



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

**BIOMARCADORES DE FUNÇÃO RENAL – O EXEMPLO DA DIMETILARGININA
SIMÉTRICA**

LILIANA ISABEL COELHO GUERREIRO

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Manuela Grave Rodeia Espada
Niza

Doutora Maria Constança Matias Ferreira
Pomba

Doutor Rodolfo Assis Oliveira Leal

ORIENTADORA

Doutora Josefina Maria Costa Parreira Cruz
Coucelo

CO-ORIENTADORA

Doutora Maria Constança Matias Ferreira
Pomba

2018

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

**BIOMARCADORES DE FUNÇÃO RENAL – O EXEMPLO DA DIMETILARGININA
SIMÉTRICA**

LILIANA ISABEL COELHO GUERREIRO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

ORIENTADORA

Doutora Maria Manuela Grave Rodeia Espada
Niza

Doutora Josefina Maria Costa Parreira Cruz
Coucelo

Doutora Maria Constança Matias Ferreira
Pomba

CO-ORIENTADORA

Doutor Rodolfo Assis Oliveira Leal

Doutora Maria Constança Matias Ferreira
Pomba

2018

LISBOA

Agradecimentos

A toda a minha família, que me apoiou e tornou possível todo este percurso. Em especial aos meus pais, muito obrigada pelo amor, paciência e compreensão ao longo destes seis anos. Sem vocês nada disto seria possível, este trabalho é também vosso.

À minha irmã, por teres sido sempre um exemplo para mim. Ao meu cunhado, pela amizade. E ao meu pequeno sobrinho Artur, trouxeste muita alegria à nossa família!

À restante família que compreendeu as minhas ausências, aproveitando melhor o tempo que passamos juntos e sempre me incentivou e apoiou.

Aos meus amigos, em especial à Joana. Obrigada por me arrastares para fora de casa a cada época de exames, foste muitas vezes a minha distração. Obrigada pela ajuda tecnológica de cada vez que o meu computador ameaça passar para o lado de lá!

Um grande obrigado a todas as amigas da faculdade, são o melhor que de lá trago, os melhores momentos vivi com vocês! Aprendi muito com cada uma. Saibam que têm sempre um lugar cá em casa para vos acolher!

À Marta e à Catarina, as melhores colegas de casa, agora amigas. Obrigada pelo companheirismo, pelo carinho e preocupação. Pela vossa capacidade de ouvir e ajudar, foram uma grande companhia e convosco consegui sentir-me em casa.

A toda a equipa do Hospital Veterinário de Portimão, obrigada pela forma como me receberam e ensinaram, cresci muito graças a todos vocês!

À minha orientadora Dra. Josefina Coucelo, pelo carinho e simpatia, palavras de incentivo e preocupação com o desenrolar deste trabalho.

À Professora Maria Constança Pomba, minha co-orientadora, que teve a inglória tarefa de acompanhar a realização desta tese à distância, obrigada pela sua disponibilidade em acolher-me e guiar-me.

Não posso deixar de agradecer à Kika, à Samantha e à Boneca, a minha família felina, por vezes as minhas cobaias!

Resumo

Biomarcadores de função renal – o exemplo da dimetilarginina simétrica

A avaliação da função renal é idealmente feita através da medição da taxa de filtração glomerular (TFG), embora na prática clínica a sua execução seja dispendiosa e bastante morosa dificultando a sua aplicação. Como alternativa a maior parte dos clínicos opta pelo uso da creatinina e da ureia como biomarcadores da função renal. Mas nenhum destes contém a especificidade e sensibilidade necessárias para deteção precoce de alterações na função renal.

A frequência de doenças como a doença renal crónica (DRC), especialmente na população felina, tem impulsionado a investigação na área dos biomarcadores de função renal. Existem vários em estudo, embora a maioria apresente debilidades que os impede de vir a substituir a creatinina e a ureia.

A dimetilarginina simétrica (“symmetrical dimethylarginine”, SDMA) é no entanto o biomarcador de função renal atual que suscita maior interesse e poderá ser bastante útil na deteção precoce de DRC. Apresenta maior sensibilidade e especificidade comparativamente à creatinina e não sofre influência de fatores extra-renais como a condição corporal ou o teor proteico da dieta.

O estudo desenvolvido teve como objetivo avaliar as vantagens do uso da SDMA enquanto biomarcador de função renal, para o diagnóstico precoce de DRC em gatos. Foi comparado o estadiamento feito a partir do doseamento da creatinina plasmática com o obtido após dosear a SDMA, procurando benefícios da sua utilização. A amostra foi constituída por 16 animais, dos quais 5 apresentaram concentrações de SDMA acima do intervalo de referência. Os resultados obtidos permitiram detetar alteração da função renal em 2 animais, nos quais a creatinina plasmática não surgiu acima do intervalo de referência, e alterar o estadiamento de 1 animal.

Palavras-chave: Biomarcadores de função renal, Dimetilarginina simétrica, Gatos

Abstract

Renal function biomarkers - the example of symmetrical dimethylarginine

The evaluation of renal function is ideally made by measuring the glomerular filtration rate (GFR), although in clinical practice its execution is expensive and time consuming, making it difficult to apply. Alternatively, most clinicians choose creatinine and urea as biomarkers of renal function. But none of these contains the specificity and sensitivity necessary for early detection of changes in renal function.

The frequency of diseases such as chronic kidney disease (CKD), especially in the feline population, has boosted research in the area of renal function biomarkers. There are several under study, although the majority presents debilitys that prevent them from replacing creatinine and urea.

The symmetrical dimethylarginine (SDMA) is, however, the current biomarker of renal function that raises greater interest and can be quite useful in the early detection of CKD. Offers greater sensitivity and specificity compared to creatinine and don't experience influence of extra-renal factors such as body condition or the protein content of the diet.

The aim of the study was to evaluate the advantages of using SDMA as a biomarker of renal function for the early diagnosis of CKD in cats. The staging done from the plasma creatinine assay was compared with that obtained after dosing the SDMA, looking for benefits of its use. The sample consisted of 16 animals, of which 5 had SDMA concentrations above the reference range. The results obtained made it possible to detect changes in renal function of 2 animals, in which the plasma creatinine did not emerged above the reference range, and to change the staging of 1 animal.

Keywords: Renal function biomarkers, Symmetrical Dimethylarginine, Cats

Índice geral

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract.....	v
Índice geral	vii
Lista de figuras	x
Lista de tabelas	x
Lista de abreviaturas e símbolos.....	xi
Breve descrição das atividades desenvolvidas no estágio curricular	1
I – Revisão Bibliográfica.....	3
1. Anatomofisiologia renal – breve revisão.....	3
2. Avaliação laboratorial da função renal	6
2.1. Função glomerular.....	7
2.1.1. Taxa de filtração glomerular.....	7
2.1.1.1. Determinação da taxa de filtração glomerular.....	8
2.1.1.2. Padronização e variação	8
2.1.1.3. Técnicas e marcadores utilizados	9
2.2. Função tubular	10
3. Biomarcadores de função renal	11
3.1. Conceito de biomarcador e características	12
3.2. Biomarcadores plasmáticos	12
3.2.1. Creatinina	13
3.2.2. Ureia	15
3.2.3. Cistatina C	16
3.2.4. Fator de crescimento-23 de fibroblastos.....	18
3.3. Biomarcadores urinários.....	19
3.3.1. Biomarcadores de lesão glomerular	22
3.3.1.1. Imunoglobulinas	22
3.3.1.2. Albuminúria e Microalbuminúria.....	23
3.3.1.3. Proteína C reativa	25
3.3.1.4. Outros biomarcadores.....	25
3.3.2. Biomarcadores de lesão tubular.....	26
3.3.2.1. Proteína de ligação ao Retinol	26
3.3.2.2. Lipocalina associada à gelatinase neutrofílica.....	27

3.3.2.3. Proteína Tamm-Horsfall	28
3.3.2.4. Cistatina C urinária	29
3.3.2.5. Microglobulinas alfa 1 e beta 2.....	29
3.3.2.6. Enzimúria	30
3.3.2.7. Clusterina	32
3.3.2.8. Novos biomarcadores em investigação.....	32
3.4. Utilização futura de biomarcadores renais.....	33
4. Dimetilarginina Simétrica	36
4.1. Da descoberta ao papel de biomarcador renal	36
4.2. Metabolismo.....	38
4.3. Técnica e intervalos de referência.....	40
4.4. SDMA como biomarcador renal	41
4.4.1. Relação com a creatinina e comparação do tempo de deteção	41
4.4.2. Relação com taxa de filtração glomerular.....	42
4.4.3. Influência extra-renal	43
4.4.3.1. Fatores endógenos.....	43
4.4.3.1.1. Presença de doenças concomitantes.....	45
4.4.3.2. Fatores exógenos.....	45
4.5. Aplicação em Medicina Veterinária	46
4.5.1. Doença Renal Crónica	46
4.5.1.1. Diagnóstico e estadiamento da DRC	47
4.5.1.2. Efeito da modificação dietética precoce no manejo da DRC.....	48
4.5.1.3. Deteção de DRC Felina na presença de Hipertiroidismo	49
4.5.2. Distinção entre IRA e DRC em cães.....	50
4.5.3. Deteção precoce de nefrolitíase	50
4.5.4. Caquexia e Sarcopénia	51
4.6. Perspetivas de futuro: será o SDMA a resposta necessária?.....	51
II. Estudo: Avaliação da SDMA em felinos com recurso à IDEXX Catalyst One ® para diagnóstico precoce de doença renal crónica.....	52
1. Objetivos	52
2. Materiais e Métodos.....	52
3. Resultados	53
4. Discussão	55
5. Conclusão.....	59
Bibliografia	61

Anexos	70
1 – Algoritmo para interpretação de valores séricos de SDMA aumentados e etapas sugeridas para chegar ao diagnóstico (IDEXX Laboratories, 2017a).	70
2 – Algoritmos sugeridos pela IRIS, com inclusão da SDMA, para a DRC canina e felina (IDEXX, 2018)	71
2.1 Diagnóstico de DRC.....	71
2.2. Estadiamento da DRC	72
2.3. Tratamento da DRC.....	73
3- Exemplo do questionário utilizado na recolha de dados durante a anamnese e exame de estado geral	74
3.1. Escala utilizada para avaliação da condição corporal (Royal Canin, 2018).....	75

Lista de figuras

Figura 1. Representação esquemática da morfologia normal do glomérulo renal (Adaptado de Chew, DiBartola & Schenck, 2011).....	4
Figura 2. Relação exponencial entre a perda funcional de nefrônios e o nível de creatinina sérica (Adaptado de Chew et al, 2011a).	13
Figura 3. Esquema resumo sobre os biomarcadores, plasmáticos e urinários, abordados no capítulo 3.....	35
Figura 4. Efeitos hipotéticos da alteração da progressão da DRC no caso de detecção precoce (ponto A) face a uma detecção tardia (ponto B). Ainda que em ambos os casos sejam introduzidos os tratamentos médicos adequados para diminuir a progressão da doença, o tempo de sobrevivência será superior quando a doença é detetada de forma precoce (de T ₁ até T ₃ , ao invés de apenas até T ₂) (Adaptado de Lees, 2004).....	47

Lista de tabelas

Tabela 1. Concentrações plasmáticas de ADMA e SDMA em humanos e cães (segundo Teerlink et al., 2002; Pedersen et al., 2006).....	40
Tabela 2. Correlação da TFG com a SDMA e creatinina sérica em diferentes populações animais (segundo Tatematsu et al., 2007; Braff et al., 2014; Hall et al., 2014a; Nabity et al., 2015; Hall et al., 2016c).....	43
Tabela 3. Comparação entre os intervalos de referência da creatinina plasmática sugeridos pela IRIS e pela <i>Catalyst One Chemistry Analyzer</i> para o cão e gato.	52
Tabela 4. Caracterização da amostra e resultados dos parâmetros laboratoriais, creatinina plasmática e SDMA	54
Tabela 5. Estadiamento segundo o doseamento da creatinina e SDMA plasmática.....	55

Lista de abreviaturas e símbolos

ADH – “Antidiuretic hormone”, Hormona anti-diurética
ADMA – “Asymmetric dimethylarginine”, Dimetilarginina assimétrica
AGXT-2 - Alanina-glioxilato aminotransferase 2
CMH – Cardiomiopatia hipertrófica
CRP – “C-reactive protein”, Proteína C reativa
DDAH - Dimetilarginina dimetilaminohidrolase
DDAH-1 - Dimetilarginina dimetilaminohidrolase 1
DDAH-2 - Dimetilarginina dimetilaminohidrolase 2
dL - Decilitro
DM – Diabetes *mellitus*
DRC – Doença renal crónica
DUE – Densidade urinária específica
ELISA - *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*
FAS – Fosfatase alcalina
FGF-23 – “Fibroblast growth factor-23”, Fator de crescimento-23 de fibroblastos
FMV-ULisboa – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa
g - Grama
GGT - Gama-glutamil transpeptidase
GM-CSF – “Granulocyte-macrophage colony stimulating factor”, Fator estimulante de colónias de granulócitos-macrófagos
HVP – Hospital Veterinário de Portimão
Ig – Imunoglobulina
IgA – imunoglobulina A
IgG – Imunoglobulina G
IgM – Imunoglobulina M
IL -2 – Interleucina-2
IL-18 – Interleucina-18
IRA – Insuficiência renal aguda
IRIS – “International Renal Interest Society”, Sociedade Internacional de Interesse Renal
KC – “Keratinocyte chemoattractant”, Quimiocina derivada de queratinócito
kDa - Quilodalton
Kg - Quilograma
KIM-1 – “Kidney injury molecule 1”, Molécula de lesão renal 1
L - Litro
LC-MS – “Liquid chromatography mass spectrometry”, Cromatografia líquida associada a espectrómetro de massa
MCP-1 – “Monocyte chemoattractant protein 1”, Proteína quimiotática de monócitos 1
min – Minutos
mg - Miligramas
mL - Mililitro
MMA – Monometilarginina
n – Número de casos da amostra
NAG - N-acetil-β-D-glucosaminidase
NAG-A - N-acetil-β-D-glucosaminidase A
NAG-B - N-acetil-β-D-glucosaminidase B
NGAL – “Neutrophil gelatinase associated lipocalin”, Lipocalina associada à gelatinase neutrofílica
PENIA – “Particle enhanced immunonephelometric assay”, Imunoensaio nefelométrico melhorado de partículas

PETIA – “Particle enhanced turbidimetric assay”, Imunoensaio turbidimétrico melhorado de partículas
pg – Petagrama
pH – Potencial de hidrogénio
PRMT – “Protein arginine methyltransferases”, Enzimas proteína-arginina-metiltransferases
PTH - Proteína Tamm-Horsfall
 r – Coeficiente de correlação linear
RBP – “Retinol binding protein”, Proteínas de ligação ao retinol
sCr – Creatinina sérica
SDMA – “Symmetric dimethylarginine”, Dimetilarginina simétrica
TFG – Taxa de filtração glomerular
 μg – Micrograma
 μM - Micromolar
UPC – “Urine protein-to-creatinine ratio”, Rácio proteína/creatinina urinário
UTI – “Urinary Tract Infection”, Infecção do trato urinário

Breve descrição das atividades desenvolvidas no estágio curricular

O estágio curricular enquadra-se no Plano de Estudos do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa) e ocupa o 11º semestre. O estágio permite consolidar os conhecimentos adquiridos até esta etapa, colocando-os em prática e possibilitando que continuemos a nossa formação.

O estágio decorreu no Hospital Veterinário de Portimão (HVP) sob a orientação da Professora Dr^a Josefina Coucelo e co-orientação da Professora Doutora Maria Constança Pomba. O estágio teve início no dia 11 de Setembro de 2017 e terminou no dia 11 de Março de 2018.

As atividades decorreram em horários rotativos que incluíam diferentes períodos (diurno, noturno, feriados e fins de semana) e eram atribuídos semanalmente. Cada turno decorreu por um período de 8 horas contemplando um total de 40 horas semanais e um total de cerca de 1040 horas. O tempo foi despendido entre as várias áreas existentes no HVP.

Foi possível assistir a consultas, acompanhar a obtenção da anamnese e execução do exame físico, e posteriormente discutir o caso e o tratamento adequado com o Médico Veterinário responsável.

No internamento a autora teve possibilidade de auxiliar o Médico Veterinário e os enfermeiros de serviço na realização da monitorização dos parâmetros clínicos dos animais hospitalizados. Foi possível preparar e administrar medicações, administrar refeições e realizar passeios. Existiu ainda oportunidade para realizar diferentes procedimentos, tais como a colocação de cateteres endovenosos, administração de fluidoterapia, colheita de amostras de sangue, colocação de sondas de algaliação, realização de cistocentese, limpeza e tratamento de feridas, realização de pensos e talas, entre outros.

A autora teve a possibilidade de executar análises sanguíneas, realizar esfregaços, executar testes rápidos para despiste e diagnóstico de várias doenças, realizar tiras de urina, entre outros.

No serviço de imagiologia foi possível auxiliar e realizar radiografias, assistir e auxiliar na execução de ecografias, endoscopias e Tomografias Axiais Computorizadas (TAC). Neste serviço foi possível preparar, monitorizar e posicionar os animais, e posteriormente avaliar o exame obtido juntamente com o Médico Veterinário.

No serviço de cirurgia a autora teve oportunidade de executar a sedação e anestesia de diferentes animais sujeitos a procedimentos cirúrgicos. Foi responsável pela preparação cirúrgica e monitorização anestésica dos mesmos, assim como a sua monitorização e acompanhamento no pós-operatório. A autora teve a possibilidade de atuar como ajudante de

cirurgião em diversas cirurgias e ainda de executar destartarizações, castrações e ovariectomias em felinos.

Durante o estágio foi ainda possível assistir a formações de empresas farmacêuticas e laboratórios lecionadas no HVP.

I – Revisão Bibliográfica

1. Anatomofisiologia renal – breve revisão

Os rins são responsáveis por manter a composição dos fluidos corporais, dentro dos limites fisiológicos, e remover resíduos do metabolismo presentes no sangue. A filtração do plasma permite obter o ultrafiltrado, de grandes volumes, cuja composição é muito semelhante ao plasma, mas sem proteínas de elevado peso molecular. Deste ultrafiltrado várias substâncias úteis vão ser seletivamente reabsorvidas, enquanto as prejudiciais são concentradas e eliminadas (König, Maierl & Liebich, 2005). Para além de regularem o meio interno produzem hormonas importantes na regulação da pressão sanguínea, produção de eritrócitos, e contribuem para ativação da vitamina D₃ (Junqueira & Carneiro, 2013).

Os rins são órgãos pares localizados na região lombar, dentro do espaço retroperitoneal cranial e pressionados contra a parede abdominal dorsal. O rim direito localiza-se mais cranialmente que o rim esquerdo e a sua extremidade cranial em contacto com o fígado (König, 2005). As superfícies ventrais encontram-se cobertas pelo peritoneu e todo o rim está revestido por uma cápsula fibrosa que contém uma pequena quantidade de fibras elásticas (Ellenport, 1986).

No bordo medial do rim surge o hilo, reentrância por onde penetram os nervos e vasos sanguíneos. O parênquima renal divide-se em duas porções visivelmente distintas, o córtex e a medula. Na maioria das espécies a medula é dividida em lobos de formato piramidal, mas tal não acontece nos carnívoros, em que a fusão dos mesmos origina uma massa única que termina num vértice, a papila renal. Esta é projetada na pélvis renal que está alojada no seio renal e constitui a porção proximal dilatada do ureter (König et al, 2005).

Cerca de 25% do sangue arterial ejetado pelo coração atravessa os rins cuja vascularização é feita através da artéria renal, uma ramificação da artéria aorta abdominal. A vascularização venosa conflui para a veia cava caudal (König et al, 2005; Verlander, 2013).

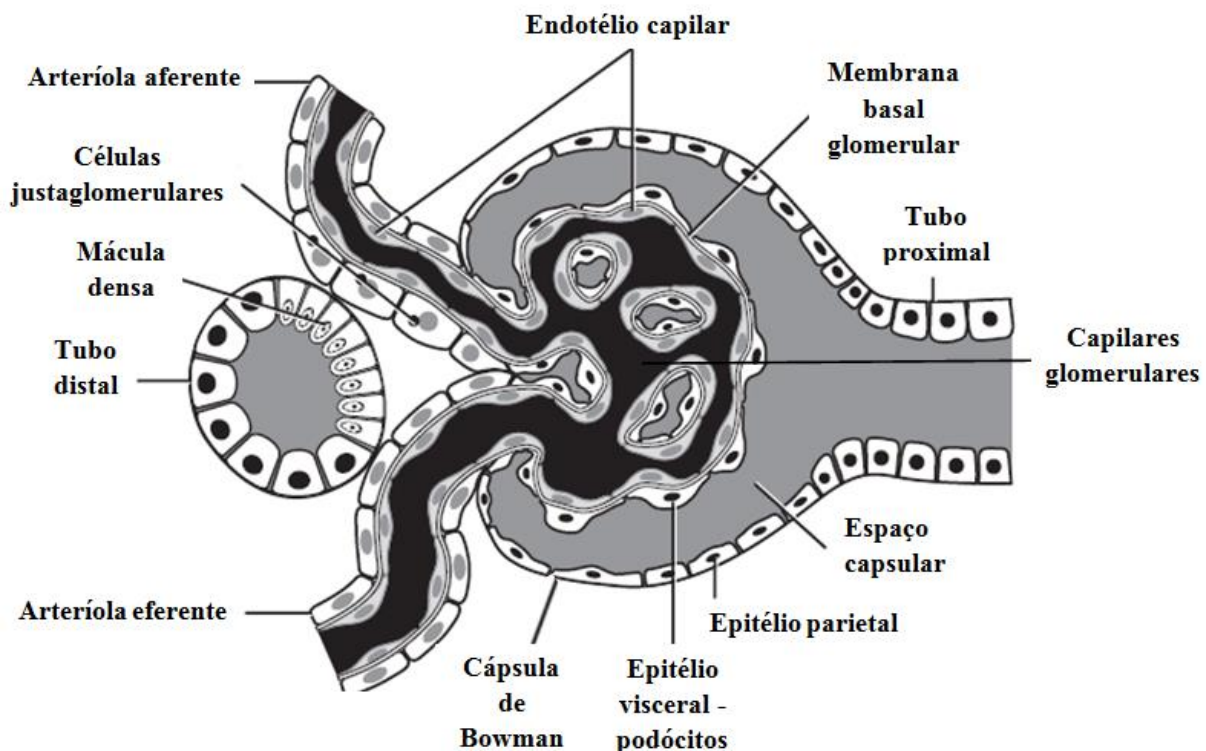
É no córtex que se encontra a unidade funcional do rim onde ocorre o processo de filtração e produção da urina – o nefrónio. O rim canino e felino pode conter até 400.000 e 500.000 destas unidades, respetivamente (König et al, 2005). O nefrónio inclui o corpúsculo renal (composto pelo glomérulo renal e a cápsula de Bowman), o tubo contornado proximal, porção espessa e fina da ansa de Henle e o tubo contornado distal. Cada corpúsculo renal apresenta dois pólos: o vascular ou proximal que permite a entrada da arteríola aferente e a saída da arteríola eferente, e o urinário ou distal por onde surge o tubo contornado distal (Junqueira & Carneiro, 2013).

O primeiro passo para a produção de urina é a filtração do sangue no glomérulo renal, que é feita numa rede de capilares do tipo fenestrado envolvido pela cápsula de Bowman (Verlander, 2013). Esta é constituída por um folheto visceral, que cobre os capilares, e um folheto parietal. Entre estes dois folhetos forma-se o espaço capsular que recebe o filtrado continuamente produzido. O folheto parietal é constituído por um epitélio simples pavimentoso; o folheto visceral possui células diferenciadas – os podócitos (Junqueira & Carneiro, 2013).

A estrutura dos capilares glomerulares que compõe o glomérulo renal é importante na determinação da taxa de produção e seletividade do filtrado glomerular (Verlander, 2013).

A parede capilar é constituída por três camadas: o endotélio capilar, a membrana basal glomerular e o epitélio visceral (Junqueira & Carneiro, 2013; Verlander, 2013). A morfologia normal do glomérulo renal pode ser observada na Figura 1.

