;162(5):141–147.
18. Littman MP. Protein-losing nephropathy in small animals. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. 2011;4(1):31–62.
19. Fettman MJ, Rebar A. Avaliação Laboratorial da Função Renal. In: Thrall MA, Bakee DC, Campbell TW, Denicola D, Fettman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G. *Hematologia e Bioquímica clínica veterinária*, São Paulo:Rocca. 2007;485-528. Portuguese.
20. González FHD, Silva SC. Perfil Bioquímico no Exercício. In: *Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária*. 2nd ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006. 364p. Portuguese.
21. Forrester SD. Cilindrúria. In: Tilley LP, Smith Jr FWK. *Consulta Veterinária em 5 Minutos: espécies canina e felina*. 3nd ed. São Paulo: Manole; 2008. p.222-223. Portuguese.
22. Silva T, Cintra CA, Rodrigues V, Souza, GC, Crivellenti, LZ. Avaliação hematológica, bioquímica e urinária de cães com alterações renais ao exame ultrassonográfico. *Revista Investigação Medicina Veterinária*. 2015;14(2):40-44.

ANEXO A - Protocolo Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)



Universidade Federal de Uberlândia
– Comissão de Ética na Utilização de Animais –



CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo para uso de animais em experimentação nº 028/15, sobre o projeto de pesquisa intitulado "Avaliação do marcador bioquímico Cistatina C no diagnóstico de cães portadores de disfunção renal atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, MG", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Antonio Vicente Mundim está de acordo com os princípios éticos na experimentação animal conforme regulamentações do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA) e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) – UFU em reunião de **24 de abril de 2015**.

(We certify that the protocol nº 028/15, about "Avaliação do marcador bioquímico Cistatina C no diagnóstico de cães portadores de disfunção renal atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, MG" agrees with the ETHICAL PRINCIPLES ON ANIMAL RESEARCH as regulations of National Advice of Control and Animal Experimentation (CONCEA) and approved by Ethics Commission on Use of Animals (CEUA) – Federal University of Uberlândia in 24/04/2015).

Uberlândia, 27 de abril de 2015



Prof. Dr. César Augusto Garcia
Coordenador da CEUA/UFU

ANEXO A Diretrizes – Revista Ciência Animal Brasileira (e-ISSN 1809-6891)

Para submissões em português:

Título em português: Fonte Times New Roman 14, caixa alta, centrado, negrito;

Resumo: Fonte Times New Roman 12, espaço 1, justificado, com um máximo de 200 palavras;

Palavras-chave: idem, e no máximo 5 palavras chave;

Título em inglês (obrigatório): Fonte Times New Roman 12, caixa alta, centrado;

Abstract (obrigatório): Fonte Times New Roman 12, espaço 1, justificado;

Keywords: idem

Introdução: Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

Material e Métodos: Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

Resultados: Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

Discussão: Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5 (Os tópicos Resultados e Discussão podem ser apresentados juntos dependendo das especificidades da área);

Conclusões: Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

Agradecimentos: (opcional) Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

Referências (e não bibliografia): Usar fonte Times New Roman 11, espaço 1 entre linhas e colocar espaço 6 pontos acima e abaixo do parágrafo. As referências devem ser numeradas na ordem em que aparecem no texto. A lista completa de referências, no final do artigo, devem estar de acordo com o estilo Vancouver (norma completa <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>; norma resumida http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

<https://revistas.ufg.emnuvens.com.br/vet/about/submissions#authorGuidelines>