Figura 1. Representação esquemática da morfologia normal do glomérulo renal (Adaptado de Chew, DiBartola & Schenck, 2011)



O endotélio capilar é uma única camada fina de células em contacto com o sangue no lúmen capilar, é denominado fenestrado devido à presença de poros que permitem a passagem de água e compostos não celulares. A membrana basal glomerular é uma membrana espessa que resulta da fusão das membranas basais do endotélio e dos podócitos. Nela podem ser diferenciadas 3 camadas distintas: a lâmina rara interna, a lâmina densa e a lâmina rara

externa. A lâmina densa é uma matriz de proteoglicanos (que lhe confere carga elétrica negativa), colagénio tipo IV e laminina (atuam como barreira física). A terceira camada que compõe a parede capilar é o epitélio visceral, uma camada de podócitos. Estes são cruciais no processo de filtração ao determinar a permeabilidade seletiva de filtração e ao efetuarem a limpeza contínua da barreira de filtração glomerular, graças às suas fendas de filtração. Estas nascem entre os prolongamentos emitidos pelos podócitos que envolvem os capilares (Junqueira & Carneiro, 2013; Verlander, 2013).

A parede glomerular é uma barreira às forças que promovem ou se opõem à filtração do sangue. As forças que promovem a filtração são a pressão hidrostática exercida pelo sangue dentro dos capilares e a pressão oncótica do ultrafiltrado dentro cápsula de Bowman. Normalmente a pressão oncótica do ultrafiltrado é improdutiva, visto que as moléculas de médio ou elevado peso molecular não são filtradas. Assim a principal força atuante é a pressão hidrostática nos glomérulos capilares. Forças que contrariam o processo de filtração são a pressão oncótica plasmática nos capilares glomerulares e a pressão hidrostática no espaço de Bowman. A pressão de filtração resultante resulta da diferença entre a pressão hidrostática capilar (que favorece a filtração) e a soma da pressão oncótica capilar com a pressão hidrostática do ultrafiltrado (que contrariam o processo de filtração) (Verlander, 2013).

A taxa de filtração glomerular (TFG) é um produto da pressão de filtração resultante, a permeabilidade da barreira de filtração e a área capilar disponível para filtração. A permeabilidade da barreira de filtração é determinada pelas suas características estruturais e químicas (Verlander, 2013).

A permeabilidade da barreira de filtração é responsável pelas diferentes taxas de filtração dos vários componentes sanguíneos. Normalmente todos os componentes celulares e proteínas plasmáticas do tamanho da albumina (ou maiores) são retidas no sangue. A água e os solutos são livremente filtrados (Verlander, 2013).

Para além do tamanho a carga elétrica da molécula é também importante. Moléculas com carga positiva (catiões) são filtradas mais facilmente que a mesma molécula numa forma com carga negativa (anião). Estas diferenças devem-se à carga negativa da barreira glomerular gerada por glicoproteínas na sua constituição, que repelem proteínas plasmáticas de carga negativa, impedindo a sua passagem através da barreira glomerular (Verlander, 2013).

O glomérulo dá origem no pólo urinário ao túbulo contornado proximal, nele é reabsorvida toda a glucose e aminoácidos presentes no filtrado. Também são reabsorvidos iões (bicarbonato, cloreto de sódio, cálcio e fosfato) e cerca de 70% da água. Na ansa de Henle ocorre retenção de água, na sua porção descendente, e é gerado um gradiente hipertónico no

interstício medular que influencia a concentração da urina à medida que esta atravessa os ductos coletores. A ansa de Henle gera o tubo contornado distal, que no seu trajeto se encosta ao corpúsculo renal do mesmo nefrônio e forma a mácula densa. Este segmento modificado do tubo contornado distal é sensível a alterações do volume e concentração iónica do filtrado tubular. Dos túbulos coletores o filtrado atinge os túbulos e ductos coletores, onde ocorrem mecanismos de concentração da urina (Junqueira & Carneiro, 2013).

Junto ao corpúsculo renal a artéria aferente apresenta células modificadas, as células justaglomerulares, que se situam junto à mácula densa e com esta formam o aparelho justaglomerular. A mácula densa é sensível a alterações de volume e concentração iónica do filtrado, já as células justaglomerulares segregam a enzima renina que indiretamente regula a pressão arterial e a produção de aldosterona na glândula adrenal (Junqueira & Carneiro, 2013).

2. Avaliação laboratorial da função renal

A interpretação de testes individuais pode ser prejudicada pela falta de sensibilidade, a existência de grande variabilidade biológica, os preços elevados e a dificuldade de execução de alguns testes. Saber as vantagens e desvantagens de cada ferramenta permite uma escolha acertada por parte do clínico, seja com o objetivo de detetar DRC numa fase inicial ou para distingui-la de insuficiência renal aguda (IRA). A avaliação da função renal é ainda importante na monitorização clínica ou para ajuste de fármacos com potencial nefrotóxico.

É necessário ter em consideração alguns princípios básicos para melhor interpretar os resultados. De notar que não é possível avaliar diferentes parâmetros da função renal com recurso a um único teste, embora seja consensual que a taxa de filtração glomerular é a melhor forma de avaliar a função renal global. O facto de a função renal se encontrar normal não permite descartar a existência de lesão renal, o rim pode funcionar aparentemente de forma normal sem que sejam detetadas alterações. A composição da urina sofre grandes flutuações, nomeadamente a densidade urinária específica (DUE) que pode variar a cada hora, o que pode afetar a interpretação da urianálise. Devem ser feitas múltiplas medições, principalmente nas fases iniciais ou subclínicas da DRC. Devem ainda ser utilizados testes para diferenciar a doença aguda da crónica, visto que o tratamento e prognóstico podem ser bastante diferentes (Heiene & Lefebvre, 2007).

2.1. Função glomerular

A avaliação da função glomerular é essencial na avaliação de animais com suspeita de doença renal, já que a TFG está diretamente relacionada com a massa renal funcional (DiBartola & Westropp, 2014). A determinação da TFG é considerada o método *gold standard* para avaliar a função renal, embora não seja realizada de forma rotineira e no seu lugar sejam utilizados marcadores substitutos (Chew, DiBartola & Schenck, 2011a).

A função glomerular pode ser avaliada de forma indireta com a medição de marcadores plasmáticos como a ureia, a creatinina, a cistatina C e a medição da proteinúria. (Heiene & Lefebvre, 2007). Estes serão descritos no capítulo 3.

2.1.1. Taxa de filtração glomerular

A TFG global corresponde à taxa de filtração total de ambos os rins, sendo a soma da taxa de filtração de cada nefrónio (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011). Permite detetar a diminuição da função renal bastante mais cedo que os marcadores de função renal amplamente utilizados. Apesar da sua superioridade em detetar precocemente doença renal, a medição da TFG continua a ser uma ferramenta pouco utilizada em medicina veterinária. A medição da creatinina plasmática tem substituído a medição da TFG na prática clínica, face à facilidade de acesso. No entanto a creatinina apresenta sensibilidade e especificidade inferiores à medição da TFG (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

Os métodos atuais são caros e complicados, requerem múltiplas colheitas de sangue e urina em tempos precisos, e normalmente exige a cateterização da bexiga para que o volume urinário seja medido de forma precisa. É necessário o desenvolvimento de um método acessível e de fácil execução em ambiente clínico (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011; Sasaki et al., 2015).

A medição da TFG é útil nos pacientes que apresentam concentrações plasmáticas de creatinina no limite superior do intervalo de referência ou ligeiramente aumentadas. Em animais poliúricos sem azotémia, para despiste de nefropatias hereditárias em cães de raças predispostas e ainda na deteção precoce de nefrotoxicidade associada a fármacos (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

2.1.1.1. Determinação da taxa de filtração glomerular

Embora a função glomerular não possa ser medida diretamente, pode ser estimada com base no princípio de *clearance* ou depuração. Definido como o volume de fluido ao qual é removida uma determinada substância durante um período de tempo definido (Linnetz & Graves, 2010).

Podem ser utilizados métodos de *clearance*, ou taxa de depuração, urinários ou plasmáticos.

A determinação da taxa de depuração urinária implica que a quantidade do marcador excretado na urina e a sua concentração plasmática sejam ambas mensuráveis. Toda a urina produzida deve ser colhida durante o período de teste, o que implica a cateterização da bexiga, o que pode aumentar o risco de infecção.

Como a colheita de urina durante 24 horas é pouca prática, a taxa de depuração plasmática acaba por ser uma opção mais fácil de executar, pois não exige colheita de urina, mas apenas a colheita de amostras de plasma. O número de amostras de plasma necessárias pode ser reduzido desde que sejam utilizadas fórmulas de correção.

A taxa de depuração plasmática refere-se à quantidade de uma substância injetada removida do plasma durante um determinado período de tempo. A TFG é avaliada através da medição da concentração plasmática de um marcador ao longo do tempo. É expressa como volume de plasma livre da substância em mililitros (ml) por minuto (min), por exemplo. Se o marcador é unicamente eliminado pelos rins sem secreção ou excreção pelos túbulos, a *clearance* renal é igual à *clearance* plasmática, e é uma avaliação precisa da TFG (Heiene & Lefebvre, 2007; Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

2.1.1.2. Padronização e variação

O método de padronização da TFG mais utilizado é o peso corporal em quilogramas (Kg). O que assume que a *clearance* renal está linearmente associada ao peso corporal, embora tal possa não ocorrer em cães bastante pequenos (<10 Kg) ou muito grandes (>50 Kg). Em humanos é preferida a padronização com base na área de superfície corporal, também utilizada em alguns ensaios veterinários. Também o volume de fluido extracelular tem sido utilizado para padronizar os resultados, visto a sua regulação estar intimamente relacionada com a TFG. No entanto os resultados são variáveis e é necessária mais investigação.

Enquanto em cães são obtidos resultados variáveis consoante o método de padronização escolhido, em gatos os resultados obtidos com qualquer um dos três métodos mencionado reproduz resultados aceitáveis. O que poderá ser explicável pela menor variação de tamanho

corporal desta espécie. O método ideal para padronização é ainda desconhecido (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

A TFG normal, segundo a literatura, é considerada de 3,5 a 4,5 mL/min/kg e 2,5 a 3,5 mL/min/kg no cão e no gato, respetivamente (Syme & Jepson, 2017). Estes intervalos são fruto de estudos com recurso a diferentes técnicas, assim alguns autores sugerem que um intervalo normal para a TFG está ainda por definir com recurso a protocolos padronizados. Além disso, o estabelecimento de um único intervalo de referência para a TFG para todos os cães e gatos poderá não ser o ideal. Visto que a TFG é provavelmente influenciada por vários fatores extra-renais como o sexo, idade, raça, teor proteico da dieta, estado de hidratação, balanço eletrolítico de sódio e o ritmo circadiano (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

2.1.1.3. Técnicas e marcadores utilizados

Têm sido utilizados vários marcadores endógenos e exógenos, que devem reunir um conjunto de características: ser livremente filtradas pelo glomérulo, sem ligação a proteínas plasmáticas (o que levaria a um atraso no processo de filtração e falsa diminuição do valor de TFG mensurado), não sofrer absorção, secreção ou metabolização tubular, não afetar a TFG, não apresentarem outras rotas de eliminação extra-renais e não serem nefrotóxicos (Linnetz & Graves, 2010).

No que diz respeito à taxa de depuração urinária é a inulina o marcador considerado *gold standard* e é a técnica com a qual os restantes métodos são normalmente comparados. A inulina, um polímero da frutose, chega muito perto de satisfazer todos estes requisitos, no entanto a sua utilização é tecnicamente difícil (Heiene & Lefebvre, 2007; Von Hendy-Willson & Pressler, 2011). É eliminada do plasma unicamente por filtração glomerular, sem reabsorção ou metabolização pelos túbulos renais. Este teste exige a infusão contínua de inulina para atingir concentrações plasmáticas estáveis e cateterização vesical para total colheita da urina produzida no período de teste. A taxa de depuração é calculada a partir da concentração plasmática e urinária de inulina e o débito urinário (Linnetz & Graves, 2010). Alternativamente à inulina pode ser utilizada a creatinina exógena ou endógena (Heiene & Lefebvre, 2007).

Para calcular a taxa de depuração plasmática são normalmente utilizados o iohexol, a creatinina exógena e radionuclídeos.

O iohexol é um meio de contraste radiológico acessível, extremamente estável e pode ser avaliado mesmo em pequenos volumes de amostra (Linnetz & Graves, 2010). Encontra-se comercialmente disponível através do *Royal Veterinary College*, sediado em Inglaterra, que

disponibiliza o protocolo para execução do teste e posterior envio das amostras para avaliação. Sendo o iohexol uma substância bastante estável no plasma a interpretação do teste não é afetada pelo tempo de armazenamento e podem ser enviadas amostras a partir de outros países (Royal Veterinary College, 2018).

A creatinina é livremente filtrada pelo glomérulo, não sofre ligação a proteínas, é afetada minimamente pelo teor proteico da dieta. Embora a creatinina não seja reabsorvida pelos túbulos renais ela é secretada em pequenas quantidades pelos túbulos renais dos cães machos, o que pode conduzir a uma sobre avaliação da TFG. Existem no plasma e soro moléculas que podem ser erroneamente medidas como creatinina: cromogénios que não a creatinina. Para ultrapassar estas limitações foi desenvolvido um método com recurso à creatinina exógena. Com esta técnica é administrada creatinina em infusão contínua até a um ponto onde a presença de cromogénios que não a creatinina torna-se insignificante (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011)

Os radionuclídeos são livremente filtrados pelo glomérulo renal e não são reabsorvidos ou secretados pelos túbulos renais. A principal limitação dos radionuclídeos é a disponibilidade de laboratórios com equipamento de medicina nuclear adequado para avaliar a radioatividade das amostras (Von Hendy-Willson & Pressler, 2011).

2.2. Função tubular

O rim tem a capacidade de produzir urina mais concentrada ou mais diluída de acordo com as necessidades de conservação de água do organismo. A capacidade de concentração da urina está dependente dos osmoreceptores presentes no hipotálamo, a libertação da hormona anti-diurética (“antidiuretic hormone”, ADH) pela neurohipófise e a resposta da porção distal do nefrónio a esta hormona. (DiBartola & Westropp, 2014). A função tubular pode ser avaliada através da DUE, de testes de privação de água e testes de excreção fraccional de eletrólitos.

A DUE sofre grande variabilidade em animais saudáveis, tanto entre diferentes indivíduos como no mesmo. Deve ser avaliada com recurso ao refractómetro, visto as tiras urinária não serem um método totalmente fiável. A DUE pode variar entre 1.001-1.080 em cães e gatos saudáveis, tende a ser mais elevada em gatos. Face à sua grande variabilidade deve ser avaliada em amostras consecutivas e interpretada face ao estado de hidratação do animal. Na prática uma urina minimamente concentrada deverá variar entre 1.013-1.029 e 1.013-1.034 no cão e no gato respetivamente (Heiene & Lefebvre, 2007). Mas estes valores devem ser avaliados paralelamente a outros dados clínicos, a presença concomitante de azotémia ou desidratação indica que a capacidade de concentração de urina está afetada. Valores inferiores

aos limites acima referidos não podem ser interpretados de forma isolada para avaliar a função renal. Animais saudáveis podem produzir urinas pouco concentradas de acordo com o equilíbrio hídrico do organismo (Lees, 2004).

A poliúria e a polidipsia normalmente precedem a urémia em semanas ou até mesmo meses em cães com DRC. Já metade dos gatos com DRC não apresenta poliúria nem polidipsia, pois conseguem manter alguma capacidade de concentrar a urina (Heiene & Lefebvre, 2007).

O teste de privação de água modificado é um teste útil na avaliação da função tubular indicado para diagnóstico de casos de poliúria/polidipsia confirmados, embora as vantagens nem sempre superem os riscos associados à execução do teste. Está contraindicado em animais azotémicos e deve ser feito com precaução em animais com poliúria acentuada, pois caso exista incapacidade em concentrar a urina, rapidamente sofrem desidratação. Este teste é indicado nos casos em que seja necessário diferenciar entre diabetes insípida nefrogénica, diabetes insípida central e polidipsia psicogénica (Heiene & Lefebvre, 2007; DiBartola & Westropp, 2014).

Os testes de excreção fraccional de eletrólitos medem a fração de eletrólitos filtrados que escapam à reabsorção e são excretados na urina. Na prática clínica a sua utilidade é muito limitada (Heiene & Lefebvre, 2007).

3. Biomarcadores de função renal

A avaliação da função renal é idealmente feita pela medição da TFG, mas a realização de testes de *clearance* pode ser dispendiosa e bastante morosa para serem aplicados na prática clínica, tornando a deteção precoce de disfunção renal um desafio para os clínicos (Kovarikova, 2015).

A creatinina plasmática sempre foi a ferramenta mais utilizada no diagnóstico de doença renal, apesar da sua reduzida sensibilidade (Polzin, 2011). O limite superior de referência é ultrapassado quando existe apenas uma perda funcional de cerca de 75% dos nefrónios (DiBartola, 2010).

As limitações dos biomarcadores mais utilizados, a creatinina e a ureia, para detetar doença renal impulsionaram a investigação de novos, e mais vantajosos, biomarcadores. O objetivo é detetar a doença renal o mais cedo possível, num estágio em que as opções terapêuticas possam ser eficazes no desenrolar da doença (Hokamp & Nabity, 2016).

A descoberta de um biomarcador renal é um processo complexo e desafiante. Existem dezenas de milhares de proteínas, peptídeos e metabolitos em quantidades muito variadas, com o potencial de tornarem-se num biomarcador (Yerramilli, Farace, Quinn & Yerramilli,

2016). Em medicina veterinária, existem vários obstáculos à implementação de novos biomarcadores renais: é necessário validar as técnicas e reagentes já utilizados em medicina humana, é preciso identificar a influência de fatores extra-renais, e o uso de técnicas laboratoriais caras e de difícil execução pode ser um entrave (De Loor, Daminet, Smets, Maddens & Meyer, 2013).

A avaliação de algumas proteínas urinárias revelou-se promissora na localização da lesão renal, e na avaliação da gravidade da disfunção renal em humanos. Estudos semelhantes têm sido feitos em cães e gatos, revelando biomarcadores mais precoces no diagnóstico, comparativamente com os métodos convencionais. Biomarcadores renais, plasmáticos ou urinários, estão atualmente em investigação para que possam futuramente ser utilizados na prática clínica (Cobrin, Blois, Kruth, Abrams-Ogg & Dewey, 2013).

Ainda assim, nenhum biomarcador terá até à data capacidade para ser utilizado de forma isolada. Mesmo para identificar um só tipo de lesão, será provavelmente necessário desenvolver um painel composto por vários testes (Hokamp & Nabity, 2016).

3.1. Conceito de biomarcador e características

Um biomarcador, ou marcador biológico, é uma molécula cuja medição é indicadora de processos biológicos normais, doenças ou uma resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica. Um biomarcador ideal deverá reunir as seguintes características: ser não invasivo, específico, detetar doença aguda e crónica, sensível o suficiente que permita deteção precoce, relacionar-se com a gravidade da doença possibilitando o seu estadiamento, permitir a monitorização e progressão da doença, apto a localizar a lesão, ser indicador de prognóstico, ter baixo custo e acesso fácil e rápido (Biomarkers Definitions Working Group, 2001; Cobrin et al., 2013).

3.2. Biomarcadores plasmáticos

Qualquer fluido biológico, provindo de uma população clinicamente caracterizada, pode ser utilizado no processo de descoberta de novos biomarcadores. No entanto, o soro é o fluido de eleição, por ser considerado o fluido circulante mais abrangente, e que mais informação pode fornecer acerca dos processos patológicos e fisiológicos do organismo. Além de que, a existência de infra-estrutura e material laboratorial, nas clínicas e hospitais veterinários, para processar amostras de soro, tornam-no a amostra biológica mais adequada (Yerramilli et al., 2016).

A maior desvantagem da utilização de biomarcadores plasmáticos é a influência que fatores extra renais possam exercer. Situações de diminuição da perfusão renal, como estados de hipovolémia, ou de aumento da pressão hidráulica no espaço de Bowman que ocorre em caso de obstrução urinária, levam a uma diminuição da TFG e consequente aumento dos biomarcadores séricos sem que haja doença renal. Os biomarcadores plasmáticos são úteis após a TFG atingir o equilíbrio *steady-state*, o que dificilmente ocorrerá na insuficiência renal aguda, por exemplo, em que a TFG muda rapidamente (De Loor et al., 2013).

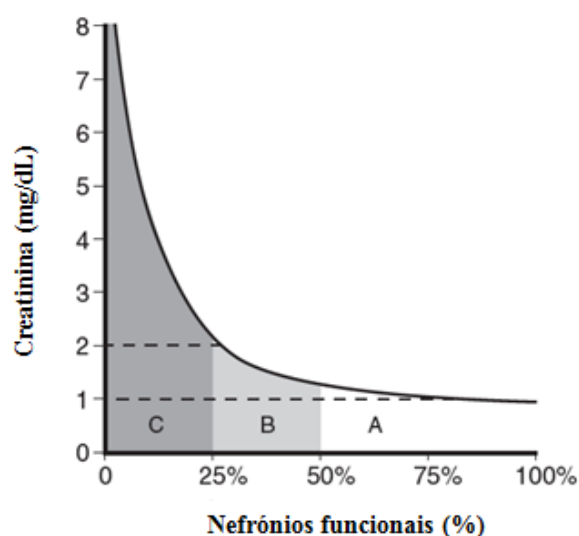
A dimetilarginina simétrica (“symmetric dimethylarginine”, SDMA) apesar de incluída neste capítulo será descrita à parte, no capítulo 4.

3.2.1. Creatinina

A creatinina é um produto da degradação da fosfocreatina muscular e a sua produção diária é determinada, em grande parte, pela massa muscular do indivíduo. Não sofre metabolização e é excretada pelos rins, quase exclusivamente por filtração glomerular. A taxa de excreção é relativamente constante e possui uma relação inversa com a TFG (DiBartola, 2010). Infelizmente esta relação não é linear, mas sim do tipo hipérbole, o que limita a sensibilidade na fase precoce da doença renal. Grandes variações da TFG no início da doença renal refletem-se em pequenas elevações plasmáticas de creatinina, e dificilmente são detetadas porque continuam dentro dos valores de referência. Já na fase avançada da doença, pequenas diminuições da TFG refletem grandes elevações na creatinina plasmática (Figura 2) (DiBartola, 2010; Grauer, 2016).

A falta de sensibilidade é notória ao analisarmos os intervalos plasmáticos de creatinina sugeridos pela Sociedade Internacional de Interesse Renal (“International renal interest society”, IRIS) para o estadiamento da DRC, onde o limite inferior para um felino no estágio 2 encontra-se ainda dentro dos intervalos de referência da maioria dos laboratórios (Grauer, 2017). A técnica de medição da creatinina, reação de Jaffe, não é específica e pode influenciar a interpretação dos resultados. Até 50% da medição da creatinina plasmática, pode ser

Figura 2. Relação exponencial entre a perda funcional de nefrônios e o nível de creatinina sérica (Adaptado de Chew et al, 2011a).



constituída por substâncias plasmáticas, denominadas de cromogénios além da creatinina. Estas substâncias não surgem na urina. A creatinina plasmática aumenta à medida que a doença renal progride, mas como a quantidade de cromogénios que não a creatinina é constante, com o evoluir da doença vão contribuir cada vez menos para a concentração plasmática de creatinina (DiBartola, 2010). Para comparação de resultados deve ser utilizada sempre a mesma técnica e laboratório para evitar variabilidade decorrente da técnica e intervalos de referência utilizados (Grauer, 2016).

A dieta influencia a concentração plasmática de creatinina, que aumenta durante as 12 horas após a refeição (Ghys et al., 2014). Animais mais jovens têm concentrações mais baixas, por outro lado os machos e animais bastante musculados têm concentrações mais elevadas. Cães de raças bastante pequenas têm concentrações mais baixas e raças gigantes podem apresentar níveis um pouco mais elevados. Os intervalos de referência normais podem variar entre raças, especialmente na raça canina Greyhound (Chew et al., 2011a). Animais desta raça apresentam naturalmente concentrações plasmáticas de creatinina ligeiramente mais elevadas não associadas a decréscimos da TFG, mas relacionado com a elevada massa muscular da raça (DiBartola, 2010). Apesar da variação racial ser mais evidente nos cães também ocorre em gatos (Hokmap & Nabity, 2016). Vários estudos reportaram concentrações fisiológicas de creatinina superiores na raça felina Sagrado da Birmânia e Siberiano, e em menor extensão nas raças felinas Siamesa e Somali. (Reynolds et al., 2010; Paltrinieri, Ibba & Rossi, 2014). No caso da raça felina Sagrado da Birmânia, por exemplo, os níveis superiores de creatinina não são justificados por uma maior percentagem de massa muscular desta raça. A avaliação da função renal deve ser feita com especial atenção nestas raças, especialmente os Sagrado da Birmânia, já que animais saudáveis podem apresentar valores acima do intervalo de referência e ser classificados em estádios avançados do estadiamento da IRIS (Paltrinieri, Ibba & Rossi, 2014). Estes dados sugerem a necessidade de desenvolver intervalos de referência específicos para estas raças felinas (Reynolds et al, 2010).

Animais caquéticos podem apresentar valores baixos de creatinina plasmática que não ocorreriam na presença de massa muscular normal, sobrestimando a função renal existente (Chew et al, 2011a; Grauer, 2016).

Após excluir fatores extra-renais, elevações acima do limite de referência traduzem uma perda funcional de pelo menos 75% dos nefrónios (DiBartola, 2010).

A magnitude do aumento não permite determinar a causa, diferenciar doença aguda de crónica, identificar o tipo de azotémia ou se é um processo progressivo ou não (DiBartola, 2010).

Em medicina humana têm vindo a ser desenvolvidas equações que englobam diferentes variáveis, como a idade e género, para diminuir a sua influência na avaliação da TFG através da creatinina. Em medicina veterinária ainda não foram desenvolvidas este tipo de equações (Langston, 2010).

As desvantagens do uso da creatinina podem ser atenuadas recorrendo a uma avaliação longitudinal, já que a variação da creatinina sérica é mínima ao longo das semanas e mesmo anos. Avaliar diferentes medições obtidas em diferentes momentos permite detetar pequenas variações que não devem ser ignoradas, mesmo que dentro do intervalo de referência. Não devem ocorrer elevações iguais ou superiores a 0,3 mg/dL em cães saudáveis, utilizando a mesma técnica laboratorial (Chew et al., 2011a; Hokamp & Nabity, 2016; Grauer, 2016). Em gatos assume-se que elevações de 17% nos valores de creatinina sérica traduzem diminuição da função renal (Hokamp & Nabity, 2016).

Este conceito de detetar pequenas, mas significativas, elevações da creatinina sérica também pode ser utilizado em casos de IRA, já incluído pela IRIS para estadiamento da IRA. Neste caso elevações de 0,3 mg/dL da creatinina sérica num período de 48 horas é critério para classificar o animal nos graus I e II de IRA (Hokamp & Nabity, 2016).

Os valores de referência para a creatinina plasmática são de 0,3 a 1,3 mg/dL e 0,8 a 1,8 mg/dL no cão e gato respetivamente (Chew et al., 2011a).

3.2.2. Ureia

A ureia é sintetizada pelo fígado a partir da amónia oriunda do catabolismo dos aminoácidos, procedentes do catabolismo proteico exógeno (dieta) e endógeno. A excreção da ureia é feita primariamente através de filtração glomerular, e daí a sua excreção surgir afetada pela redução da TFG que decorre na doença renal (DiBartola, 2010).

Ocorre reabsorção de ureia nos túbulos renais, principalmente em situações de desidratação que levam a libertação da ADH com efeito estimulante na reabsorção da ureia. Faz com que a ureia aumente sem que haja diminuição da TFG presente, apenas por existir diminuição do volume plasmático (DiBartola, 2010; Verlander, 2013). Além disso, a produção e excreção da ureia não ocorre a uma taxa constante. Aumenta após a ingestão de refeições ricas em proteína, em caso de hemorragia gastrointestinal, e em situações que aumentem o catabolismo proteico, como infeções ou estados febris. A administração de alguns fármacos pode aumentar a concentração de ureia, como por exemplo os glucocorticóides, a azatioprina e as tetraciclina. No sentido contrário, pode surgir diminuída devido a dietas pouco ricas em proteína, insuficiência hepática grave ou shunts porto-sistémicos. A existência de todas estas

influências extra-renais tornam a ureia pouco fiável para estimar indiretamente a TFG (DiBartola, 2010).

A interpretação da concentração sérica de ureia deve ser feita paralelamente à medição da creatinina plasmática, mais fiável para estimar a TFG, e tendo em consideração a presença de fatores extra-renais (Polzin, 2010). A influência da dieta pode ser evitada ao realizar um jejum de 8 a 12 horas antes da colheita de sangue. Os valores de referência situam-se entre os 8 e 25 mg/dL no cão e 15 e 35 mg/dL no gato (DiBartola, 2010).

3.2.3. Cistatina C

A cistatina C é um pequeno polipéptido inibidor de protease produzido a uma taxa constante por todas as células nucleadas do organismo e libertada para o sangue durante a fagocitose e processos inflamatórios. Circula livremente e o seu baixo peso molecular, 13 kDa, permite que seja livremente filtrada pelo glomérulo. Não existe secreção tubular, mas é reabsorvida e catabolizada pelas células dos túbulos proximais quase na sua totalidade, o que faz com que a sua concentração urinária seja normalmente muito baixa. É eliminada exclusivamente pelos rins. Estas características tornam-na um biomarcador apetecível, a sua concentração plasmática pode servir como marcador da TFG, e apesar de ainda não utilizado de forma rotineira é bastante atrativa (Wehner, Hartmann & Hirschberger, 2008; De Loor et al., 2013; Hokamp & Nabity, 2016; Syme & Jepson, 2017).

Em medicina humana estão identificados diferentes fatores que influenciam a concentração sérica da cistatina C, nomeadamente a função tiroideia (hipertiroidismo e hipotiroidismo), neoplasias, asma e processos inflamatórios (Syme & Jepson, 2017).

Em medicina veterinária os estudos são mais escassos e necessitam de contínua investigação (Syme & Jepson, 2017). Ao contrário da creatinina, a cistatina C não é influenciada pela massa muscular esquelética (Monti, Benckekroun, Berlatto & Archer, 2012).

Um estudo que envolveu uma população canina mostrou que a idade, sexo, peso corporal e a presença de inflamação e neoplasia, não influenciam a concentração plasmática da cistatina C (Wehner, Hartmann & Hirschberger, 2008). Embora um estudo posterior, não corroborado por outros, tenha mostrado concentrações séricas de cistatina C aumentadas em cães muito jovens, geriátricos saudáveis e em animais com mais de 15 kg (Cobrin et al., 2013; Syme & Jepson, 2017). As concentrações plasmáticas de cistatina C diminuem significativamente na primeira hora após a refeição, em cães. Esta diminuição perdura pelo menos 9 horas até retomar os valores normais, o que ocorre 12 horas após a refeição. Assim, as amostras devem ser obtidas após jejum de pelo menos 12 horas, em cães (Ghys et al., 2014).

Em gatos, a idade, sexo, raça e a presença de diabetes *mellitus* (DM), não mostraram alterar a concentração sérica de cistatina C (Syme & Jepson, 2017).

As suas concentrações surgem significativamente aumentadas em cães com doença renal, de várias causas, comparativamente a cães sem doença renal, e o mesmo acontece em gatos (Cobrin et al, 2013; Syme & Jepson, 2017). Embora em gatos os dados sejam contraditórios. O estudo conduzido por Poświatowska-Kaszczyszyn (2012) numa população de 70 gatos obteve concentrações séricas elevadas de cistatina C em animais com doença renal, face aos animais saudáveis. Mostrou inclusive um desempenho superior face à creatinina, sugerindo a cistatina C sérica como um parâmetro mais adequado para avaliação da função renal felina. Já o estudo conduzido por Ghys et al. (2016), com uma população de 90 gatos, a cistatina C sérica foi incapaz de diferenciar entre gatos saudáveis, e os afetados por DRC. Levando os autores deste estudo a contraindicar seu uso para avaliação da função renal em gatos.

Cães com doença renal mostraram concentrações séricas de cistatina C mais altas em comparação com outras doenças não renais: doenças imuno-mediadas, neoplasia, endócrina, dermatológica e cardíaca (Ghys et al., 2014). A cistatina C sérica já foi indicada como marcador precoce de insuficiência renal em cães com Leishmaniose, nefrite crónica e DM (De Loor et al., 2013). A cistatina C mostrou maior sensibilidade e valor preditivo negativo que a creatinina sérica, tornando-a um melhor teste para doença renal canina precoce (Wehner et al., 2008).

A ausência de influência por parte da massa muscular, traria vantagem face à creatinina no diagnóstico de azotémia mascarada, nos gatos com hipertiroidismo. Sabe-se que animais hipertiroideos possuem TFG aumentadas e massa muscular reduzida, que contribuem para uma diminuição da concentração de creatinina sérica. Esta diminuição, pode dificultar a deteção dos gatos que, para além do hipertiroidismo, possuam doença renal. No entanto, um estudo veio mostrar que, em gatos com hipertiroidismo, a concentração sérica de cistatina C surge aumentada independentemente da presença ou não de azotémia oculta (Williams, Dillon, Elliott, Syme & Archer, 2016).

Vários estudos têm investigado a utilidade da cistatina C em cães e gatos, mas até à data, nenhum deles mostrou superioridade consistente sobre a creatinina e existem alguns fatores que podem limitar a sua utilidade enquanto marcador (Syme & Jepson, 2017). Os dados existentes mostram sobreposição entre as concentrações séricas de cistatina C entre cães saudáveis e cães com doença renal, o que indica que até à data, a cistatina C não será um bom biomarcador renal. Em gatos os estudos são mais escassos, mas os poucos existentes são contraditórios (Ghys et al., 2014).

As técnicas de imunoensaio utilizadas para quantificar a cistatina C sérica são: imunoensaio turbidimétrico melhorado de partículas (“particle enhanced turbidimetric assay”, PETIA) e imunoensaio nefelométrico melhorado de partículas (“particle enhanced immunonephelometric assay”, PENIA) (Syme & Jepson, 2017).

Já existe um imunoensaio disponível no mercado para cães comercializado pelo BioVendor®, mas apenas está disponível para uso em investigação (BioVendor, 2018). Sabe-se que os resultados obtidos não refletem a real concentração de cistatina C, pois as moléculas de cistatina C caninas e felinas não são totalmente homólogas à humana. No entanto alguns autores têm validado o uso dos testes disponíveis para pacientes humanos com sucesso. Wehner et al. (2008) usaram o ensaio PETIA de humanos para medir a cistatina C sérica em cães e o mesmo foi validado para o uso em soro felino, também o ensaio PENIA foi validado para utilização em felinos (Williams et al, 2016; Ghys et al., 2016).

Ghys et al. (2014) sugerem que ambos os testes necessitam de validação e correlação com a medição da TFG para determinar qual deles será o mais indicado para uso veterinário.

Os valores normais da cistatina C plasmática são inferiores a 2,28 mg/L no cão, e inferiores a 1,95 mg/L nos gatos. Estes valores de referência foram obtidos através das técnicas PETIA e PENIA, no cão e gato, respetivamente. (Hokamp & Nabity, 2016).

3.2.4. Fator de crescimento-23 de fibroblastos

O fator de crescimento-23 de fibroblastos (“fibroblast growth factor-23”, FGF-23) foi identificado pela primeira vez em humanos com alterações na homeostasia do fósforo. Desde aí que mostrou ter um papel fisiológico importante na sua regulação e no metabolismo da vitamina D (Finch, Geddes, Syme & Elliott, 2013).

O FGF-23 é uma fosfatona sintetizada e excretada pelos osteoblastos e osteócitos para o sangue, em resposta ao aumento do fósforo plasmático. O FGF-23 inibe a reabsorção renal de fósforo, aumentando a sua excreção urinária, e suprime a ação do calcitriol, o que diminui a reabsorção intestinal do fósforo. É ainda capaz de suprimir a atividade da enzima alfa-1-hidroxilase no rim, essencial na produção do calcitriol pelo rim. O calcitriol e o fosfato da dieta levam ao aumento da produção do FGF-23 em humanos saudáveis (Hokamp & Nabity, 2016; Finch et al., 2013).

A concentração plasmática de FGF-23 surge aumentada em diferentes estudos realizados com pacientes humanos, afetados por DRC. Este aumento pode surgir como um mecanismo compensatório, secundariamente a alterações dos níveis séricos de fósforo, ou poderá ser simplesmente um marcador da TFG reduzida nos pacientes com DRC (Finch et al., 2013).

Fragmentos terminais do FGF-23, biologicamente inativos, podem acumular-se em pacientes com DRC. No entanto os testes existentes medem a proteína FGF-23 intacta e ativa, considerada mais precisa. Os estudos têm tido como foco principal gatos com DRC. O teste desenvolvido para humanos está validado para detetar o FGF-23 plasmático em gatos, o intervalo de referência para gatos varia entre 56-700 pg/mL (Finch et al., 2013; Hokamp & Nabity, 2016). Em gatos geriátricos sabe-se que o FGF-23 plasmático aumenta antes do aparecimento da azotemia, e progressivamente com o avançar da DRC. Existe uma correlação positiva entre o FGF-23 e a paratormona, o que sugere uma relação deste com o hiperparatireoidismo renal secundário (Finch et al., 2013; Geddes, Finch, Elliott & Syme, 2013). Gatos que apresentam hiperfosfatemia, possuem concentrações plasmáticas de FGF-23 superiores quando comparados a gatos normofosfatémicos, do mesmo estágio de DRC da IRIS (Hokamp & Nabity, 2016).

3.3. Biomarcadores urinários

A proximidade ao rim, e a facilidade de obtenção, fazem da urina um meio promissor para identificar biomarcadores precoces de lesão renal. Consoante a fase da doença renal, será benéfico avaliar diferentes biomarcadores urinários, cujo desempenho seja melhor para cada situação. A deteção precoce de doença renal permite não só ajudar a perceber a fisiopatologia das doenças, como possibilita que o seu tratamento seja iniciado o mais cedo possível (De Loor et al., 2013).

O desenvolvimento de novos biomarcadores urinários é suportado pela fisiopatologia da doença renal e na utilização de técnicas genómicas que permitem identificar as proteínas presentes na urina (De Loor et al., 2013).

A ocorrência de proteinúria renal persistente pode ser um indicador precoce de DRC e é um fator de prognóstico negativo em cães com DRC. A medição do rácio UPC, a técnica normalmente utilizada, não permite diferenciar lesão glomerular de tubular. Nas doenças renais proteinúricas existem proteínas de diferentes tamanhos na urina de acordo com as diferentes regiões do nefrónio lesadas (Hokamp et al., 2016).

No glomérulo a filtração das moléculas é limitada pelo seu tamanho, proteínas com peso molecular superior a 70 kDa são normalmente retidas e não surgem no filtrado glomerular. A albumina (69 kDa), que consegue atravessar a barreira glomerular, é removida do filtrado nos tubos contornados proximais, quase na sua totalidade (Elliot & Grauer, 2007). Todas as proteínas com elevado peso molecular (>100 kDa) são normalmente retidas e não surgem no filtrado. As proteínas com baixo peso molecular (<40 kDa) são livremente filtradas pelo

glomérulo e reabsorvidas nas células dos túbulos proximais, assim a proteinúria é normalmente bastante baixa num animal saudável (Hokamp & Nabity, 2016; Syme & Jepson, 2017). Também a carga da proteína consegue influenciar a sua passagem pela barreira glomerular, as proteínas com carga positiva atravessam-na muito mais facilmente face às proteínas com carga negativa (De Loor et al., 2013).

A reabsorção das pequenas proteínas que atravessam livremente o glomérulo ocorre através de um processo de endocitose mediado por recetores, assim existe um ponto de saturação que é atingido quando os túbulos estão a funcionar na sua capacidade máxima. Quando todos os recetores atingem o seu ponto de saturação, as proteínas presentes no filtrado escapam para a urina. Na presença de hipertensão glomerular, a pressão nos capilares glomerulares aumenta, o que conduz ao aumento da TFG. Esta contribui para o aumento dos poros da barreira de filtração, e conseqüente ultrafiltração de proteínas (Harley & Langston, 2012).

Assume-se que a proteinúria renal pode surgir, e ser classificada, de duas formas principais: por alteração na permeabilidade da barreira glomerular ou por incapacidade das células dos túbulos proximais em reabsorver as proteínas. Caso exista lesão tubular, a proteinúria existente é menos marcada, visto existir apenas uma reabsorção menos eficiente das proteínas (Hokamp & Nabity, 2016; Syme & Jepson, 2017). Pelo contrário, a proteinúria será mais acentuada caso haja alteração da permeabilidade da barreira glomerular. Sendo esta o mecanismo mais importante para a prevenção da proteinúria, quando encontra-se lesada, leva à presença de grande quantidade de proteínas de médio a elevado peso molecular na urina (Harley & Langston, 2012; De Loor et al., 2013).

A presença de proteínas de elevado peso molecular como as imunoglobulinas na urina é indicativo de lesão glomerular. Mas por outro lado as proteínas de baixo peso molecular e enzimas tubulares são um sinal mais específico de lesão tubular (Hokamp et al., 2016). Tanto na lesão tubular primária como secundária vão surgir na urina enzimas do citoplasma das células tubulares (De Loor et al., 2013).

Ao invés de medirmos a proteinúria total, medir proteínas específicas na urina pode dar mais informação acerca da patogénese da doença renal. Todas estas proteínas são detetadas em simultâneo durante urianálises de rotina e medição do rácio UPC, e com testes mais sofisticados será possível a sua diferenciação. Uma avaliação proteómica permite ter uma visão geral das proteínas e péptidos da urina, existem várias técnicas disponíveis para esta abordagem, tal como a espectrometria em massa que permite obter um mapa extenso das proteínas presentes na urina. Embora esta técnica seja mais utilizada em medicina humana e não tão frequentemente em medicina veterinária. No entanto pode ocorrer lesão glomerular e

tubular em simultâneo, o que pode limitar os benefícios em avaliar a quantidade de proteínas de baixo e alto peso molecular (De Loor et al., 2013).

A utilização de concentrações absolutas de biomarcadores urinários pode ser perigosa quando a função renal está instável, uma vez que situações de oligúria e poliúria podem diminuir ou aumentar, respetivamente, a sua concentração (Waikar, Sabbisetti & Bonventre, 2010). Assim, a utilização da creatinina urinária para calcular rácios poderá não ser indicada em situações de IRA (Hokamp & Nabity, 2016).

Para evitar estas situações os biomarcadores urinários são normalmente expressos sobre a forma de rácios em relação à creatinina urinária (a concentração do biomarcador é dividida pela concentração da creatinina urinária). A utilização da creatinina urinária para cálculo de rácios assume que a sua excreção é constante ao longo do dia e, tal como os biomarcadores, inversamente proporcional ao débito urinário. Assim, permite corrigir a concentração dos biomarcadores face a variações da sua excreção ou volume urinário produzido. Desta forma é possível com uma única amostra de urina obter a medição do biomarcador sem a necessidade de realizar a colheita de toda a urina produzida ao longo de 24 horas (Pressler, 2015; Kovarikova, 2015; Hokamp & Nabity, 2016). Em alternativa, a urina pode ser diluída numa DUE padrão de 1,010 antes de medir o biomarcador urinário, em caso de suspeita de IRA (De Loor et al., 2013).

Um estudo com uma população canina afetada por DRC com proteinúria mostrou que marcadores convencionais (creatinina e rácio UPC) correlacionam-se com lesão renal de igual ou até melhor forma comparativamente aos novos biomarcadores urinários avaliados neste estudo. No entanto estes novos biomarcadores conseguem, para além de identificar lesão glomerular e tubular, fornecer informação adicional que pode ajudar a distinguir entre lesão glomerular e tubular, entre categorias da doença e até para prever o prognóstico. Relativamente às limitações da creatinina sérica os novos biomarcadores são úteis em cães de raças pequenas ou em situação de caquexia em que podem ajudar a confirmar e interpretar concentrações séricas de creatinina duvidosas e mesmo na deteção precoce de lesão renal (Hokamp et al., 2016).

3.3.1. Biomarcadores de lesão glomerular

3.3.1.1. Imunoglobulinas

As imunoglobulinas (Ig) são grandes glicoproteínas produzidas pelos linfócitos B ativados (plasmócitos) no baço, linfonodos e medula óssea e estão envolvidas na imunidade humoral. Estas glicoproteínas têm diferentes pesos moleculares: 150 kDa no caso da imunoglobulina G (IgG), 160 kDa no caso da imunoglobulina A na sua forma monomérica (IgA) e 900 kDa no caso da imunoglobulina M (De Loor et al., 2013; Hokamp & Nabity, 2016).

Estas imunoglobulinas são consideradas proteínas de elevado peso molecular que não conseguem ultrapassar a barreira glomerular num rim saudável. Na presença de lesão glomerular elas podem atingir o filtrado urinário e ser consideradas marcadores de lesão glomerular (Kovarikova, 2015; Hokamp & Nabity, 2016).

Alguns estudos mostram que a IgG urinária não é significativamente influenciada pela presença de hematúria/hemoglobinúria, piúria ou infeção do trato urinário. No entanto esta informação carece de mais investigação, já que outros autores relatam elevações da IgG urinária em animais com sedimento urinário ativo, contrapondo outros estudos (Hokamp & Nabity, 2016).

Foram detetadas concentrações elevadas de IgG na urina de cães com nefropatia hereditária ligada ao cromossoma X numa fase inicial da doença, com uma forte correlação com o rácio UPC (Kovarikova, 2015). Também foram detetadas em casos de DRC, envenenamento de cobra, piómetra, leishmaniose, leptospirose e hipercotisolismo (De Loor et al., 2013; Hokamp & Nabity, 2016). Não existem até à data estudos que avaliem a IgM e IgA urinárias em animais de companhia com IRA (Hokamp & Nabity, 2016).

Tal como a IgG, também a IgA foi encontrada em grande quantidade na urina de cães com leishmaniose, leptospirose e piómetra quando comparados com a população canina saudável (De Loor et al., 2013). A IgA não foi ainda detetada na urina de cães saudáveis (Hokamp & Nabity, 2016).

Na urina, a IgG pode ser medida através da técnica *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) (Kovarikova, 2015). O rácio IgG/creatinina urinária médio é geralmente inferior a 3 mg/g, com valores máximos observados inferiores a 10 mg/g. Não existem ainda estudos que descrevam as concentrações urinárias de IgM em animais saudáveis, embora os autores refiram, que na sua experiência, a concentração é normalmente bastante baixa (Hokamp & Nabity, 2016).

3.3.1.2. Albuminúria e Microalbuminúria

A albumina é a proteína mais abundante no plasma. Possui um peso molecular médio de 69 kDa e é produzida pelos hepatócitos. É responsável por manter a pressão oncótica, atua como transportadora e é considerada uma proteína de fase aguda negativa (De Loor et al., 2013; Hokamp & Nabity, 2016). O seu tamanho e carga negativa fazem com que a barreira glomerular consiga limitar a sua passagem quase na totalidade (De Loor et al., 2013). Não surge, normalmente, em grande quantidade no filtrado glomerular. O filtrado glomerular de cães e gatos saudáveis contém apenas 2-3 mg/dL de albumina, comparativamente com os 4 g/dL presentes no plasma. Esta pequena quantidade de albumina é reabsorvida quase na totalidade pelas células epiteliais dos túbulos proximais e posteriormente degradada pelos lisossomas. Após reabsorção a concentração de albumina na urina atinge valores normais inferiores a 1 mg/dL (Kovarikova, 2015).

A presença de albuminúria indica perda de função renal, seja por lesão glomerular (ocorre grandes perdas de albumina) ou tubular (diminui a capacidade para reabsorver a degradar a pequena quantidade de albumina presente no filtrado glomerular). A albuminúria de origem glomerular é normalmente de maior magnitude (Kovarikova, 2015). A albumina é a proteína predominante na maior parte das situações de proteinúria e a maior parte dos testes comerciais detetam albumina. Os dados que comparam a concentração de albumina urinária com a concentração total de proteína urinária, mostram que estas são similares e não existe vantagem em utilizar uma e não outra (Harley & Lagston, 2012).

Existem vários métodos para avaliar a proteinúria. As tiras urinárias são um método colorimétrico, o mais sensível para detetar albumina, bastante usadas numa abordagem inicial. Apesar da sua sensibilidade, os resultados podem ser falseados na presença de urinas bastante concentradas, visto que a maioria das tiras é desenvolvida para humanos, cuja urina é por norma menos concentrada. Sempre que é detetada proteína através das tiras urinárias devem ser utilizados métodos quantitativos para quantificar a proteinúria. O rácio UPC é considerado o teste *gold standard* para avaliar a proteinúria e deve ser utilizado nos pacientes em que a tira urinária foi positiva (Harley & Langston, 2012).

O teste E.R.D. - Health Screen, ou *Early Renal Damage*, foi desenvolvido para medir facilmente a microalbuminúria. É um ensaio específico para a espécie e para cada espécie deve ser usado o teste correspondente, no cão e no gato. No entanto, este é apenas semi-quantitativo e não permite obter uma medição precisa da microalbuminúria. Estes testes foram desenvolvidos para usar em todos os cães e gatos, mas os valores de referência podem variar entre raças e diferentes idades (Pressler, 2015).

Embora as tiras de urina sejam o teste inicial de triagem para diagnóstico de proteinúria, a concentração urinária de albumina tem de ser no mínimo de 30 mg/dL para que seja detetada. A concentração normal de albumina na urina, aproximadamente 1 mg/dL, é bastante inferior ao seu limite de detecção. O intervalo entre estes dois valores, 1 a 30 mg/dL, é definido como microalbuminúria, valores acima dos 30 mg/dL são denominados de proteinúria evidente (*overt proteinuria*) (Pressler, 2015). A microalbuminúria pode permanecer indetetável através do rácio UPC (Paepe, 2015).

Um estudo sugeriu que a albumina urinária pode aumentar com a idade em gatos saudáveis. Outros mostram que nem sempre existe correlação entre a microalbuminúria e o rácio UPC em gatos, este último pode estar aumentado sem que ocorra aumento da microalbuminúria correspondente (Harley & Langston, 2012).

Em cães o exercício extenuante não causou microalbuminúria transitória (Pressler, 2015).

O rácio albumina/creatinina urinário surge elevado tanto na IRA como na DRC, incluindo lesão renal devido à ação de nefrotóxicos, piómetra e hipercortisolismo (Hokamp & Nabity, 2016). Microalbuminúria persistente ou proteinúria na presença de sedimento urinário inativo são fortes indicadores de DRC, em cães (De Loor et al., 2013).

Gatos no estágio I de DRC segundo a IRIS têm concentrações significativamente elevadas de albumina urinária e esta mostrou uma maior sensibilidade e especificidade para detetar DRC comparativamente à creatinina plasmática (Maeda et al., 2015).

Em gatos, a microalbuminúria persistente pode ser indicadora de doença renal, no entanto a microalbuminúria tem sido detetada em gatos saudáveis e em gatos com uma grande variedade de doenças não renais (infecciosas, inflamatórias, endócrinas, neoplásicas e doenças do trato urinário) (Paepe, 2015). Este fator pode colocar em causa a especificidade deste marcador para o diagnóstico de doenças renais (Harley & Langston, 2012; De Loor et al., 2013). A deteção de microalbuminúria pode não permitir localizar a lesão, pois ocorre em caso de lesão glomerular e tubular. Embora, normalmente, albuminúrias mais acentuadas estejam associadas a doenças glomerulares. Assim o papel da microalbuminúria no diagnóstico precoce de doença renal é questionável. (Kovarikova, 2015).

É necessária cautela na deteção precoce de doença renal em gatos com base na microalbuminúria, já que os estudos em cães e humanos focam-se na doença glomerular, que não é tão prevalente em gatos, nesta espécie a significância clínica deste marcador continua por descobrir (Harley & Langston, 2012; Sparkes et al., 2016).

A deteção de microalbuminúria pode permitir o diagnóstico precoce de aumento da proteína urinária excretada, que pode ocorrer devido a doença glomerular primária ou doenças inflamatórias extra-renais que secundariamente lesam os rins (Pressler, 2015).

Deve ser considerada uma ferramenta útil nos animais com predisposição ou com suspeita de doença renal, hipertensão e/ou outras doenças sistémicas frequentemente complicadas por proteinúria e que testam negativo noutros testes. Pode ainda ser utilizado como teste de triagem para nefropatias hereditárias (Harley & Langston, 2012).

Continua por clarificar quando devem iniciar tratamento e a necessidade ou não de investigação os animais que são positivos para microalbuminúria (Pressler, 2015).

3.3.1.3. Proteína C reativa

A proteína C reativa (“C reactive protein”, CRP) é uma proteína de fase aguda positiva produzida nos hepatócitos, de peso molecular elevado (110 e 144 kDa). É um marcador inflamatório bastante utilizado em medicina humana (Nakamura et al., 2008; Hokamp & Nabity, 2016). O seu peso molecular elevado não permite que atravesse a barreira glomerular saudável, a sua presença na urina é sinal de lesão glomerular, daí que tenha vindo a ser proposta como marcador renal de lesão glomerular em diferentes doenças (Kovarikova, 2015).

Num estudo em cães, as concentrações plasmáticas de CRP surgem elevadas em várias doenças inflamatórias, mas mais frequentemente nas doenças neoplásicas e imuno-mediadas, também a magnitude do aumento foi superior nestas duas situações (Nakamura et al., 2008).

O rácio CRP/creatinina urinário surge aumentado em animais com IRA e DRC, incluindo as causadas por leishmaniose, babesiose e piómetra. A idade não parece afetar o rácio CRP/creatinina urinário (Hokamp & Nabity, 2016).

Num estudo que mediu a concentração urinária de CRP em 10 cães com DRC, apenas 3 cães apresentaram concentrações aumentadas. Os autores sugerem que esta apenas aumenta quando a concentração plasmática está aumentada, e a barreira glomerular está lesada o suficiente para permitir a filtração de proteínas de elevado peso molecular (Smets, Meyer, Maddens, Duchateau & Daminet, 2010).

3.3.1.4. Outros biomarcadores

Para além dos biomarcadores já referidos, foram detetadas grandes quantidades de proteína de ligação da vitamina D e transferrina, na urina de cães com nefropatia hereditária ligada ao cromossoma X, comparativamente ao grupo saudável. Embora seja ainda necessário quantificar e avaliar estas proteínas, assim como o seu possível desempenho enquanto biomarcadores urinários em medicina humana e veterinária (De Loor et al., 2013).

A transferrina é uma proteína transportadora de ferro com um peso molecular médio (77 kDa) semelhante ao da albumina, embora o seu ponto isoelétrico seja diferente. Maeda et al. (2015) conduziram um estudo em 31 gatos, com doença renal no estágio I da classificação IRIS, que mostrou que a sensibilidade e especificidade da transferrina urinária é superior à demonstrada pela creatinina, nesse estudo. Embora a albumina urinária possua uma sensibilidade superior à demonstrada pela transferrina urinária, pelo contrário a transferrina urinária apresentou maior especificidade. Sendo que a perda de transferrina pelo glomérulo para a urina precede a passagem da albumina é sugerido, por Maeda et al. (2015), a inclusão da transferrina urinária nos testes bioquímicos para o estadiamento e diagnóstico precoce de doença renal em gatos. Neste mesmo estudo a albumina e a transferrina urinárias foram detetadas na população de controlo com frequências de 94,5% e 5,4% respetivamente. Indicando que a transferrina é rara em gatos saudáveis e poderá ser um indicador de DRC. No entanto não existiu correlação significativa entre a creatinina plasmática e a transferrina urinária em ambos os grupos de gatos, saudáveis e os incluídos no estágio I da IRIS (Maeda et al., 2015).

3.3.2. Biomarcadores de lesão tubular

3.3.2.1. Proteína de ligação ao Retinol

As proteínas de ligação ao retinol (“retinol-binding proteins”, RBP) são proteínas de baixo peso molecular (21 kDa) produzidas no fígado responsáveis pelo transporte do retinol (Pressler, 2015; Hokamp & Nabity, 2016). O complexo formado pela RBP e o retinol, representa cerca de 90% da RBP em circulação no plasma, liga-se à transtirretina (55 kDa). O tamanho deste complexo impossibilita a sua passagem pela barreira glomerular (Kovarikova, 2015). Após libertação do retinol nos tecidos alvo, a afinidade da RBP para a transtirretina diminui, a RBP livre é filtrada livremente pelo glomérulo e posteriormente reabsorvida e catabolizada nas células tubulares proximais (De Loor et al., 2013).

A presença de lesão tubular e/ou presença de quantidades elevadas anormais de proteína (o que acontece em caso de lesão glomerular, por exemplo) leva a uma menor reabsorção da RBP e consequente perda na urina (Hokamp & Nabity, 2016). Assim a RBP urinária tem sido sugerida como marcador de lesão tubular proximal em cães. Em cães e gatos saudáveis a RBP é normalmente indetetável ou está em quantidades muito baixas na urina (Hokamp & Nabity, 2016).

Os estudos existentes têm investigado a utilização da RBP urinária principalmente para deteção de lesão tubular em cães e gatos com DRC, e não tanto em casos de IRA. Cães com

DRC apresentam concentrações de RBP urinário aumentadas, tal como o rácio RBP urinário/creatinina. Ainda assim, as causas que levam ao seu aumento geram discórdia, poderá ser devido à lesão tubular primária ou à existência de proteinúria em si (Hokamp & Nabity, 2016). A RBP urinária surge elevada em gatos com DRC ou hipertiroidismo, nesta última normaliza após o tratamento desde que não exista DRC oculta. Ainda assim existe uma grande variação interindividual nas concentrações de RBP em gatos com DRC e hipertiroidismo (Cobrin et al., 2013).

A excreção urinária de RBP aumenta em cães com DRC, hiperadrenocorticismo não tratado, urolitíase e nefropatia hereditária ligada ao cromossoma X e em gatos com DRC e hipertiroidismo não tratado (De Loor et al., 2013; Pressler, 2015; Kovarikova, 2015).

Os estudos mostram que a RBP poderá ser um marcador promissor de lesão tubular na DRC canina. Em gatos hipertiroideus é complicado a sua utilização face à grande variabilidade interindividual e assim a RBP poderá não ser um bom marcador de lesão tubular em felinos (Cobrin et al., 2013).

Existem atualmente testes ELISA validados para identificar a RBP na urina de cães e gatos (Cobrin et al., 2013).

3.3.2.2. Lipocalina associada à gelatinase neutrofílica

A lipocalina associada à gelatinase neutrofílica (“neutrophil gelatinase associated lipocalin“, NGAL) é uma proteína intracelular, com baixo peso molecular (25 kDa), presente nos hepatócitos, neutrófilos e células epiteliais, incluindo as células epiteliais na ansa de Henle e tubos coletores. A sua expressão é baixa nos tecidos saudáveis, mas aumenta em resposta à inflamação, na lesão epitelial associada a IRA, e em processos neoplásicos (Pressler, 2015; Kovarikova, 2015; Hokamp & Nabity, 2016). Atravessa livremente o glomérulo e sofre reabsorção quase completa nos túbulos proximais. Na presença de lesão renal e proteinúria acentuada, a reabsorção da NGAL nos túbulos proximais fica comprometida (Hokamp & Nabity, 2016). A sua função primária é pouco clara, mas provavelmente estará associada à sua capacidade de ligar-se ao ferro extracelular. A sua capacidade de ligar-se a sideróforos e sequestrar o ferro permite que atue como bacteriostático (Yerramilli et al., 2016).

Em medicina veterinária a NGAL já mostrou aumentar em cães com DRC e, face ao seu aumento precoce e substancial após lesão renal, é considerado um biomarcador de IRA (Kovarikova, 2015). O rácio NGAL /creatinina urinário é mais sensível que a concentração sérica de creatinina para a deteção de IRA em humanos e aumenta com a progressão da DRC (Pressler, 2015). Kovarikova (2015) mostrou associação entre o desenvolvimento de IRA,

após diferentes tipos de cirurgias, e a NGAL urinária. Esta última aumentou cerca de 12 horas após a cirurgia, muito antes do aumento da creatinina sérica. A NGAL urinária foi recomendada como biomarcador para detecção de IRA.

A concentração urinária de NGAL, assim como o rácio NGAL urinário/creatinina, diminuem com a massa corporal (Daure, Belanger, Beauchamp & Lapointe, 2013). A presença de piúria, infeção do trato urinário e outras doenças do trato urinário inferior podem afetar marcadamente a concentração urinária de NGAL e o rácio NGAL urinário/creatinina em cães. Doenças não renais como a gastrite, enteropatia por perda de proteína, doença hepática, enterite, shunt portal e fraturas ósseas não parecem afetar a NGAL urinária (Hokamp & Nabity, 2016).

A NGAL urinária surge significativamente aumentada em cães não azotémicos com infeção do trato urinário (UTI) comparativamente a cães com cultura de urina negativa. Sendo a UTI frequentemente encontrada nas doenças renais, deverá ser feita cultura de urina antes da utilização da NGAL urinária enquanto biomarcador de IRA e DRC (Daure et al., 2013). Em cães, já existe um teste ELISA validado para quantificar a NGAL urinária (Cobrin et al., 2013).

3.3.2.3. Proteína Tamm-Horsfall

A proteína Tamm-Horsfall (PTH) (100 kDa) está presente na porção espessa ascendente da ansa de Henle e nos túbulos contornados distais. É uma das principais proteínas presentes na urina de cães saudáveis. A sua função biológica ainda não está totalmente clarificada, sabendo-se que representa a matriz de todos os cilindros urinários e poderá ter alguma atividade imunomoduladora (De Loor et al., 2013; Hokamp & Nabity, 2016). A PTH é sintetizada unicamente nas células epiteliais da porção ascendente da ansa de Henle e nos túbulos contornados distais. Daí ter sido sugerida como possível biomarcador de lesão tubular distal em cães (De Loor et al., 2013; Raila, Schweigert & Kohn, 2014).

Surge em concentrações bastante elevadas na urina normal, e diminui significativamente em cães e gatos com doença renal, como a DRC (Hokamp & Nabity, 2016). Um estudo que envolveu vários grupos de cães, mostrou que o rácio PTH/ creatinina urinário diminuiu no grupo de animais azotémicos e proteinúricos, o que não aconteceu nos animais não azotémicos ou com proteinúria no limite inferior (Raila et al., 2014). Em cães, a DRC está por vezes associada à presença de lesão tubular, tendo a PTH nesta espécie utilidade para caracterizar a gravidade da lesão, em cães gravemente azotémicos e proteinúricos (Raila et al., 2014). A elevada atividade metabólica das células da porção ascendente espessa da ansa de

Henle torna-as particularmente vulneráveis a lesão isquêmica. Consequentemente, na IRA causada por eventos isquêmicos, a avaliação da PTH como marcador precoce de IRA também poderá ser útil (De Loor et al., 2013).

3.3.2.4. Cistatina C urinária

Além de biomarcador plasmático, discutido anteriormente, a cistatina C pode ser detetada na urina. O seu baixo peso molecular (13 kDa) permite que seja totalmente filtrada através da barreira glomerular e posteriormente reabsorvida e catabolizada nos túbulos proximais. Em condições normais apenas pequenas quantidades de cistatina C são encontradas na urina. A sua concentração aumenta na presença de lesão tubular proximal (Kovarikova, 2015; Hokamp & Nabity, 2016). A sua avaliação deve ser acompanhada da avaliação da proteinúria total, já que proteinúrias acentuadas podem inibir a reabsorção tubular de cistatina C e aumentar a sua concentração urinária (Kovarikova, 2015).

O rácio cistatina C/creatinina urinário surge aumentado em cães e gatos com DRC quando comparado com animais saudáveis (Ghys et al., 2014; Pressler, 2015; Kovarikova, 2015). Embora estes dados não sejam corroborados por um estudo posterior, onde a cistatina C não conseguiu identificar 15 dos 49 gatos com DRC (Ghys et al., 2016).

3.3.2.5. Microglobulinas alfa 1 e beta 2

A microglobulina $\alpha 1$ e $\beta 2$ são proteínas de baixo peso molecular, com 27 e 11.8 kDa respetivamente, sendo consideradas biomarcadores de lesão tubular proximal (Cobrin et al., 2013).

A microglobulina $\alpha 1$ é uma proteína anti-inflamatória produzida no fígado e atravessa livremente a barreira glomerular, sendo reabsorvida pelos túbulos proximais. Em condições normais a urina contém quantidades muito baixas desta proteína. Em humanos é um marcador de lesão tubular proximal (Cobrin et al., 2013; Kovarikova, 2015). Esta proteína mostrou aumentar progressivamente no tempo em cães com síndrome de Alport, e com concentrações superiores às observadas nos cães saudáveis (Cobrin et al., 2013).

A microglobulina $\beta 2$ é uma proteína expressa em todas as células nucleadas, já foi detetada em grandes quantidades na urina de cães com nefropatia hereditária ligada ao cromossoma X, numa fase inicial da doença (Kovarikova, 2015). A microglobulina $\beta 2$ é instável em urina ácida, o que é uma grande limitação na sua utilização (Cobrin et al., 2013).

3.3.2.6. Enzimúria

As enzimas presentes na urina podem ser provenientes do sangue, das células tubulares renais ou do trato urogenital. No entanto, a contribuição das enzimas séricas é negligenciável, pois o seu tamanho (>80 kDa) impede a sua passagem pela barreira glomerular (Kovarikova, 2015).

As enzimas tubulares derivam das células epiteliais tubulares proximais e têm vindo a ser exploradas como possíveis marcadores de lesão tubular, constituindo um segmento do nefrónio metabolicamente ativo e que pode facilmente ser lesado, libertando enzimas na urina. Um problema na utilização das enzimas urinárias é a sua elevada sensibilidade, pois podem ocorrer elevações na ausência de qualquer outra alteração renal mensurável, e podem estar presentes num curto espaço de tempo após a lesão renal ocorrer. É recomendável a utilização de mais que uma enzima e em diferentes intervalos de tempo (Kovarikova, 2015).

As enzimas mais investigadas em animais domésticos incluem a N-acetil-β-D-glucosaminidase (NAG), uma enzima lisossomal, a gama-glutamil transpeptidase (GGT) e a fosfatase alcalina (FAS) que são enzimas da bordadura em escova (Hokamp & Nabity, 2016). Animais saudáveis apresentam concentrações urinárias de NAG, GGT e FAS bastante baixas. Existem testes validados para a medição da NAG urinária em cães e gatos, o mesmo ainda não foi feito para a GGT e FAS (Hokamp & Nabity, 2016).

A NAG pode ser detetada em vários tecidos, soro e urina. Existe na forma de várias isoenzimas, destacando-se a NAG-A e a NAG-B nas células tubulares proximais (Kovarikova, 2015). Em humanos saudáveis apenas a NAG-A é detetada na urina, enquanto a lesão renal conduz ao aumento da NAG-B. Em gatos saudáveis tanto a NAG-A como a NAG-B são detetadas na urina (Hokamp & Nabity, 2016).

Alguns estudos encontraram concentrações superiores de NAG em cães machos quando comparado com as fêmeas, embora este dado não seja consistente. Já em gatos não surgiu diferença entre géneros (Cobrin et al, 2013; Hokamp & Nabity, 2016). O ciclo circadiano não influencia a excreção da NAG urinária em cães e gatos (Kovarikova, 2015).

Em humanos a avaliação da NAG urinária, medida na forma de rácio em relação à creatinina urinária, é usada para monitorizar os efeitos nefrotóxicos de aminoglicosídeos, metais pesados ou no diagnóstico de nefropatia diabética (Kovarikova, 2015).

Das enzimas tubulares apenas a NAG tem sido avaliada em cães e gatos com DRC. O rácio NAG/creatinina urinário aparece aumentado na maioria dos cães e gatos com DRC quando comparados a animais saudáveis. Em cães com nefropatia hereditária ligada ao cromossoma X um dos primeiros sinais observados foi precisamente o aumento do rácio NAG/creatinina urinário, antes até do rácio UPC aumentar. No entanto não continuou a aumentar com a

progressão da doença e o rácio NAG/creatinina urinário tem vindo a ser inconsistentemente associado com o estágio IRIS em cães com DRC proteinúrica (Hokamp & Nabity, 2016).

O rácio NAG/creatinina urinário aumenta em cães com pielonefrite, DM não controlada, piómetra e hiperadrenocorticismo (Pressler, 2015; Hokamp & Nabity, 2016). Em gatos hipertiroídeos não permite detetar azotémia oculta e sozinha não é suficiente para prever o desenvolvimento de azotémia em gatos geriátricos (Kovarikova, 2015; Pressler, 2015). Alguns estudos mostram pouca correlação entre a creatinina e a NAG urinários em gatos. A existência de dados contraditórios faz com que a NAG possa não ser um bom marcador de DRC felina (Cobrin et al, 2013).

A GGT é utilizada no diagnóstico e avaliação de doenças hepatobiliares, mas é expressa também nas células epiteliais tubulares dos tubos contornados proximais, que libertam pequenas quantidades para a urina (Pressler, 2015). A GGT não é influenciada pelo ciclo circadiano ou pelo género, mas é afetada pelo pH da urina (os valores aumentam em urinas alcalinas). A GGT urinária é comumente utilizada para deteção de IRA (Kovarikova, 2015). A NAG e a GGT estão em estudo como possíveis marcadores precoces de IRA, em especial na IRA associada à administração de nefrotóxicos, como a gentamicina. São mais sensíveis e seguras na deteção de lesão tubular aguda induzida pela gentamicina, quando comparadas com outros marcadores (creatinina sérica, rácio UPC e DUE). Também têm sido avaliadas outras substâncias nefrotóxicas como a polimixina B em cães e sulfonamidas em gatos. Ambas conduziram ao aumento do rácio NAG/creatinina urinário. Não existem muitos estudos que avaliem as enzimas urinárias em casos de IRA, mas até à data os dados sugerem que as enzimas tubulares possam ser marcadores sensíveis de lesão tubular (Hokamp & Nabity, 2016).

A FAS é uma enzima da bordadura em escova, e o seu aumento na urina tem sido associado a lesão tubular proximal em cães (Kovarikova, 2015).

A FAS e a GGT podem ser utilizadas para detetar IRA mas não DRC em cães. Ambos os marcadores, sobre a forma de rácio com a creatinina urinária, conseguem diferenciar cães com IRA de cães saudáveis, embora o mesmo não aconteça no caso de DRC (De Loor et al., 2013).

A cauxina é uma enzima secretada para a urina pelas células tubulares proximais. Já foi detetada na urina e tecidos renais, mas está ausente de outros tecidos e do sangue. É a principal proteína urinária em gatos saudáveis. A sua excreção parece ser dependente da idade, não sendo detetada em gatos com menos de três meses. Surgem concentrações elevadas na urina de gatos inteiros, quando comparado com gatos castrados e fêmeas. A cauxina regula a produção de felinina, um presumível precursor de feromonas. Assim, pensa-se que a

cauxina seja importante no comportamento territorial e de marcação dos gatos (Jepson et al., 2010; Kovarikova, 2015).

Num estudo que envolveu uma população felina geriátrica, na qual foi avaliada a creatinina sérica e a cauxina urinária, o rácio cauxina/creatinina urinário não variou com a gravidade da azotémia. Embora neste estudo valores elevados do rácio cauxina/creatinina urinário tenham sido preditivos do desenvolvimento posterior de azotémia. Os autores não acreditam que a sua utilização possa vir a ser vantajosa face à medição do rácio UPC (Jepson et al., 2010).

3.3.2.7. Clusterina

A clusterina, também denominada apolipoproteína J, é expressa em vários tecidos e é parte de muitos processos fisiológicos. Embora as concentrações urinárias da clusterina aumentem na presença de lesão tubular renal, a concentração sérica é afetada por vários processos fisiológicos e fisiopatológicos (Yerramilli et al., 2016).

A clusterina urinária surge em concentrações bastante baixas, por vezes indetetáveis, em animais saudáveis. A sua concentração sérica em cães é bastante elevada, cerca de 1000 vezes superior, face à concentração urinária. A contaminação das amostras de urina com sangue, bastam pequenas quantidades, pode conduzir a falsos positivos (Yerramilli et al., 2016).

Em cães a clusterina tem sido avaliada como potencial marcador de IRA por nefrotóxicos. Sendo, juntamente com a NGAL, o biomarcador mais sensível para deteção de lesão tubular proximal induzida pela gentamicina (Kovarikova, 2015).

Yerramilli et al. (2016) administraram gentamicina em cães durante 5 dias consecutivos. Durante 15 dias avaliaram as concentrações séricas de creatinina e a clusterina urinária, esta aumentou ao 5º dia de administração e continuou a aumentar. Enquanto a creatinina manteve-se estável ao longo do estudo, apontando a clusterina como possível marcador mais sensível e precoce que a creatinina no diagnóstico de insuficiência renal ativa.

3.3.2.8. Novos biomarcadores em investigação

A interleucina 18 (IL-18) é uma citocina pró-inflamatória produzida e armazenada em células dos tubos contornados distais, tubos conectores e ductos coletores (Cobrin et al., 2013; Pressler, 2015). Na presença de eventos isquémicos, como na IRA, a IL-18 é libertada na urina (Cobrin et al., 2013).

As suas concentrações séricas e urinárias aumentam em pessoas com IRA, DRC e doença glomerular (Pressler, 2015). A avaliação da IL-18 pode ser usada para detetar IRA, sabendo-

se que o seu papel pró-inflamatório não é restrito ao rim. É também mediador em doenças inflamatórias não renais, como artrite e doença inflamatória intestinal, não sendo por isso específico de lesão renal (Cobrin et al., 2013).

A molécula de lesão renal 1 (“kidney injury molecule 1”, KIM-1) é uma glicoproteína da membrana celular encontrada nas células dos túbulos contornados proximais e excretada para a urina em pequenas quantidades (Cobrin et al., 2013; Pressler, 2015). Acredita-se que tenha um papel no processo de regeneração das estruturas tubulares (De Loor et al., 2013).

A expressão da KIM-1 aumenta nas 24-48 horas após uma lesão isquémica ou tóxica e também na presença de fibrose e inflamação. É considerada específica para a deteção de lesão tubular proximal e é usada na deteção de IRA em humanos (Cobrin et al., 2013; De Loor et al., 2013). Existe investigação em curso para a utilização da KIM-1 em felinos com doença renal, sendo considerada um marcador de IRA promissor (Cobrin et al., 2013).

Apesar do seu potencial, estas proteínas necessitam adequada avaliação em animais para que melhores conclusões possam ser tiradas (De Loor et al., 2013).

A interleucina 2 (IL-2), a proteína quimiotática de monócitos (“monocyte chemoattractant protein 1”, MCP-1), o fator estimulante de colónias de granulócitos-macrófagos (“granulocyte-macrophage colony stimulating factor”, GM-CSF) e a quimiocina derivada de queratinócitos (“keratinocyte chemoattractant”, KC) aumentaram antes da creatinina sérica num estudo com cães com IRA, após a administração de cisplatina (De Loor et al., 2013).

3.4. Utilização futura de biomarcadores renais

O desenvolvimento de biomarcadores renais com utilidade clínica é uma área em investigação ativa. Estudos em medicina humana têm apresentado novos biomarcadores com desempenho superior ao da creatinina sérica. Nomeadamente na avaliação da TFG (cistatina C), diagnóstico de IRA (NGAL, KIM-1, IL-18 e NAG) ou avaliação de DRC (cistatina C e RBP). Não só permitem avaliar a IRA e DRC, como permitem localizar a origem da lesão no nefrónio (Cobrin et al., 2013).

A maioria dos estudos existentes usa a creatinina sérica como marcador indireto de TFG, que é utilizada para comparar o desempenho dos biomarcadores, mas idealmente deviam ser utilizados métodos de *clearance* renal (Cobrin et al., 2013). A maioria destes biomarcadores necessita de mais investigação, embora os dados existentes mostrem que muitos deles poderão tornar-se marcadores úteis para o diagnóstico, monitorização e determinação do prognóstico em doentes renais (Hokamp & Nabity, 2016).

Se por um lado a utilização de biomarcadores urinários na detecção precoce de lesão tubular na IRA é bastante promissor, a sua utilização em doenças proteinúricas deve ter em consideração a influência das proteínas filtradas, em resultado das lesões decorrentes da doença (Hokamp & Nabity, 2016).

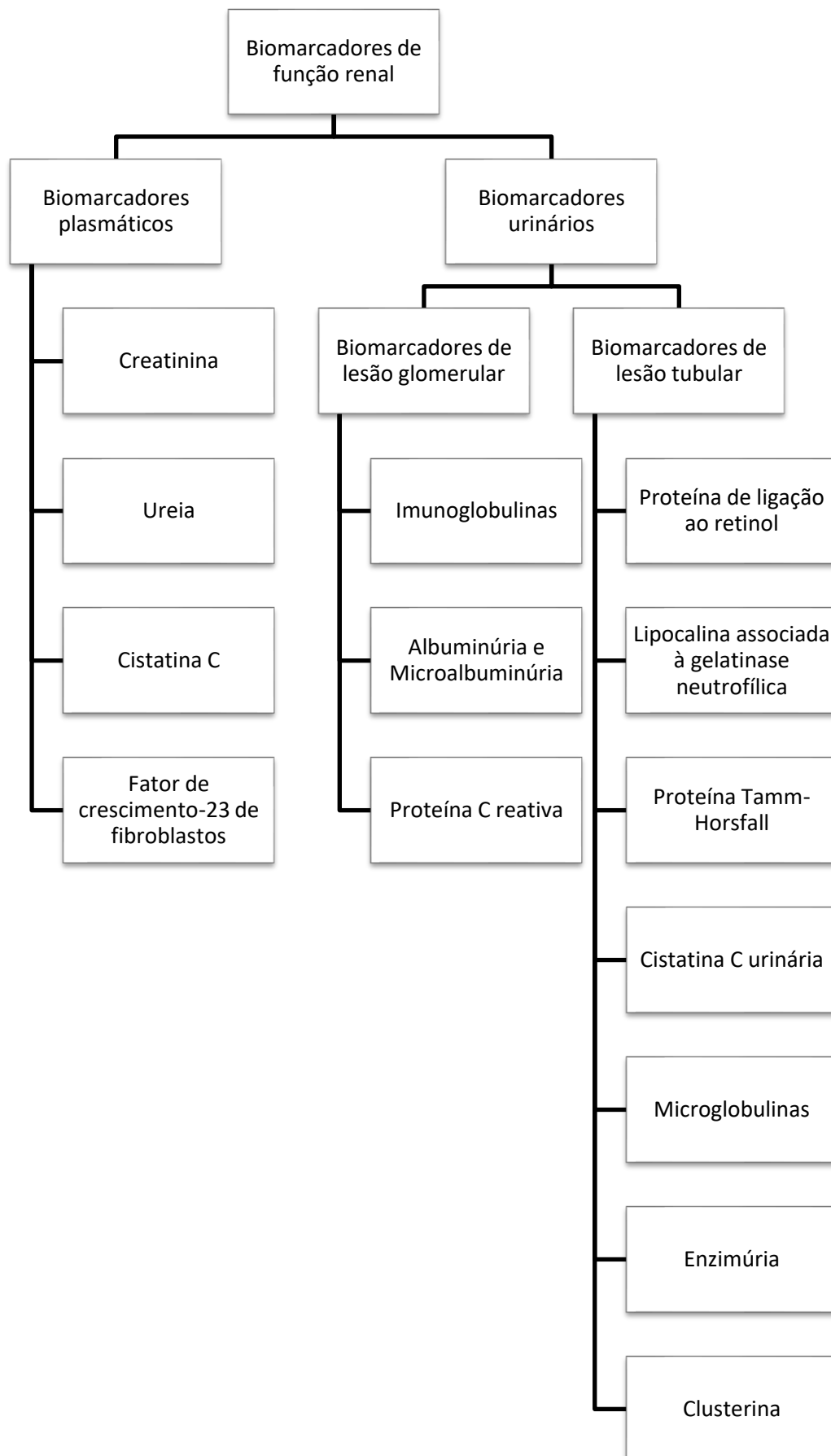
A presença de piúria e hematúria pode ser difícil de ultrapassar, principalmente no caso das proteínas plasmáticas afetadas pela alteração na reabsorção tubular (como a RBP e a cistatina C). Para indicador de lesão tubular devem ser utilizados biomarcadores exclusivamente produzidos pelos túbulos renais, ou que possuam formas renais específicas diferenciadas das formas plasmáticas (Hokamp & Nabity, 2016).

Os biomarcadores apresentam diferentes sensibilidades consoante a doença em causa, o seu estágio e conseguem ser específicos quanto à localização da lesão. Dificilmente será possível apontar um único biomarcador como substituto ideal da creatinina. Esta, apesar das suas conhecidas limitações, continua a ser um marcador da doença renal útil e prático. É expectável que no futuro se venha a utilizar um painel de biomarcadores, juntamente com a creatinina, e não um único teste de forma a obter uma melhor avaliação da função renal e diagnosticar doenças o mais precocemente possível (Cobrin et al., 2013; Hokamp & Nabity, 2016).

O trajeto de um biomarcador desde a bancada de um laboratório até à clínica é longo e complicado. Existem vários biomarcadores descobertos e reportados de forma regular, mas muito poucos chegam à clínica. São muitos os requisitos e critérios para um biomarcador poder ser adaptado na prática clínica (Yerramilli et al., 2016).

A figura 3 apresenta um esquema com os biomarcadores atuais, mais relevantes, e abordados ao longo do capítulo 3.

Figura 3. Esquema resumo sobre os biomarcadores, plasmáticos e urinários, abordados no capítulo 3.



4. Dimetilarginina Simétrica

4.1. Da descoberta ao papel de biomarcador renal

Em 1970 foram isoladas pela primeira vez a SDMA e a dimetilarginina assimétrica (“asymmetric dimethylarginine”, ADMA) em urina humana, tendo sido descritas como derivados metilados do aminoácido arginina. O estudo dirigido por Kakimoto e Akazawa (1970) permitiu identificar diferentes aminoácidos e seus derivados na urina humana, entre os quais as dimetilargininas. Foi colocada a hipótese de estas novas moléculas poderem desempenhar um papel funcional na síntese proteica e ainda a possibilidade de poderem vir a funcionar como marcadores do catabolismo das proteínas tecidulares, o que faria com que pudessem ser utilizadas para detetar pessoas doentes (Kakimoto & Akazawa, 1970).

Nos anos seguintes surgiram novos dados sobre a localização das dimetilargininas. As maiores concentrações surgiram no cérebro bovino e no cérebro de ratos, e relativamente altas no fígado, pulmão, rim, baço e intestino delgado (Nakajima, Matsuoka & Kakimoto, 1971). O seu catabolismo foi pela primeira vez investigado através da injeção intravenosa dos derivados metilados de arginina em modelo de coelho. Enquanto a ADMA e a monometilarginina (MMA) sofreram metabolismo a SDMA foi excretada quase sem alteração na urina. Foi possível perceber o papel do rim como principal via de excreção para a SDMA, com uma taxa de excreção 30 vezes superior à ADMA (McDermott, 1976).

Mais tarde, em 1992, é estudada a possibilidade das dimetilargininas, inibindo a produção de óxido nítrico, poderem desempenhar um papel na progressão da DRC em humanos, à qual está normalmente associada a hipertensão, disfunção imunitária e doença cardiovascular. O óxido nítrico é importante na regulação da pressão arterial ao regular o tónus vascular, e também como neurotransmissor. Recorrendo a um grupo de doentes em fase final de DRC e em hemodiálise confirma-se que a ADMA, mas não a SDMA, é um potente inibidor da síntese de óxido nítrico tanto no homem como em animais. No entanto, ambas as moléculas estavam aumentadas nos pacientes em hemodiálise (Vallance, Leone, Calver, Collier & Moncada, 1992).

A partir daí a ADMA tornou-se o principal foco de investigação, na tentativa de desvendar o seu papel na fisiopatologia da doença renal, e principalmente no desenvolvimento de hipertensão e doença cardiovascular associadas. Pelo contrário, a SDMA não obteve tanta atenção. Foi durante muito tempo vista como um isómero inerte da ADMA sem papel na síntese de óxido nítrico ou como marcador de função renal (Schwedhelm & Böger, 2011; Schepers, Speer, Bode-Böger, Fliser & Kielstein, 2014; Relford, Robertson & Clements, 2016). A investigação feita durante os anos seguintes raramente viria a incluir valores da

SDMA ou estes surgiam em segundo plano (Kielstein, Salpeter, Bode-Boeger, Cooke & Fliser, 2006).

A primeira vez que a SDMA é vista como potencial biomarcador de insuficiência renal ocorre já em 1997, com base numa amostra bastante significativa de doentes renais crónicos humanos não sujeitos a hemodiálise, ao contrário da maioria dos estudos publicados até à. O objetivo deste estudo era identificar diferentes compostos da guanidina, entre os quais estavam as dimetilargininas, que atuassem como toxinas urémicas na urina e plasma destes doentes e pudessem ser usados como parâmetros de diagnóstico. Verificou-se que a concentração plasmática de SDMA estava 10 vezes aumentada nestes doentes, e a ADMA apenas duplicou a sua concentração plasmática e numa fase final de insuficiência renal. A SDMA foi uma das moléculas pesquisadas que mostrou melhor correlação com a *clearance* da creatinina ($r=-0,916$; $P<0,0001$). Estes resultados permitiam então sugerir o SDMA como parâmetro complementar de diagnóstico de insuficiência renal pela primeira vez (Marescau et al., 1997).

Bode-Böger et al. comprovaram a capacidade da SDMA em estimar a TFG e reforça o seu papel enquanto biomarcador renal. No mesmo estudo, pela primeira vez, é demonstrado na prática o efeito inibitório da SDMA na produção de óxido nítrico *in vitro*, já descrito em teoria nove anos atrás (Closs, Basha, Habermeier & Förstermann, 1997; Bode-Böger et al., 2006).

O interesse continuou a crescer, no mesmo ano uma importante meta-análise que envolveu 18 estudos com 2136 pacientes humanos mostrou uma grande correlação entre a SDMA e a TFG, quer através da *clearance* de inulina ($r=0,85$; IC 0,76-0,91; $P<0,0001$), como com a creatinina plasmática ($r=0,75$; IC 0,46-0,89; $P<0,0001$). Estes resultados permitiram confirmar a possibilidade da SDMA se tornar num marcador renal seguro (Kielstein et al., 2006).

Dois anos mais é publicado o primeiro estudo com pacientes veterinários, baseado em 69 gatos com doença renal crónica e hipertensão, que consegue demonstrar uma boa correlação entre a SDMA e a creatinina plasmática ($r=0,741$; $P<0,001$). Neste estudo, com a medição da ADMA plasmática não foi detetada relação com os animais hipertensos, contrastando com os dados da literatura humana em que a ADMA mostrou ter um papel importante como inibidora da síntese de óxido nítrico (Jepson, Syme, Vallance & Elliott, 2008). Até esta data os animais surgiam apenas como modelo de estudo do papel da ADMA na síntese do óxido nítrico e na disfunção endotelial associada à doença cardíaca. O foco dos investigadores era avaliar o papel da ADMA no desenvolvimento de sinais cardiovasculares consequentes da doença renal, de forma a desenvolver terapêuticas preventivas (Ohnishi et al., 2002; Pedersen et al., 2003; Tatematsu et al., 2007).

4.2. Metabolismo

São conhecidos três tipos de derivados da metilação da arginina presentes nas células de mamíferos, a ADMA, SDMA e a MMA. Esta última surge em níveis plasmáticos bastante baixos, em comparação com a ADMA e SDMA (Tain & Hsu, 2017).

A SDMA, tal como a ADMA e MMA, é fruto da metilação intracelular do aminoácido L-arginina e é originada no núcleo de todas as células. Esta reação é feita através de um processo obrigatório de metilação e modificação pos-translacional dos resíduos de arginina de várias proteínas intracelulares que é conduzido pelas enzimas proteína-arginina-metiltransferases (PRMT) (Kielstein et al., 2006). Quando ocorre proteólise, as dimetilargininas são libertadas na circulação sanguínea e depois excretadas na urina. Ainda que sejam análogos da L-arginina, o facto de não serem influenciados pela concentração de arginina e da sua administração oral, é a prova de que são produtos endógenos que não derivam da metilação direta do aminoácido. Este é incorporado na forma de proteína e só depois ocorre o processo de metilação (Kakimoto & Akazawa, 1970).

A ADMA sofre metabolização por ação de três enzimas: dimetilarginina dimetilaminohidrolase-1 (DDAH-1), dimetilarginina dimetilaminohidrolase-2 (DDAH-2) e a alanina-glioxilato aminotransferase 2 (AGXT2) (Tain & Hsu, 2017). Aproximadamente 80% da ADMA é eliminada através de metabolização enzimática, tornando-a um mau marcador de função renal (Yerramilli, Farace, Quinn & Yerramilli, 2016). Assim apenas 20% da ADMA plasmática é excretada pelo rim (Relford et al., 2016). Sabe-se que o rim é rico na enzima DDAH e que consoante o grau de lesão renal a sua atividade poderá estar reduzida. Sendo este o principal fator para o aumento de ADMA na doença renal, mais importante que a redução da TFG em si (Kielstein et al., 2006; Schwedhelm & Böger, 2011).

A produção de SDMA é considerada relativamente constante, embora alterações no catabolismo proteico ou metilação da arginina possam, em teoria, alterar as concentrações plasmáticas de SDMA (Hokamp & Nabity, 2016). Graças ao seu pequeno peso molecular e carga positiva, a SDMA é uma molécula livremente filtrada pelo glomérulo, e ao contrário da ADMA, é amplamente excretada na urina. A SDMA não sofre uma extensa metabolização como a ADMA, o que a torna um bom candidato a biomarcador renal (Relford et al., 2016; Kielstein et al., 2006). É possível que uma pequena parte da SDMA sofra metabolização por ação da AGTX2 que está presente em grande quantidade no fígado e rim (Hokamp & Nabity, 2016).

A eliminação da SDMA não é exclusiva do rim, sabe-se que a SDMA chega em grandes quantidades ao fígado humano através da circulação portal e sistémica (Siroen et al., 2005). A excreção renal de SDMA pode atingir valores superiores a 90%, o que justifica que alterações

na TFG alterem a concentração sérica de SDMA (Schwedhelm & Böger, 2011; Hall, Yerramilli, Obare, Yerramilli & Jewell, 2014a).

A ADMA, ao contrário da SDMA, não depende unicamente do rim para a sua excreção. Em ratos sujeitos a nefrotomia bilateral aguda as concentrações séricas de SDMA aumentaram paralelamente com a ureia e a creatinina enquanto a concentração sérica de ADMA manteve-se estável (Carello, Whitesall, Lloyd, Billecke & D'Alecy, 2005)

Schepers et al. (2011) mostraram que a SDMA se relaciona com marcadores inflamatórios e pode estar implicada no processo inflamatório da DRC. Mas estes dados não foram suportados por um estudo posterior, onde a administração de SDMA em infusão não alterou a função renal e cardíaca dos animais. Histologicamente também não foi detetada lesão renal (Veldink et al., 2013). Apesar deste último estudo não implicar a SDMA no desenvolvimento de insuficiência renal, esta é uma questão ainda por esclarecer (Nabity et al., 2015).

A vasodilatação é regulada maioritariamente pelo óxido nítrico produzido pelo endotélio em situações fisiológicas, estimulado pela ação da acetilcolina, e em caso de aumento da pressão sanguínea. A disfunção endotelial está implicada na fisiopatologia da insuficiência cardíaca, surgindo numa fase inicial e sem relação à causa subjacente em humanos. Em cães a disfunção endotelial apenas surgiu em casos de insuficiência cardíaca induzida e não em casos de ocorrência natural. O papel das dimetilargininas na síntese de óxido nítrico atrai a atenção dos investigadores, que procuram formas de corrigir a disfunção endotelial, alvo importante na fisiopatologia da insuficiência cardíaca (Pedersen et al., 2003).

A ADMA inibe de forma direta e competitiva a ligação da L-arginina ao substrato necessário para a síntese de óxido nítrico (Tain & Hsu, 2017). A SDMA não inibe diretamente a síntese de óxido nítrico, mas parece competir para o transporte da L-arginina, tornando-a indisponível e indiretamente interferindo na síntese de óxido nítrico (Closs et al., 1997; Bode-Böger et al., 2006). Mas só concentrações plasmáticas de SDMA muito acima do intervalo fisiológico conseguem este efeito, o que lhe retira alguma importância biológica, ainda que seja uma questão controversa (Schwedhelm & Böger, 2011).

A concentração plasmática de ADMA é em média quase quatro vezes superior à concentração plasmática de SDMA em cães. Em comparação com as concentrações vistas no plasma humano a ADMA parece surgir três a quatro vezes mais elevada em cães, o mesmo não acontece com a SDMA (Teerlink, Nijveldt, de Jong & van Leeuwen, 2002; Pedersen, Tarnow, Olsen, Teerlink & Pedersen, 2006) (Tabela 1).

Tabela 1. Concentrações plasmáticas de ADMA e SDMA em humanos e cães (segundo Teerlink et al., 2002; Pedersen et al., 2006).

	População	
	Humanos (n=53)	Cães de raças variadas (n=32)
ADMA plasmática (µM)	0,42 ± 0,06	1,75 ± 0,33
SDMA plasmática (µM)	0,47 ± 0,08	0,45 ± 0,11

4.3. Técnica e intervalos de referência

Os intervalos de referência foram estabelecidos de acordo com as diretrizes disponíveis no *website* do *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018). O intervalo de referência estabelecido para a SDMA é 0 a 14 µg/dL, para cães e gatos adultos. Este intervalo foi calculado a partir das concentrações séricas de 122 cães saudáveis com mais de 1 ano de idade e 86 gatos saudáveis com idades compreendidas entre os 6 e 15 anos (Relford et al., 2016). Para cachorros, o intervalo pode variar entre 0 a 16 µg/dL. Para obter este intervalo foram utilizados animais com idades entre os 3 e os 12 meses de idade. 90% dos cachorros apresentam valores dentro do intervalo de 0 a 14 µg/dL, igual ao de referência para animais adultos. No entanto, em 6% dos animais está um pouco acima deste intervalo, daí o intervalo de referência para cachorros atingir os 16 µg/dL. Não há até à data justificação para esta variação, possivelmente relacionada com diferenças no metabolismo, *clearance*, homeostasia e mudanças fisiológicas associadas à fase de crescimento rápido. Em gatinhos o intervalo de referência é o mesmo utilizado para animais adultos. Foi usada uma população de animais com 1 a 12 meses de idade para o cálculo do intervalo (IDEXX Laboratories, 2017b).

A técnica considerada *gold standard* para a quantificação de SDMA é a cromatografia líquida associada a espectrometria de massa (“liquid chromatography mass spectrometry”, LC-MS) (Relford et al., 2016). São necessárias técnicas de alta precisão analítica que permitam detetar pequenas elevações, pois o intervalo normal da SDMA é bastante estreito (Tain & Hsu, 2017). No entanto é uma técnica demorada e bastante dispendiosa (Relford et al., 2016).

Existe atualmente disponível o IDEXX SDMA ®, um imunoensaio homogéneo de competição que utiliza um conjugado de glucose-6-fosfato desidrogenase e anticorpos monoclonais anti-SDMA. Este teste é de alto rendimento e permite quantificar a SDMA no soro e plasma. O soro é o tipo de amostra ideal embora o plasma também possa ser utilizado. O teste não é afetado por lipémia, icterícia e graus ligeiros a moderados de hemólise. A

validação foi obtida após comparação dos valores obtidos pelo teste com os obtidos através de LC-MS (Relford et al., 2016).

Hall et al. avaliaram 21 animais com DRC e a SDMA aumentou em todos os casos, mostrando uma sensibilidade de 100%, especificidade de 91%, valor preditivo positivo de 86% e valor preditivo negativo de 100%. A SDMA é assim uma boa opção para teste de rastreio, permitindo identificar todos os casos de doença, devido à sua alta sensibilidade. No entanto, como teste de confirmação a medição isolada da SDMA não é tão eficaz e não deverá ser utilizada como parâmetro único. Em comparação, a creatinina é um teste melhor de confirmação para a DRC (Hall et al., 2014a).

4.4. SDMA como biomarcador renal

O potencial da SDMA enquanto biomarcador renal tem vindo a ser estudado desde que Marescau et al. (1997) provaram a sua correlação em pacientes humanos com doença renal. Em medicina veterinária o reconhecimento deu-se a partir do estudo de Jepson et al. (2008) no qual se debruçaram pela primeira vez na possível associação entre a SDMA e a DRC felina.

4.4.1. Relação com a creatinina e comparação do tempo de deteção

Um estudo retrospectivo permitiu comparar a sensibilidade da SDMA com a creatinina na deteção precoce da DRC felina. De uma colónia conhecida foram seleccionados 21 animais com DRC diagnosticada e com uma média de 14,3 anos de idade. A estes animais foram medidas as concentrações séricas de creatinina e SDMA em amostras de soro congeladas, com a finalidade de detetar o momento em que cada uma delas aumentou pela primeira vez acima dos limites de referência. Em todos os casos em que a creatinina aumentou acima dos valores de referência a SDMA também o fez. Em média a SDMA aumentou 17,1 meses antes da creatinina (num intervalo de 1,5 a 48 meses) em 17 dos 21 gatos avaliados. A correlação com a creatinina foi positiva ($r=0.72$) (Hall et al., 2014a) e semelhante ao valor obtido anteriormente ($r=0.74$) (Jepson et al., 2008).

Gatos com valores séricos de SDMA acima de 14 $\mu\text{g/dL}$ não azotémicos provavelmente irão progredir para doença renal azotémica, o que torna a SDMA útil na deteção precoce da disfunção renal (Hall et al., 2014a).

Hall et al. (2016c) conduzem um novo estudo retrospectivo, desta vez em cães, semelhante ao feito em 2014 em gatos, que permitiu avaliar o desempenho da SDMA na deteção precoce de

doença renal e a sua capacidade relativamente à creatinina. Desta vez, com recurso a 19 cães diagnosticados com doença renal crónica foi possível, recorrendo a amostras de soro conservadas, detetar que a SDMA aumentou em média 9,8 meses antes da creatinina (num intervalo de 2,2 a 27 meses) em 17 dos 19 cães. A correlação com a creatinina foi positiva ($r=0.84$) (Hall et al., 2016c).

A correlação da SDMA com a creatinina é mais forte nos grupos de animais doentes quando comparada com animais saudáveis (Hokamp & Nabity, 2016; Martinez et al., 2017).

4.4.2. Relação com taxa de filtração glomerular

Existe uma forte correlação entre TFG e a SDMA que aumenta à medida que a TFG declina, corroborando assim a sua importância como biomarcador renal (Relford et al., 2016) (Tabela 2). Esta correlação é superior e mais forte que a vista entre a creatinina e a TFG (Tatematsu et al., 2007; Hall et al., 2014a). Noutros estudos, a diferença existe, embora de forma menos acentuada (Braff, Obare, Yerramilli, Elliott & Yerramilli, 2014; Hall et al., 2014a). No entanto na avaliação feita em cães por Hall et al. em 2016 surgiu o contrário. A correlação entre a SDMA e a TFG foi menos forte que entre a creatinina e a TFG.

Hall et al. (2014a) detetou níveis séricos de SDMA, em gatos, acima do intervalo de referência quando em média cerca de 40% da TFG diminuiu, mas em 2 animais o aumento ocorreu com a perda de apenas 25% da TFG.

O limite superior do intervalo normal de referência usado em cães e gatos, 14 µg/dL, corresponde respetivamente a uma diminuição de 49% e 40% na TFG. Especula-se que esta diferença possa dever-se a um maior número de gatos clinicamente saudáveis com diminuição da TFG utilizados para calcular os valores de referência, em comparação com os cães. Esta diferença pode explicar o porquê de o tempo de deteção da doença antes da creatinina aumentar ser superior no gato, pois pequenas alterações na TFG refletem elevações acima de 14 µg/dL nos valores séricos de SDMA (Hall et al., 2014a; Hall et al., 2016c).

Tabela 2. Correlação da TFG com a SDMA e creatinina sérica em diferentes populações animais (segundo Tatematsu et al., 2007; Braff et al., 2014; Hall et al., 2014a; Nabity et al., 2015; Hall et al., 2016c).

Estudo	População	Condição clínica	Correlação entre a SDMA e a TFG	Correlação entre a sCr e a TFG
Tatematsu et al., 2007	Cães (n= 18)	Nefrectomia parcial	(r= -0,85) (P<0.0001)	(r= -0,749) (P<0.0013)
Braff et al., 2014	Gatos (n= 10)	4 azotémicos e 6 não azotémicos	(r ² = 0,82) (P<0.001)	(r ² = 0,81) (P<0.001)
Hall et al., 2014a	Gatos (n= 17)	Doença renal crônica	(r= -0,79) (P<0.0001)	(r= -0,77) (P<0.0001)
Nabity et al., 2015	Cães (n= 8)	Nefropatia hereditária ligada ao cromossoma X	(r= -0,95)	(r= -0,98)
Hall et al., 2016c	Cães (n= 19)	Doença renal crônica	(r= -0,80) (P<0.001)	(r= -0,89) (P<0.001)

4.4.3. Influência extra-renal

Os fatores extra renais com influência na concentração sérica de SDMA em humanos ainda não foram caracterizados de forma consistente, embora à partida se saiba que a sua influência é inferior à que ocorre no caso da ADMA (Nabity et al., 2015).

Os valores de SDMA devem sempre ser interpretados em simultâneo com o exame físico e a DUE, de forma a excluir causas pré e pós-renais de azotémia. Idealmente deve ser feita uma avaliação longitudinal com recurso a várias medições ao invés de uma medição única (Grauer, 2016).

4.4.3.1. Fatores endógenos

Já é conhecida a influência da obesidade em humanos, pessoas com mais têm valores séricos de SDMA superiores a pessoas magras. O que pode ser justificado por um aumento do metabolismo proteico derivado de uma menor sensibilidade à insulina (Marliss et al., 2006; Nabity et al., 2015). Em humanos, o sexo masculino apresenta valores plasmáticos de SDMA marcadamente superiores ao sexo feminino, cerca de 15% mais elevados (Teerlink et al., 2002). Estudos em cães mostram que a idade, sexo, peso, raça condição corporal não

influenciam a concentração plasmática de SDMA (Pedersen et al., 2006; Moesgaard et al., 2007; Nabity et al., 2015).

Moesgaard et al. (2007) incidiram o seu estudo sobre uma população constituída pelas raças Pointer, Cavalier King Charles Spaniel e Cairn Terrier. O estudo não incluiu a raça canina Greyhound, raça que é conhecida por ter níveis séricos de creatinina naturalmente acima dos níveis de referência, quando comparada com outras raças, e o mesmo acontece com a SDMA. Um estudo com 20 cães da raça Greyhound obteve elevações acima do limite superior da SDMA em 68% dos animais. O que numa população de raças que não a Greyhound, apenas aconteceu em 5% dos animais. É necessária maior investigação que permita relacionar a SDMA com a TFG nesta raça e se necessário desenvolver intervalos de referência adequados a esta raça (Martinez et al., 2017).

A raça felina Sagrado de Birmânia apresenta naturalmente valores séricos de creatinina acima do valor de referência. Num estudo com 50 gatos saudáveis da raça Sagrado da Birmânia, 42% dos animais tinha valores de creatinina elevados e apenas 20% mostrou valores séricos de SDMA elevados. No grupo de controlo com outras raças felinas, a SDMA apenas aumentou acima do limite de referência em 8,7% dos animais. Apesar da SDMA também apresentar valores fora do intervalo de referência, em animais saudáveis, esta parece ser um melhor marcador renal, e deverá ser utilizada de forma concomitante com a creatinina para diminuir erros no estadiamento da DRC nesta raça (Paltrinieri et al., 2017).

Uma grande vantagem da SDMA, face à utilização da creatinina, é a ausência de correlação com a massa muscular em gatos geriátricos e cães adultos (Hokamp & Nabity, 2016).

A SDMA é superior à creatinina na avaliação da função renal em gatos geriátricos com perda de massa muscular. Comparando animais de idade inferior a 12 anos com animais de idade superior a 15 anos, os últimos apresentaram menor massa muscular, TFG e valores de creatinina sérica. Em contraste, a SDMA surgiu aumentada no grupo de animais com idade superior a 15 anos. Ao contrário da creatinina que decresce com o avançar da idade, fruto da perda muscular associada, e sobrestima a TFG remanescente, a SDMA aumenta à medida que a TFG decresce no gato geriátrico (Hall et al., 2014b; Relford et al., 2016).

Uma população de 41 cães saudáveis alimentados com dieta com menor teor proteico e menor concentração de fósforo, foi avaliada para perceber a influência da massa muscular nas biomarcadores plasmáticos renais. Observou-se uma correlação com a creatinina, mas não com a SDMA. Curiosamente os valores plasmáticos de SDMA reduziram significativamente ao longo dos 6 meses do ensaio, o que poderá ser justificado pela melhoria da função renal em resultado da dieta introduzida (Hall et al., 2015).

4.4.3.1.1. Presença de doenças concomitantes

Em humanos verificou-se que a concentração sérica de SDMA não sofreu alterações em presença de resposta inflamatória aguda, doença hepática, doença cardiovascular e diabetes, exceto em casos em que existia doença renal concomitante (Relford et al., 2016).

A presença de regurgitação da válvula mitral em cães da raça Cavalier King Charles Spaniel assintomáticos, não mostrou alterar os valores de SDMA (Pedersen et al., 2006). Ao contrário do observado em medicina humana a SDMA não tem correlação com a gravidade da doença cardíaca em gatos, embora seja necessário avaliar um maior número de animais (Langhorn, Kieler, Koch, Christiansen & Jessen, 2018).

Sendo a DRC uma das principais afeções para o uso da SDMA na população felina, tornou-se importante perceber o impacto que outras doenças teriam nos valores plasmáticos de SDMA. Para além da doença renal crónica, a população felina geriátrica é comumente afetada por DM e cardiomiopatia hipertrófica (CMH) (Langhorn et al., 2018).

A SDMA não foi influenciada na presença de CMH, como visto num estudo com 4 grupos de gatos com diferentes doenças (CMH, DRC, DM e o grupo saudável de controlo) e apenas no grupo de doentes renais a SDMA surgiu aumentada. Embora mais estudos sejam necessários, é sugerido que a SDMA possa não ser uma boa opção da DRC inicial em animais com DM concomitante, que possuem valores plasmáticos de SDMA significativamente mais baixos em comparação com o grupo de controlo. Os autores sugerem que a diurese osmótica e a hiperfiltração sejam a possível causa (Langhorn et al., 2018).

4.4.3.2. Fatores exógenos

Um grupo de cães de trenó avaliado em repouso e em situação de exercício vigoroso, sem alteração concomitante dos valores plasmáticos de ureia, não mostrou alterações significativas nos valores plasmáticos de SDMA (Moesgaard et al., 2007).

A administração oral de arginina não parece alterar as concentrações das formas metiladas de arginina na urina, embora a arginina em si aumente a sua concentração (Kakimoto & Akazawa, 1970).

Uma alimentação com baixo teor de proteína e suplementada com L-carnitina, óleo de peixe e triglicéridos de cadeia média não alterou a concentração sérica de SDMA em 32 gatos saudáveis (Hall et al., 2014b)

Mulheres grávidas em pré-eclampsia com administração oral de L-arginina não mostraram alteração nos valores de SDMA (Relford et al., 2016)

Em cães a variação diurna da colheita, o efeito bata branca e a administração por um curto período de tempo de inibidores da enzima de conversão da angiotensina não mostrou influenciar a concentração plasmática de SDMA (Moesgaard, Pedersen, Teerlink, Häggström & Pedersen, 2005; Moesgaard et al, 2007).

4.5. Aplicação em Medicina Veterinária

4.5.1. Doença Renal Crônica

A detecção precoce de doença renal é uma grande vantagem da utilização da SDMA, que aumenta em média 17,1 e 9,8 meses antes da creatinina no gato e cão, respetivamente (Hall et al., 2014a; Hall et al., 2016c).

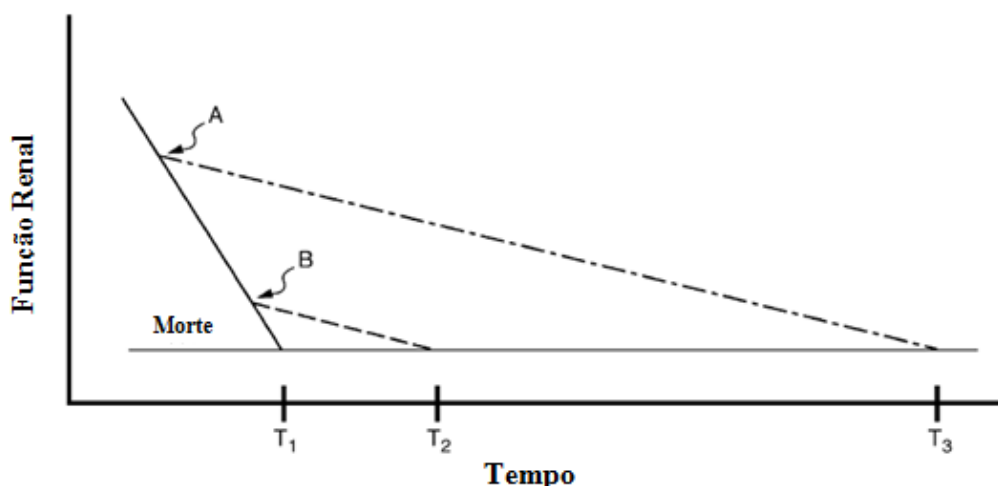
A DRC é caracterizada por uma perda de função renal irreversível e ainda que possa estabilizar por determinados períodos de tempo a sua progressão é inevitável (Bartges, 2017). A prevalência da doença estará entre 1,6 a 20% e 0,5 a 7% em gatos e cães, respetivamente (Lund, Armstrong, Kirk, Kolar & Klausner, 1999). Outros autores apontam para uma prevalência entre 1 a 3% e 0,5 a 1,5% para gatos e cães, respetivamente (Brown, 2007).

A detecção precoce da doença renal permite iniciar o tratamento na presença de uma maior percentagem de função renal residual, podendo aumentar o tempo de sobrevivência do animal. Ainda que o tratamento tenha o mesmo efeito na progressão da doença o momento em que é iniciado é crucial (Figura 3) (Lees, 2004). A introdução de tratamentos que promovam a proteção renal vão ajudar a retardar a progressão da doença, como a introdução de uma dieta renal ou terapêuticas anti-proteinúricas (Hall et al., 2014a; Grauer, 2016). O tratamento reno protetor, introdução de uma dieta renal específica, é mais importantes nos estádios 2 e 3, já a identificação e correção de causas primárias é mais útil nos estádios 1 e 2 (Grauer, 2017). Uma detecção precoce da DRC aumenta a probabilidade de detetar causas subjacentes que possam ser tratadas: infeções do trato urinário superior, doença de Lyme, erlichiose, leishmaniose, urolitíase obstrutiva e toxicidades crónicas. Permite tratar hipertensão e proteinúria que podem surgir e ser responsáveis pela progressão da doença (Relford et al., 2016).

Infelizmente na maioria dos animais a doença é detetada em estádio avançados, isto é, 3 e 4 na classificação da IRIS, o que limita a intervenção médica possível. Diagnosticar animais no estádio 1 é bastante desafiante face às limitações inerentes aos métodos de diagnóstico disponíveis. Inclusive alguns animais podem não mostrar sintomatologia clínica no estádio inicial, ou mesmo que exista é facilmente ignorada pelo proprietário menos atento ou que julgue fazer parte do processo fisiológico de envelhecimento (Paepe, 2015).

A utilidade da SDMA vai para além da deteção da DRC nos seus estádios iniciais, é também indicada para a monitorização da doença à medida que esta progride e a condição corporal sofre deterioração (Relford et al., 2016).

Figura 4. Efeitos hipotéticos da alteração da progressão da DRC no caso de deteção precoce (ponto A) face a uma deteção tardia (ponto B). Ainda que em ambos os casos sejam introduzidos os tratamentos médicos adequados para diminuir a progressão da doença, o tempo de sobrevivência será superior quando a doença é detetada de forma precoce (de T_1 até T_3 , ao invés de apenas até T_2) (Adaptado de Lees, 2004).



4.5.1.1. Diagnóstico e estadiamento da DRC

A IRIS é composta por um painel de veterinários especialistas, na área da nefrologia, cuja missão é ajudar os clínicos a melhorar o diagnóstico e tratamento das doenças renais do cão e do gato (IRIS, 2016a).

Com esse fim, tem vindo a desenvolver *guidelines* internacionalmente reconhecidas para o diagnóstico e tratamento da doença renal em animais de companhia. À data estão disponíveis *guidelines* para classificação da IRA e para o estadiamento e tratamento da DRC. Estes são considerados trabalhos em progresso, e como tal são regularmente atualizados na sua página de internet (IRIS, 2016b).

No caso da DRC o sistema de estadiamento baseia-se na concentração plasmática de creatinina, nível de proteinúria segundo o rácio UPC e medição da pressão arterial (Hall et al., 2014a; IRIS, 2016c).

Em 2015 a SDMA foi incluída de forma provisória, com base nos dados disponibilizados pela IDEXX Laboratories Ltd., nas *guidelines* para o diagnóstico e estadiamento da doença renal crónica da IRIS. Neste momento, para além da creatinina sérica surge a SDMA como ferramenta para o estadiamento da DRC (Relford et al., 2016; IDEXX Laboratories, 2015).

Em animais com valores séricos de SDMA acima do limite superior de referência, o algoritmo disponibilizado pela IDEXX (anexo 1) deverá ser utilizado para decidir o plano de diagnóstico mais adequado (IDEXX Laboratories, 2017a). Também a IRIS disponibilizou *guidelines* para o diagnóstico, estadiamento e tratamento da DRC atualizados, com a inclusão da SDMA (anexo 2.1, 2.2. e 2.3).

Elevações persistentes da SDMA acima dos 14 µg/dL são sugestivos de função renal diminuída e permitem incluir o animal no estágio 1 de DRC pelo estadiamento da IRIS, ainda que apresentem valores de creatinina <1,4 ou <1,6 mg/dL no cão e gato respectivamente. Animais incluídos no estágio 2 que apresentem uma baixa condição corporal e apresentem valores de SDMA ≥25 µg/dL concomitantes, podem ter a sua função renal subestimada, o tratamento adequado é o descrito para o estágio 3. De igual forma os animais incluídos no estágio 3 com valores de SDMA ≥45 µg/dL e baixa condição corporal deverão seguir o tratamento descrito para o estágio 4 (IRIS, 2016c).

Estas novas indicações baseadas na SDMA deverão ser atualizadas com base na experiência que surja do seu uso, concomitante com a creatinina, pelos profissionais veterinários de forma a aperfeiçoar e melhorar o seu desempenho (IRIS, 2016c).

Os resultados da medição da SDMA devem sempre ser avaliados conjuntamente com o exame físico de forma a excluir causas pré a pós-renais de azotemia. A interpretação será melhor quando utilizadas várias medições ao longo do tempo ao invés de uma medição única, tal como indicado para a creatinina (Grauer, 2016).

4.5.1.2. Efeito da modificação dietética precoce no manejo da DRC

A introdução de uma dieta renal pode diminuir a progressão da doença renal, prolongar o tempo de sobrevivência, melhorar a qualidade de vida e atrasar o início da urémia (Bartges, 2017; Hall et al., 2014a). É de todos os tratamentos médicos disponíveis para cães e gatos com DRC o que comprovadamente mostra maiores benefícios, embora não exista consenso acerca dos benefícios e da necessidade da ingestão de dieta renal em animais com DRC clinicamente estáveis, nem estudos que mostrem vantagens em introduzir tratamentos renoprotetores no estágio 1 (Ross et al., 2006; Polzin, 2013; Grauer, 2016).

Sabe-se a eficácia da dieta, em gatos, quando introduzida a partir do estágio 2 da classificação da IRIS, mas ainda está por demonstrar a eficácia do seu uso no estágio 1 (Polzin, 2017).

Atualmente, as *guidelines* disponibilizadas pela IRIS incluem a dieta renal a partir do estágio 2 no cão e gato, mas pode ser introduzida no estágio 1 em animais que apresentem proteinúria persistente. No caso do cão, está ainda recomendado a sua utilização no estágio 1, se necessário controlar níveis plasmáticos de fósforo aumentados (IRIS, 2016d; IRIS 2016e).

Hall et al., avaliaram o efeito de uma dieta formulada em gatos não azotémicos com valores séricos de SDMA aumentados em fase inicial de insuficiência renal, em comparação com uma dieta escolhida pelo proprietário. A dieta formulada para um envelhecimento saudável permitiu estabilizar os valores séricos de SDMA, ao contrário da dieta escolhida pelo dono que levou à progressão da doença renal (Hall et al., 2016a).

Os cães beneficiam igualmente da deteção e intervenção precoce de DRC, uma vez que permite reduzir a progressão da doença (Hall et al., 2016b). Os cães não azotémicos e com valores séricos de SDMA aumentados beneficiam de dieta formulada, que aumenta a possibilidade de reverter o aumento da SDMA quando comparada com outro tipo de dietas escolhidas pelo proprietário (Hall et al., 2016b). Os 20 cães com DRC classificada no estágio 1 da IRIS foram avaliados durante 12 meses. A administração de uma dieta renal durante este período diminuiu a concentração sérica dos biomarcadores renais e da proteinúria, o que indica uma estabilização da função renal. A administração de uma dieta renal em cães com DRC no estágio 1 da IRIS pode ajudar a estabilizar e diminuir a progressão da doença (Hall et al., 2017a).

Uma vez que a utilização de uma dieta renal é considerada relativamente segura, poder-se-á afirmar que a sua introdução baseada apenas na medição plasmática da SDMA é preferível à possibilidade de deixar de detetar animais doentes utilizando unicamente a creatinina. Pode ser benéfico introduzir a dieta renal no estágio 1 para diminuir a progressão da DRC mas para que isso ocorra é necessário a utilização de melhores marcadores, como a SDMA, que permitam identificar estes animais (Hall et al., 2014a; Hall et al., 2014b).

4.5.1.3. Deteção de DRC Felina na presença de Hipertiroidismo

O hipertiroidismo é uma doença relativamente comum nos gatos de meia-idade e geriátricos. Surge em média entre os 12 e 13 anos de idade, sendo a sua prevalência variável geograficamente (Rijnberk & Kooistra, 2010; Mooney & Peterson, 2012). Martins (2012) determinou uma prevalência de 7,69% numa população felina constituída por 78 animais pertencentes à zona de Aveiro, enquanto que Ferreira (2014) estudou uma população de 80 gatos pertencentes à área da Grande Lisboa em que a prevalência foi de 12,5%.

O hipertiroidismo é caracterizado por um aumento da TFG, fruto do aumento do débito cardíaco e da diminuição da resistência vascular periférica, e também por atrofia da massa muscular corporal. Este quadro clínico que conduz a valores séricos de creatinina mais baixos pode mascarar a presença de DRC concomitante. Animais hipertiroideus devem ter a sua

função renal avaliada antes e depois de normalizar os valores das hormonas tiroideias (Paepe, 2015).

Em virtude da massa muscular não ter influência nos níveis séricos de SDMA, esta seria especialmente vantajosa no diagnóstico nestas situações. Peterson et al. identificaram uma elevada especificidade (97.7%) da SDMA a prever doença renal crónica pós tratamento em gatos hipertiroideos, alertando contudo para a sensibilidade que se mostrou reduzida (33.3%). Apenas 14 dos 42 gato que desenvolveram azotémia após o tratamento com iodo radioativo, foram identificados pela SDMA no seu início. Ao diminuir o limite inferior de deteção da SDMA para 12 µg/dL a sensibilidade quase duplica (64,4%). Este estudo mostrou que o desempenho é superior à creatinina, que tem menor sensibilidade, mas inferior à medição da densidade urinária que foi o marcador renal com maior sensibilidade (92%). Em resumo, os autores sugerem que a SDMA e a densidade urinária são as melhores ferramentas para prever a azotémia pós tratamento do hipertiroidismo, embora o seu desempenho seja imperfeito (Peterson, Varela, Rishniw & Polzin, 2018).

4.5.2. Distinção entre IRA e DRC em cães

Para além da sua utilização no diagnóstico de DRC, a SDMA consegue identificar os animais afetados por IRA, embora seja incapaz de diferenciar DRC e IRA. Dahlem et al. (2017) avaliaram a concentração sérica de SDMA numa população de cães, composta por 48 animais afetados por IRA e 29 animais com DRC, onde o rácio SDMA/creatinina sérico foi significativamente superior nos animais com DRC. Assim, falhou em distinguir as duas doenças, e foi incapaz de fornecer um prognóstico (Dahlem et al., 2017).

4.5.3. Deteção precoce de nefrolitíase

A nefrolitíase pode levar a obstrução da pélvis renal ou do ureter predispondo a pielonefrite ou conduzir a lesão compressiva do parênquima renal originando DRC. Tradicionalmente os nefrólitos apenas são tratados quando causam obstrução, visto existir a ideia de que estes não estão envolvidos na progressão da DRC. Porém, os valores séricos de SDMA aumentados indicam que a nefrolitíase não obstrutiva está associada à DRC e à redução da TFG (Hall et al., 2017b).

Num estudo retrospectivo que envolveu 43 gatos diagnosticados com cálculos renais, apenas 12 foram diagnosticados em vida. Onde 92% dos animais apresentaram valores séricos de SDMA aumentados e estando apenas 17% azotémicos na altura do diagnóstico. Assim,

animais de meia idade a geriátricos em que a SDMA se encontre aumentada e a DUE > 1.035, devem ser feitos exames imagiológicos que permitam descartar a presença de nefrolitíase antes que a função renal decline e surja azotemia (Hall et al., 2017b).

Os cálculos de oxalato de cálcio têm aumentado a sua frequência ao longo dos últimos 25 anos em cães e gatos (Chew et al., 2011a). Do estudo anterior, 90% dos nefrólitos analisados eram compostos por oxalato de cálcio. Estes cálculos não podem ser dissolvidos através do manejo dietético, mas a sua detecção precoce permite ao clínico uma monitorização periódica e tratamento de acordo com as *guidelines* da IRIS para o estágio 1 da DRC, quando a SDMA surge acima do limite de referência na ausência de azotemia (Hall et al., 2017b).

4.5.4. Caquexia e Sarcopénia

A caquexia caracterizada pela perda de massa muscular esquelética, ocorre em animais afetados por doenças crónicas como a doença renal, tumores, doenças cardíacas entre outras. Contudo, a perda de condição corporal pode ocorrer na ausência de doença apenas associada ao envelhecimento e é denominada de sarcopénia (Freeman, 2017).

Seja qual for a causa da deterioração da condição corporal, ocorre uma diminuição na produção de creatinina, o que pode erradamente sobrevalorizar a função renal existente. A SDMA é independente da massa muscular, sendo uma ferramenta útil e superior à creatinina sérica na avaliação da função renal destes pacientes (Polzin, 2017).

4.6. Perspetivas de futuro: será o SDMA a resposta necessária?

Apesar das suas limitações a creatinina continua a ser um parâmetro acessível e de confiança, e como tal, não deveremos substituí-la totalmente pela SDMA. A descoberta de novos marcadores é sempre empolgante, permitem desvendar a fisiopatologia das doenças e melhoram as técnicas de diagnóstico, mas devem ser avaliados com precaução. Antes de os aplicarmos em prática clínica é necessário avaliar o comportamento do marcador em diferentes situações. O custo da técnica laboratorial para detecção da SDMA é ainda um fator proibitivo e no qual a creatinina é vantajosa (Kielstein et al., 2006).

II. Estudo: Avaliação da SDMA em felinos com recurso à IDEXX Catalyst One ® para diagnóstico precoce de doença renal crónica

1. Objetivos

O presente estudo teve como finalidade avaliar a utilidade da SDMA para o diagnóstico precoce de DRC felina com recurso à IDEXX Catalyst One ®. Pretendeu-se com este estudo comparar o desempenho da SDMA com o da creatinina plasmática e assim tentar detetar vantagens da sua utilização conjunta na prática clínica. Incluída recentemente nas *guidelines* disponibilizadas pela IRIS para o diagnóstico e tratamento da DRC, este estudo visa comparar o estadiamento feito apenas com recurso à creatinina ao realizado juntamente com a SDMA.

2. Materiais e Métodos

O estudo decorreu durante o estágio curricular realizado no Hospital Veterinário de Portimão. A população do estudo foi composta por gatos com idade igual ou superior a 7 anos de idade sem doença renal previamente diagnosticada. A amostra foi composta por 16 felinos, cuja anamnese foi recolhida através do questionário adaptado (anexo 3), com especial atenção a sinais associados a doença renal. Foi feito o doseamento plasmático da creatinina e SDMA.

As análises laboratoriais foram realizadas no laboratório interno do próprio hospital com recurso ao equipamento *Catalyst One Chemistry Analyzer*, comercializado pela IDEXX ®. As amostras de sangue foram colhidas através de venopunção periférica (veia cefálica ou femoral) ou central (jugular) e armazenadas em tubos de heparina para posterior processamento.

A tabela 3 compara os intervalos de referência utilizados no laboratório do HVP com os utilizados no estudo, os indicados pela IRIS, para a creatinina plasmática. Os valores de referência utilizados são os propostos pela IRIS para a espécie felina, creatinina e SDMA inferiores a 1,6 mg/dL e 14 µg/dL respetivamente.

Tabela 3. Comparação entre os intervalos de referência da creatinina plasmática sugeridos pela IRIS e pela *Catalyst One Chemistry Analyzer* para o cão e gato.

	Creatinina plasmática (mg/dL)	
	Cão	Gato
IRIS	<1,4	<1,6
<i>Catalyst One Chemistry Analyzer</i>	0,5 - 1,8	0,8 - 2,4

3. Resultados

Os animais incluídos no estudo apresentaram-se no HVP para consulta, vacinação, realização de exames imagiológicos ou para procedimentos cirúrgicos eletivos (castração e ovariectomia).

A amostra foi composta por 16 felinos, incluiu 7 indivíduos do sexo masculino e 9 do sexo feminino. Em relação ao estado reprodutivo, os animais castrados predominam (12/16). Foram incluídos animais de diferentes raças, nomeadamente Sagrado da Birmânia (1/16), Persa (5/16), Europeu Comum (8/16), e também de raça indeterminada (2/16). A idade dos animais variou entre os 7 anos e os 18 anos de idade, sendo que a maioria (10/16) apresentava idade compreendida entre os 7 e 8 anos.

A condição corporal foi avaliada com recurso a uma escala de peso padrão anexada ao questionário (anexo 3). A maioria apresentou uma condição corporal na categoria “ideal” (8/16).

Durante a anamnese, para além dos dados do exame físico geral, os donos foram questionados quanto à presença de sinais inespecíficos que pudessem estar relacionados com a presença de doença renal crónica. A presença de alguns destes sinais foi importante para, nos casos em que as análises laboratoriais foram sugestivas de DRC, caracterizar melhor o quadro clínico. Mesmo na ausência de uma avaliação completa do aparelho urinário, como a urianálise e medição do rácio UPC.

Com os dados recolhidos na anamnese foi possível identificar 2 animais com historial de doença do trato urinário, nomeadamente infeção urinária, cristalúria e urólitos.

Apenas 1 animal do estudo possuía doenças concomitantes, DM insulino-resistente, hidronefrose, hidro-ureter e neoplasia pulmonar primária ou metástica.

Os dados recolhidos permitiram detetar sintomatologia em 9 dos 16 animais. Destes 9, identificamos 8 com perda de peso, 3 com poliúria e polidipsia, 3 com perda de apetite e 2 com vómito.

A creatinina plasmática encontrou-se aumentada em 7 dos 16 animais em estudo, enquanto que a SDMA apenas surgiu aumentada em 5. Em 4 gatos a creatinina plasmática encontrou-se elevada sem o aumento concomitante da SDMA. Em 2 indivíduos a SDMA aumentou sem o aumento conjunto da creatinina plasmática. Apenas 3 animais possuíam ambos os parâmetros aumentados.

A caracterização da amostra populacional, assim como os resultados laboratoriais da creatinina plasmática e da SDMA, são descritos na tabela 4.

Tabela 4. Caracterização da amostra e resultados dos parâmetros laboratoriais, creatinina plasmática e SDMA

Caso n°	Sexo	Estado reprodutivo	Raça	Idade (anos)	Condição corporal	Sinais	Doenças concomitantes	Historial de		SDMA* (µg/dL)
								doença urinária	Creatinina plasmática* (mg/dL)	
1	F	Esterilizado	EC	12	Ideal	PP, PU, PD	S	N	1,3	10
2	M	Inteiro	Persa	13	Ideal	PP	N	N	1,9	18
3	F	Esterilizado	EC	8	Ideal	PP	N	N	1,1	21
4	F	Esterilizado	Persa	8	Magro	PP, Perda de apetite, Vômito	N	N	1,4	11
5	F	Inteiro	EC	10	Muito magro	PP, Perda de apetite	N	N	0,7	15
6	M	Inteiro	EC	7	Obeso	Perda de apetite	N	S	1,8	13
7	F	Esterilizado	SB	18	Magro	PP, PU, PD, Vômito	N	S	3,8	46
8	F	Inteiro	EC	7	Ideal	PP, PU, PD	N	N	2,9	18
9	M	Esterilizado	Indeterminada	9	Acima do peso	N	N	N	1,4	9
10	M	Esterilizado	EC	8	Acima do peso	N	N	N	1,5	8
11	M	Esterilizado	EC	11	Magro	PP	N	N	1	12
12	F	Esterilizado	EC	7	Ideal	N	N	N	1,2	8
13	F	Esterilizado	EC	8	Acima do peso	N	N	N	0,8	6
14	F	Esterilizado	Persa	8	Ideal	N	N	N	2	10
15	M	Esterilizado	Persa	7	Ideal	N	N	N	2,2	12
16	M	Esterilizado	Persa	7	Ideal	N	N	N	1,8	10

Legenda: F – fêmea; M – macho; EC – Europeu Comum; SB – Sagrado da Birmânia; PU – poliúria; PO – polidipsia; PP – perda de peso S – sim, N – não

*Intervalos de referência propostos pela IRIS: Creatinina plasmática <1,6 md/dL e SDMA <14 µg/dL

Com os resultados obtidos procedeu-se ao estadiamento segundo as *guidelines* propostas pela IRIS (IRIS, 2016c). O estadiamento foi elaborado de duas formas: apenas com recurso às concentrações plasmáticas de creatinina e com a adição do doseamento da SDMA. O objetivo seria comparar o estadiamento obtido e observar a existência ou não de vantagem na utilização da SDMA para deteção precoce da DRC. O estadiamento foi feito em todos os casos em que um dos parâmetros laboratoriais surgiu aumentado e quando ambos aumentaram, o que sucedeu num total de 9 casos. Nesta última situação, em que ambos os parâmetros estavam acima do valor de referência, não foi avaliada a capacidade de detetar a doença, mas sim a possibilidade de com a avaliação da SDMA o animal poder ser colocado num estágio superior. Na tabela 5 estão descritos os estadiamentos obtidos para cada caso.

Tabela 5. Estadiamento segundo o doseamento da creatinina e SDMA plasmática

Caso nº	Creatinina plasmática (mg/dL)	SDMA (µg/dL)	Estadiamento segundo a sCr	Estadiamento segundo a sCr + SDMA
2	1,9	18	Estádio 2	Estádio 2
3	1,1	21	-	Estádio 1
5	0,7	15	-	Estádio 1
6	1,8	13	Estádio 2	Estádio 2
7	3,8	46	Estádio 3	Estádio 4
8	2,9	18	Estádio 3	Estádio 3
14	2	10	Estádio 2	Estádio 2
15	2,2	12	Estádio 2	Estádio 2
16	1,8	10	Estádio 2	Estádio 2

4. Discussão

Para avaliação dos parâmetros creatinina e SDMA foram utilizados os intervalos de referência indicados pela IRIS. É interessante notar a diferença existente para os intervalos de referência utilizados no equipamento do HVP. A *Catalyst One Chemistry Analyzer*, produto comercializado pela IDEXX®, tem o intervalo de referência fixado entre 0,8 a 2,4 mg/dL para a creatinina plasmática em felinos. Uma diferença significativa, já que o estágio 2 de DRC na IRIS corresponde a valores de creatinina plasmática de 1,6 a 2,8 mg/dL. Consequentemente, animais com valores de creatinina plasmática normais na *Catalyst One Chemistry Analyzer*, podem nas *guidelines* da IRIS corresponder ao estágio 2 da DRC.

Inclusive, as *guidelines* da IRIS para o estadiamento da DRC preveem esta variação, ao afirmar que o limite inferior do intervalo do estágio 2 pode coincidir com o intervalo de referência de vários laboratórios. Esta situação pode ser justificada pela falta de sensibilidade da creatinina como teste de deteção, visto que animais com concentrações de creatinina próximas do limite superior do intervalo de referência, muitas vezes possuem doença renal (IRIS, 2016c).

Esta discordância, entre a interpretação feita à luz do intervalo de referência do laboratório e a sugerida pela IRIS, leva a autora a considerar que nem sempre a creatinina plasmática é corretamente interpretada na prática clínica. Ainda mais tendo em consideração a pouca utilização do sistema de estadiamento da IRIS na prática clínica, o que faz com que os clínicos não estejam familiarizados com os intervalos para a concentração de creatinina que caracterizam cada estágio. É possível que animais com afeção renal possam passar despercebidos na fase inicial da doença, caracterizada por pequenas elevações da concentração da creatinina plasmática (DiBartola, 2010; Grauer, 2016).

Durante a realização e conclusão deste trabalho algumas lacunas e limitações tornaram-se evidentes, sendo mencionadas em seguida.

A população utilizada não é considerada a ideal, não só pelo seu reduzido número, como pela sua heterogeneidade. Foram utilizados apenas 16 indivíduos para este estudo, e seriam necessários mais de forma a corroborar as conclusões obtidas. A razão pela qual a amostra populacional é de pequena dimensão prende-se principalmente pelo custo associado à execução do teste. A maioria dos tutores acaba por aceitar apenas o doseamento da creatinina plasmática, cujo custo é mais acessível. Além do tamanho reduzido a amostra utilizada é composta por um animal que apresentava outras doenças concomitantes, dois indivíduos com historial de doença urinária e animais de diferentes raças. O que é, em parte, consequência da pequena amostra disponível, idealmente composta não só por um maior número de indivíduos, mas também dividida por grupos, consoante as suas características.

No diagnóstico e estadiamento de DRC faltaram alguns testes. O diagnóstico de DRC é normalmente feito pela presença de azotémia renal e baixa DUE (<1.035), associados à anamnese e exame físico compatíveis (Paepe, 2015). Após o diagnóstico de DRC é útil realizar o seu estadiamento de forma a escolher o tratamento mais adequado e facilitar a monitorização da doença.

De facto, ambos os processos de diagnóstico e estadiamento da DRC na população em estudo foram executados de forma incompleta. As concentrações plasmáticas de creatinina e SDMA, bem como a anamnese, foram a base para o diagnóstico e estadiamento. Idealmente seriam necessárias duas medições da creatinina plasmática em diferentes ocasiões para proceder ao

estadiamento, o que não aconteceu. O estadiamento deve ser realizado apenas em animais hidratados, o que também não foi possível neste estudo. Infelizmente não foi possível realizar o sub-estadiamento, pela questão financeira dos tutores e também pela dificuldade inerente à medição da pressão sanguínea. Principalmente em animais com comportamento agressivo e nervoso em ambiente hospitalar.

A interpretação estrita da concentração plasmática da SDMA, como feito pela autora, não é o indicado. O algoritmo elaborado pela IDEXX Laboratories ® (anexo 1) mostra que todos os valores obtidos devem ser suportados pela realização de uma urianálise completa, sejam as elevações ligeiras (15 a 19 µg/dL) ou elevadas (≥ 20 µg/dL). Dados como a DUE, rácio UPC e avaliação do sedimento urinário seriam importantes para uma melhor compreensão da função renal. Na prática não foi possível proceder a esta extensa avaliação, pela questão financeira impeditiva e também pelo facto de a população analisada consistir principalmente de animais saudáveis. Há uma grande relutância por parte dos tutores em submeter os seus animais a procedimentos médicos, que os consideram desnecessários, como por exemplo uma cistocentese. Mesmo nos casos em que os parâmetros avaliados sugeriam a existência de DRC, os tutores veem estes métodos de diagnóstico como um desconforto desnecessário. Assim sendo é difícil validar os resultados e as consequentes conclusões obtidas. Na discussão dos vários casos, seja na ausência ou presença de valores anormais nos parâmetros avaliados, a avaliação completa da função renal permitiria concluir sobre eficácia ou não da SDMA como biomarcador precoce de DRC.

Os casos nº3 e 5 e foram os únicos em que a SDMA plasmática aumentou na presença de uma concentração plasmática de creatinina normal. Apenas a gata do caso nº5 apresentou sintomatologia associada: perda de peso e anorexia. Serão os casos em que a SDMA possivelmente conseguiu detetar animais com perda de função renal não detetados pela avaliação da creatinina. No caso nº5 é de notar que a baixa concentração de creatinina plasmática (0,7 mg/dL) poderá estar associada à má condição corporal do animal, o que afeta a avaliação da função renal sobreavaliada pela creatinina plasmática. Estes são casos que poderão especialmente beneficiar do uso da SDMA, não influenciado pela massa muscular do animal. Embora, neste caso específico a ausência de uma urianálise completa que confirme a presença de DRC não permita afirmar a sua eficácia.

No caso nº5 o aumento da concentração plasmática da SDMA é ligeiro, 15 µg/dL. Todos os valores no intervalo 15-19 µg/dL devem ser confirmados. Nestes casos o passo seguinte seria realizar uma urianálise completa e caso não surja alterações voltar a dosear a SDMA passadas 2 a 4 semanas. Se a urianálise apresentar resultados sugestivos ou o aumento da concentração plasmática da SDMA continuar no novo doseamento, a doença renal torna-se provável. Nesta

altura deve ser adotado o protocolo de investigação, manejo e monitorização tal como indicado no algoritmo produzido pelo fabricante do teste (anexo 1) (IDEXX Laboratories, 2017a). Os mesmos passos deveriam ser adotados nos casos nº2 e 8, em que a concentração plasmática da SDMA também mostrou um ligeiro aumento (18 µg/dL).

Nos casos nº6, 14, 15 e 16 a concentração da creatinina plasmática estava aumentada, mas o doseamento da SDMA encontrava-se dentro do intervalo de referência. Infelizmente para podermos afirmar que nenhum destes indivíduos é afetado por doença renal, ao contrário do que a interpretação isolada da concentração da creatinina plasmática levaria a crer, seria necessária uma avaliação mais completa da função renal. Com os dados disponíveis não podemos comprovar a eficácia da SDMA. A elevação da creatinina plasmática nestes casos poderia eventualmente ser explicada pela ausência de jejum, já que a dieta pode aumentar a sua concentração nas 12 horas após a refeição (Ghys et al., 2014).

Ambos os parâmetros renais surgiram aumentados nos casos nº2, 7 e 8. Todos estes animais apresentavam sintomatologia que aumenta a suspeita de DRC: vômitos, poliúria, polidipsia e perda de peso. No caso nº7 existe historial de doença urinária (infecção urinária e cristalúria) e foi ainda detetada a presença de anemia normocítica e normocrómica. Tal como referido anteriormente, as elevações ligeiras da SDMA plasmática devem ser interpretadas conjuntamente com uma urianálise completa. Esta seria importante no caso nº2, em que o aumento de ambos parâmetros foram ligeiros, mas também no caso nº8 em que o doseamento da SDMA surgiu ligeiramente aumentado.

O caso nº1 foi marcado pela presença de várias doenças concomitantes: DM insulino-resistente, hidronefrose, hidroureter e uma massa pulmonar. Como mencionado anteriormente a SDMA poderá não ser uma opção na DRC inicial em animais com DM, já que num estudo realizado por Langhorn et al. (2018) os indivíduos afetados por DM apresentavam valores plasmáticos de SDMA significativamente mais baixos em comparação com o grupo de controlo. Os autores apontam a diurese osmótica e a hiperfiltração como possíveis justificações. O doseamento da SDMA neste caso teve como objetivo principal avaliar o impacto da doença urinária na função renal, sendo que a creatinina plasmática manteve-se normal. Também a SDMA estava dentro do intervalo de referência, descartando à partida a existência de insuficiência renal.

O presente estudo pretendia, para além de avaliar a eficácia da SDMA na deteção precoce de DRC, comparar o estadiamento obtido tradicionalmente pela creatinina plasmática com o feito tendo em consideração o doseamento da SDMA. Em dois casos discutidos anteriormente, nº3 e 5, a utilização da SDMA foi essencial para o diagnóstico de DRC. Em ambos os casos a creatinina plasmática surge dentro do intervalo de referência, e apenas a

SDMA nos permitiu classificar ambos os indivíduos no estágio 1 de DRC. No caso nº7 a creatinina plasmática corresponde no estadiamento IRIS a um estágio 3. Mas tendo em consideração a sua baixa condição corporal assim como a concentração plasmática de SDMA ≥ 45 $\mu\text{g/dL}$ foi possível alterar essa classificação para o estágio 4.

5. Conclusão

A DRC felina é uma doença bastante comum na prática clínica, embora o seu diagnóstico seja muitas vezes feito numa fase avançada da doença o que faz com que o tempo de sobrevivência destes animais após o diagnóstico seja por vezes muito reduzido. Apesar de não existir um tratamento específico sabe-se que quanto mais cedo a doença for diagnosticada, mais fácil será instituir um tratamento renal protetor, a dieta renal, que possa retardar o declínio da função renal. Mas é exatamente no diagnóstico precoce que a creatinina plasmática, o parâmetro de avaliação da função renal mais utilizado pelos clínicos, apresenta pouca sensibilidade. Além disso pode ser afetada por fatores como a dieta ou condição corporal.

Por estas razões decorre a busca por um biomarcador renal ideal, que seja pouco afetado por fatores endógenos ou exógenos e principalmente que permita diagnosticar DRC o mais cedo possível. A verdade, e como foi possível perceber na realização deste trabalho, é que vários biomarcadores renais têm vindo a ser avaliados, mas todos possuem vantagens e desvantagens. Da vasta amostra de biomarcadores discutidos a SDMA é a que tem mostrado maior interesse pela comunidade científica.

Na amostra avaliada tivemos dois indivíduos cujo diagnóstico de DRC foi feito através da SDMA e um animal cujo estadiamento foi retificado pelo doseamento da SDMA. Quatro indivíduos em que a SDMA dentro do intervalo de referência contraria o aumento da creatinina plasmática. Evidentemente, e como discutido anteriormente, o estudo desenvolvido pela autora apresenta lacunas que impossibilitam a validação da SDMA com recurso à IDEXX Catalyst One ®. De notar a potencial vantagem do uso da SDMA em detetar DRC em animais cujo doseamento da creatinina plasmática está dentro do intervalo de referência do laboratório, mas elevado tendo em consideração os limites sugeridos pela IRIS. No estudo desenvolvido foram incluídos 5 animais nesta situação, dos quais a interpretação do doseamento da SDMA plasmática leva a concluir que destes, apenas 1 indivíduo teria insuficiência renal. O que corrobora a informação transmitida nas *guidelines* da IRIS, em que animais cuja creatinina plasmática está próxima do limite superior de referência do laboratório podem apresentar insuficiência renal. É importante que a interpretação dos

resultados da creatinina plasmática seja feita de forma crítica e tendo em consideração a diferença face às concentrações sugeridas na IRIS de forma a aumentar a sensibilidade de deteção quando é utilizada a creatinina. A SDMA poderá ser uma ferramenta importante para diagnosticar estes casos.

Embora não possa ser recomendada como parâmetro único de diagnóstico para a DRC, a SDMA pode ajudar no diagnóstico e estadiamento, principalmente no animal geriátrico com perda muscular (Sparkes et al., 2016).

A autora acredita que com a difusão do teste e a sua utilização mais frequente será mais fácil reunir uma amostra relevante de casos. Por ser um teste de diagnóstico recente os estudos existentes são escassos e na sua maioria liderados por autores ligados à produção e validação do teste realizado pelo IDEXX Catalyst One ®. Será importante ter resultados e dados dos clínicos que possam corroborar a eficácia do teste e o próprio intervalo de referência definido. A inclusão da SDMA nas *guidelines* da IRIS é provisória e poderá alterar-se face aos resultados que venham a surgir na prática clínica.

Bibliografia

- Bartges, J.W. (2017). Nutritional management of renal conditions. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8ª ed.) (pp. 771-773). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Bexfield, N.H., Heiene, R., Gerritsen, R.J., Risøen, U., Eliassen, K.A., Herrtage, M.E. & Michell, A.R. (2008). Glomerular filtration rate estimated by 3-sample plasma clearance of iohexol in 118 healthy dogs. *J Vet Intern Med*, 22, 66–73.
- Biomarkers Definitions Working Group. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 69 (3), 89–95.
- BioVendor (2018). Cystatin C Canine ELISA. Acedido em Maio. 08, 2018, de BioVendor Research and Diagnostic, disponível em <https://www.biovendor.com/cystatin-c-canine-elisa>
- Bode-Böger, S.M., Scalera, F., Kielstein, J.T., Martens-Lobenhoffer, J., Breithardt, G., Fobker, M. & Reinecke, H. (2006). Symmetrical dimethylarginine: a new combined parameter for renal function and extent of coronary artery disease. *J Am Soc Nephrol*, 17, 1128–1134.
- Braff, J., Obare, E., Yerramilli, M., Elliott, J. & Yerramilli, M. (2014). Relationship between serum symmetric dimethylarginine concentration and glomerular filtration rate in cats. *J Vet Intern Med*, 28, 1699–1701.
- Brown, S.A. (2007) Management of chronic kidney disease. In J. Elliott & G.F. Grauer, *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology* (2º ed) (pp. 223-230), Inglaterra: British Small Animal Veterinary Association.
- Carello, K.A., Whitesall, S.E., Lloyd, M.C., Billecke, S.S. & D'Alecy, L.G. (2006). Asymmetrical dimethylarginine plasma clearance persists after acute total nephrectomy in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 290, 209–216.
- Chew, D.J., DiBartola, S.P. & Schenck, P. (2011). Diseases of the Glomerulus. In D.J. Chew, S.P. DiBartola & P. Schenck, *Canine and feline nephrology and urology*. (2º ed.) (pp.219), United States of America: Elsevier Saunders.
- Chew, D.J., DiBartola, S.P. & Schenck, P. (2011a). Clinical Evaluation of the Urinary Tract. In D.J. Chew, S.P. DiBartola & P. Schenck, *Canine and feline nephrology and urology*. (2º ed.) (pp.36-38), United States of America: Elsevier Saunders.
- Clinical Laboratory Standards Institute. (CLSI, 2018). Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory. Acedido em Outubro, 12, 2018, de Clinical Laboratory Standards Institute, disponível em <https://clsi.org/standards/products/method-evaluation/documents/ep28/>.

- Closs, E.I., Basha, F.Z., Habermeier, A. & Förstermann, U. (1997). Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the γ^+ Carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide*, 1 (1), 65–73.
- Cobrin, A.R., Blois, S.L., Kruth, S.A., Abrams-Ogg, A.C.G. & Dewey, C. (2013). Biomarkers in the assessment of acute and chronic kidney diseases in the dog and cat. *Journal of Small Animal Practice*, 54, 647–655.
- Dahlem, D.P., Neiger, R., Schweighauser, A., Francey, T., Yerramilli, M., Obare, E. & Steinbach, S.M.L. (2017). Plasma Symmetric Dimethylarginine Concentration in Dogs with Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease. *J Vet Intern Med*, 31, 799–804.
- Daure, E., Belanger, M.C., Beauchamp, G. & Lapointe, C. (2013). Elevation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in non-azotemic dogs with urinary tract infection. *Research in Veterinary Science*, 95, 1181–1185.
- De Loor, J., Daminet, S., Smets, P., Maddens, B. & Meyer, E. (2013). Urinary biomarkers for acute kidney injury in dogs. *J Vet Intern Med*, 27, 998–1010.
- DiBartola, S.P. (2010). Clinical approach and laboratory evaluation of renal disease. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7th ed.) (pp. 1956-1957). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- DiBartola, S.P. & Westropp, J.L. (2014). Diagnostic tests for the urinary system. In R.W. Nelson & C.G. Couto, *Small Animal Internal Medicine* (5th ed) (pp.638-643). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Ellenport, C.R. (1986). Sistema urogenital. In R. Getty, *Anatomia de Los Animales Domesticos*. (5th ed) (pp 166-168). Barcelona: Masson S.A.
- Elliott, J. & Grauer, G.F. (2007) Proteinuria. In *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology* (2^o ed) (pp. 69-70), Inglaterra: British Small Animal Veterinary Association.
- Ferreira, R.O.R. (2014). *Prevalência e Factores de Risco de Hipertiroidismo Felino em 80 Gatos da Região da Grande Lisboa*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa.
- Finch, N.C., Geddes, R.F., Syme, H.M. & Elliot, J. (2013). Fibroblast growth factor 23 (FGF-23) concentrations in cats with early nonazotemic chronic kidney disease (CKD) and in healthy geriatric cats. *J Vet Intern Med*, 27, 227–233.
- Freeman, L.M. (2017). Cachexia and sarcopenia . In S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8th ed.) (pp. 740-743). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Geddes, R.F., Finch, N.C., Elliot, J. & Syme, H.M. (2013). Fibroblast growth factor 23 in feline chronic kidney disease. *J Vet Intern Med*, 27, 234–241.

- Ghys, L., Paepe, D., Smets, P., Lefebvre, H., Delanghe, J. & Daminet, S. (2014). Cystatin C: a new renal marker and its potential use in small animal medicine. *J Vet Intern Med*, 28:1152–1164.
- Ghys, L.F.E., Paepe, D., Lefebvre, H.P., Reynolds, B.S., Croubels, S., Meyer, E., Delanghe, J.R. & Daminet, S. (2016). Evaluation of cystatin C for the detection of chronic kidney disease in cats. *J Vet Intern Med*, 30, 1074–1082.
- Grauer, G.F. (2016). Early diagnosis of chronic kidney disease in dogs & cats: use of serum creatinine & symmetric dimethylarginine. *Today's Vet Pract*, 6, 68–72.
- Grauer, G.F. (2017). Treatment guidelines for chronic kidney disease in dogs & cats: international renal interest society recommendations. Acedido em Maio, 24, 2018, de Today's Veterinary Practice, disponível em <http://todaysveterinarypractice.navc.com/treatment-guidelines-chronic-kidney-disease-dogs-catsinternational-renal-interest-society-recommendations/>
- Hall, J.A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M. & Jewell, D.E. (2014a). Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med*, 28, 1676–1683.
- Hall, J.A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., Yu, S. & Jewell, D.E. (2014b). Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in healthy geriatric cats fed reduced protein foods enriched with fish oil, L-carnitine, and medium-chain triglycerides. *The Veterinary Journal*, 202, 588–596.
- Hall, J.A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., Melendez, L.D. & Jewell, D.E. (2015). Relationship between lean body mass and serum renal biomarkers in healthy dogs. *J Vet Intern Med*, 29, 808–814.
- Hall, J.A., MacLeay, J., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., Schiefelbein, H., Paetau-Robinson, I. & Jewell, D.E. (2016a). Positive impact of nutritional interventions on serum symmetric dimethylarginine and creatinine concentrations in client-owned geriatric cats. *PLoS One*, 11(4), e0153654.
- Hall, J.A., MacLeay, J., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., Schiefelbein, H., Paetau-Robinson, I. & Jewell, D.E. (2016b). Positive impact of nutritional interventions on serum symmetric dimethylarginine and creatinine concentrations in client-owned geriatric dogs. *PLoS One*, 11(4), e0153653.
- Hall, J.A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., Almes, K. & Jewell, D.E. (2016c). Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. *J Vet Intern Med*, 30, 794–802.
- Hall, J.A., Fritsch, D.A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M. & Jewell, D.E. (2017a). A longitudinal study on the acceptance and effects of a therapeutic renal food in pet dogs with IRIS-stage 1 chronic kidney disease. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 1–11.
- Hall, J.A., Yerramilli, M., Obare, E., Li, J., Yerramilli, M. & Jewell, D.E. (2017b). Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in cats with kidney stones. *PLoS ONE*, 12(4), e0174854.

- Harley, L. & Langston, C. (2012). Proteinuria in dogs and cats. *Can Vet J*, 53, 631–638.
- Heiene, R. & Lefebvre, H.P. (2007). Assessment of renal function. In J. Elliott & G.F. Grauer, *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology* (2° ed) (pp 117-125), Inglaterra: British Small Animal Veterinary Association.
- Hokamp, J.A., Cianciolo, R.E., Boggess, M., Lees, G.E., Benali, S.L., Kovarsky, M. & Nabity, M.B. (2016). Correlation of urine and serum biomarkers with renal damage and survival in dogs with naturally occurring proteinuric chronic kidney disease. *J Vet Intern Med*, 30, 591–601.
- Hokamp, J.A. & Nabity, M.B. (2016). Renal biomarkers in domestic species. *Vet Clin Pathol*, 45(1), 28–56.
- IDEXX Laboratories. (2015). IDEXX breakthrough kidney function test SDMA added to IRIS staging guidelines. Acedido em Maio, 15, 2018, disponível em <https://www.idexx.com/en/about-idexx/news/idexx-breakthrough-kidney-function-test-sdma-added-iris-staging-guidelines/>
- IDEXX Laboratories. (2017a). IDEXX SDMA® Test algorithm . Acedido em Abril. 13, 2018, disponível em <https://www.idexx.com/en/veterinary/reference-laboratories/sdma/interpreting-your-sdma-results/>
- IDEXX Laboratories. (2017b). Use of the IDEXX SDMA Test to assess kidney function in puppies and kittens Acedido em Abril. 13, 2018, disponível em https://idexxcom-live-b02da1e51e754c9cb292133b-9c56c33.aldryn-media.com/filer_public/6e/92/6e92f51d-acbc-437f-a031-fa22b592dce8/sdma-puppies-and-kittens-intervals.pdf
- IDEXX Laboratories. (2018). Diagnosing, staging, and treating chronic kidney disease in dogs and cats. Acedido a Maio. 18, 2018, disponível em <https://www.idexx.com/en/veterinary/reference-laboratories/sdma/sdma-iris/>
- IRIS. (2016a) What is IRIS?. Acedido em Junho, 23, 2018, de IRIS (International Renal Interest Society), disponível em <http://www.iris-kidney.com/about/index.html>
- IRIS. (2016b) IRIS Guidelines. Acedido em Junho, 23, 2018, de IRIS (International Renal Interest Society), disponível em <http://www.iris-kidney.com/guidelines/index.html>
- IRIS. (2016c). IRIS staging of CKD (modified 2017). Acedido em Agosto. 28, 2018, de IRIS (International Renal Interest Society), disponível em http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_2017_Staging_of_CKD_09May18.pdf
- IRIS. (2016d). Treatment recommendations for CKD in cats. Acedido em Julho. 12, 2018, de IRIS (International Renal Interest Society), disponível em http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_2017_CAT_Treatment_Recommendations_09May18.pdf
- IRIS. (2016e). Treatment recommendations for CKD in dogs. Acedido em Julho. 12, 2018, de IRIS (International Renal Interest Society), disponível em http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_2017_DOG_Treatment_Recommendations_09May18.pdf

- Jepson, R.E., Syme, H.M., Vallance, C. & Elliott, J. (2008). Plasma asymmetric dimethylarginine, symmetric dimethylarginine, L-arginine, and nitrite/nitrate concentrations in cats with chronic kidney disease and hypertension. *J Vet Intern Med*, 22, 317–324.
- Jepson, R.E., Syme, H.M., Markwell, P., Miyazaki, M., Yamashita, T. & Elliott, J. (2010). Measurement of urinary cauxin in geriatric cats with variable plasma creatinine concentrations and proteinuria and evaluation of urine cauxin-to-creatinine concentration ratio as a predictor of developing azotemia. *AJVR*, 71 (8), 982–987.
- Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (2013). Aparelho urinário. In *Histologia Básica* (12° ed.) (pp. 367-384). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Kakimoto, Y. & Akazawa, S. (1970). Isolation and identification of N^G, N^G - and N^G, N^G dimethylarginine, N^ε-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl- δ - hydroxylysine from human urine. *The Journal of Biological Chemistry*, 245 (21), 5751-5758.
- Kielstein, J.T., Salpeter, S.R., Bode-Boeger, S.M., Cooke, J.P. & Fliser, D. (2006). Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function - a meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant*, 21, 2446–2451.
- König, H.E., Maierl, J. & Liebich H. -G. (2005). Órganos urinarios (organa urinaria). In H.E. König & H-G. Liebich, *Anatomía de los animales domésticos – texto y atlas en color* (2° ed). (pp. 103-115). Madrid: Editorial Medica Panamerica.
- Kovarikova, S. (2015). Urinary biomarkers of renal function in dogs and cats: a review. *Veterinarni Medicina*, 60 (11), 589–602.
- Langhorn, R., Kieler, I.N., Koch, J., Christiansen, L.B. & Jessen, L.R. (2018). Symmetric dimethylarginine in cats with hypertrophic cardiomyopathy and diabetes mellitus. *J Vet Intern Med*, 32, 57–63.
- Langston, C. (2010). Acute Uremia In S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7^a ed., pp. 1974-1975). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Lees, G. E. (2004). Early diagnosis of renal disease and renal failure. *Vet Clin Small Anim*, 34, 867–885.
- Linnetz, E.H. & Graves, T.K. (2010). Glomerular filtration rate in general small animal practice. *Compendium Continuing Education for Veterinarians*, 32, E1-E6.
- Lund, E.M., Armstrong, P.J., Kirk, C.A., Kolar, L.M., & Klausner, J.S. (1999). Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214, 1336-1341.
- Maeda, H., Sogawa, K., Sakaguchi, K., Abe, S., Sagizaka, W., Mochizuki, S., Horie, W., Watanabe, T., Shibata, Y., Satoh, M., Sanda, A., Nomura, F. & Suzuki, J. (2015). Urinary albumin and transferrin as early diagnostic markers of chronic kidney disease. *J. Vet. Med. Sci*, 77 (8), 937–943.

- Marescau, B., Nagels, G., Possemiers, I., De Broe, M.E., Beaus, I., Billiow, J.M., Lornoy, W. & De Deyn, P.P. (1997). Guanidino compounds in serum and urine of nondialyzed patients with chronic renal insufficiency. *Metabolism*, 46 (9), 1024–1031.
- Marliss, E.B., Chevalier, S., Gougeon, R., Morais, J.A., Lamarche, M., Adegoke, O.A.J. & Wu, G. (2006). Elevations of plasma methylarginines in obesity and ageing are related to insulin sensitivity and rates of protein turnover. *Diabetologia*, 49, 351–359.
- Martinez, J., Kellogg, C., Iazbik, M.C., Couto, C.G., Pressler, B.M., Hoepf, T.M. & Radin, M. J. (2017). The renin-angiotensin-aldosterone system in greyhounds and non-greyhound dogs. *J Vet Intern Med*, 31, 988–993.
- Martins, A.J.S. (2012). *Estudo de incidência de hipertiroidismo felino*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária-Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
- McDermott, J.R. (1976). Studies on the catabolism of N^G-methylarginine, N^G,N^G dimethylarginine and N^G,N^G dimethylarginine in the rabbit. *Biochem. J*, 154, 179–184.
- Moesgaard, S.G., Holte, A.V., Mogensen, T., Mølbak, J., Kristensen, A.T., Jensen, A.L., Teerlink, T., Reynolds, A.J. & Olsen, L.H. (2007). Effects of breed, gender, exercise and white-coat effect on markers of endothelial function in dogs. *Research in Veterinary Science*, 82, 409–415.
- Moesgaard, S.G., Pedersen, L.G., Teerlink, T., Häggström, J. & Pedersen, H.D. (2005). Neurohormonal and circulatory effects of short-term treatment with enalapril and quinapril in dogs with asymptomatic mitral regurgitation. *J Vet Intern Med*, 19, 712–719.
- Monti, P., Benckekroun, G., Berlato, D. & Archer, J. (2012). Initial evaluation of canine urinary cystatin C as a marker of renal tubular function. *Journal of Small Animal Practice*, 53, 254–259.
- Mooney, C.T. & Peterson, M.E. (2012). Feline hyperthyroidism. In C.T. Mooney & M.E. Peterson, *BSAVA Manual of Canine and Feline Endocrinology* (4^{ed.}) (pp. 92-110), Inglaterra: British Small Animal Veterinary Association.
- Nabity, M.B., Lees, G.E., Boggess, M.M., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., Rakitin, A., Aguiar, J. & Relford, R. (2015). Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease in dogs. *J Vet Intern Med*, 29, 1036–1044.
- Nakajima, T., Matsuoka, Y. & Kakimoto, Y. (1971). Isolation and identification of N^G-monomethyl, N^G, N^G-dimethyl- and N-G,N^G-dimethylarginine from the hydrolysate of proteins of bovine brain. *Biochim Biophys Acta*, 230, 212–222.
- Nakamura, M., Takahashi, M., Ohno, K., Koshino, A., Nakashima, K., Setoguchi, A., Fujino, Y. & Tsujimoto, H. (2008). C-Reactive Protein Concentration in Dogs with Various Diseases. *J. Vet. Med. Sci*, 70 (2), 127–131.
- Ohnishi, M., Wada, A., Tsutamoto, T., Fujii, M., Matsumoto, T., Yamamoto, T., Takayama, T., Wang, X. & Kinoshita, M. (2002). Endothelin stimulates an endogenous nitric

- oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine, in experimental heart failure. *Clinical Science*, 103, 241S–244S.
- Paepe, D. (2015). Early recognition of feline chronic kidney disease. *Eur J Comp An Pract*, 25(3), 61-77.
- Paltrinieri, S., Ibba, F. & Rossi, G. (2014). Haematological and biochemical reference intervals of four feline breeds. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16(2), 125–136.
- Paltrinieri, S., Giraldi, M., Prolo, A., Scarpa, P., Piseddu, E., Beccati, M., Graziani, B. & Bo, S. (2017). Serum symmetric dimethylarginine and creatinine in birman cats compared with cats of other breeds. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 1–8.
- Pedersen, H.D., Schütt, T., Søndergaard, R., Qvortrup, K., Olsen, L.H. & Kristensen, A.T. (2003). Decreased plasma concentration of nitric oxide metabolites in dogs with untreated mitral regurgitation. *J Vet Intern Med*, 17, 178–184.
- Pedersen, L.G., Tarnow, I., Olsen, L.H., Teerlink, T. & Pedersen, H.D. (2006). Body size, but neither age nor asymptomatic mitral regurgitation, influences plasma concentrations of dimethylarginines in dogs. *Research in Veterinary Science*, 80, 336–342.
- Peterson, M.E., Varela, F.V., Rishniw, M. & Polzin, D.J. (2018). Evaluation of serum symmetric dimethylarginine concentration as a marker for masked chronic kidney disease in cats with hyperthyroidism. *J Vet Intern Med*, 32, 295–304.
- Polzin, D.J. (2010). Chronic Kidney Disease In S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7^a ed.). (pp. 2001). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Polzin, D.J. (2011). Chronic kidney disease in small animals. *Vet Clin Small Anim*, 41, 15–30.
- Polzin, D.J. (2013). Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23(2), 205–215.
- Polzin, D.J. (2017) Chronic kidney disease. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8^a ed.) (pp. 1952-1959). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Poświatowska-Kaszczyszyn, I. (2012). Usefulness of serum cystatin C measurement for assessing renal function in cats. *Bull Vet Inst Pulawy*, 56, 235-239.
- Pressler, B.M. (2015) Clinical approach to advanced renal function testing in dogs and cats. *Clin Lab Med*, 35, 487–502.
- Raila, J., Schweigert, F.J. & Kohn, B. (2014). Relationship between urinary Tamm–Horsfall protein excretion and renal function in dogs with naturally occurring renal disease. *Vet Clin Pathol*, 43 (2), 261–265.
- Relford, R., Robertson, J. & Clements, C. (2016). Symmetric dimethylarginine: Improving the diagnosis and staging of chronic kidney disease in small animals. *Vet Clin Small Anim*, 46, 941–960.

- Reynolds, B.S., Concordet, D., Germain, C.A., Daste, T., Boudet, K.G. & Lefebvre, H.P. (2010). Breed dependency of reference intervals for plasma biochemical values in cats. *J Vet Intern Med*, 24, 809–818.
- Rijnberk, A. & Kooistra, H.S. (2010). Thyroids. In A. Rijnberk & H.S. Kooistra, *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats* (2^oed.) (pp. 73). Hannover, Schlütersche.
- Ross, S.J., Osborne, C.A., Kirk, C.A., Lowry, S.R., Koehler, L.A. & Polzin, D.J. (2006). Clinical evaluation of dietary modification for treatment of spontaneous chronic kidney disease in cats. *J Am Vet Med Assoc*, 229 (6), 949–957.
- Royal Canin. (2018). Pet Obesity. Acedido em Agosto. 2, 2018, de Royal Canin, disponível em <https://www.royalcaninhealthyweight.co.uk/pet-obesity>
- Royal Veterinary College. (2018). Therapeutic drug monitoring service. Acedido em Outubro. 12, 2018, de Royal Veterinary College, disponível em <https://www.rvc.ac.uk/pathology-and-diagnostic-laboratories/therapeutic-drug-monitoring#panel-references-and-links>
- Sasaki, Y., Iwama, R., Shimamura, S., Katayama, M., Uzuka, Y., Yabe, K., Takasuna, K., Satoh, H. & Furuhashi, K. (2015). Estimation of glomerular filtration rate in dogs by a single-blood sample method involving iodixanol. *Am J Vet Res*, 76, 828–835.
- Schepers, E., Barreto, D.V., Liabeuf, S., Glorieux, G., Eloit, S., Barreto, F.C., Massy, Z. & Vanholder, R. (2011). Symmetric dimethylarginine as a proinflammatory agent in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 6, 2374–2383.
- Schepers, E., Speer, T., Bode-Böger, S.M., Fliser, D. & Kielstein, J.T. (2014). Dimethylarginines ADMA and SDMA: the real water-soluble small toxins? *Seminars in Nephrology*, 34 (2), 97–105.
- Schwedhelm, E.R. & Böger, R.H. (2011). The role of asymmetric and symmetric dimethylarginines in renal disease. *Nat. Rev. Nephrol*, 7, 275–285.
- Siroen, M.P., van der Sijp, J.R., Teerlink, T., van Schaik, C., Nijveldt, R.J. & van Leeuwen, P.A. (2005). The human liver clears both asymmetric and symmetric dimethylarginine. *Hepatology*, 41, 559–565.
- Smets, P.M.Y., Meyer, E., Maddens, B.E.J., Duchateau, L. & Daminet, S. (2010). Urinary markers in healthy young and aged dogs and dogs with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med*, 24, 65–72.
- Sparkes, A. H., Caney, S., Chalhoub, S., Elliott, J., Finch, N., Gajanayake, I., Langston, C., Lefebvre, H. P., White, J. & Quimby, J. (2016). ISFM consensus guidelines on the diagnosis and management of feline chronic kidney disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18 (3), 219–239.
- Syme, H.M. & Jepson, R. (2017). Clinical approach and laboratory evaluation of renal disease In S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8^a ed.). (pp. 1909). St. Louis, Missouri: Elsevier.

- Tain, Y.L. & Hsu, C.N. (2017). Toxic dimethylarginines: asymmetric dimethylarginine (ADMA) and symmetric dimethylarginine (SDMA). *Toxins*, 9, 92.
- Tatematsu, S., Wakino, S., Kanda, T., Homma, K., Yoshioka, K., Hasegawa, K., Sugano, N., Kimoto, M., Saruta, T. & Hayashi, K. (2007). Role of nitric oxide-producing and -degrading pathways in coronary endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 18, 741–749.
- Teerlink, T., Nijveldt, R.J., de Jong, S. & van Leeuwen, P.A.M. (2002). Determination of arginine, asymmetric dimethylarginine, and symmetric dimethylarginine in human plasma and other biological samples by high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*, 303, 131–137.
- Vallance, P., Leone, A., Calver, A., Collier, J. & Moncada, S. (1992). Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *The Lancet*, 339, 572-575.
- Veldink, H., Faulhaber-Walter, R., Park, J.K., Martens-Lobenhoffer, J., Bode-Böger, S., Schuett, H., Haghikia, A., Hilfiker-Kleiner, D. & Kielstein, J.T. (2013). Effects of chronic SDMA infusion on glomerular filtration rate, blood pressure, myocardial function and renal histology in C57BL6/J mice. *Nephrol Dial Transplant*, 28, 1434–1439.
- Verlander, J.W. (2013). Renal Physiology. In B.G. Klein, *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*. (5^{ed.}) (pp. 472-473, 482). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Von Hendy-Willson, V.E. & Pressler, B.M. (2011). An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. *Vet J*, 188(2), 156–165.
- Waikar, S.S., Sabbiseti, V.S. & Bonventre, J.V. (2010). Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate. *Kidney Int*, 78 (5), 486–494.
- Wehner, A., Hartmann, K. & Hirschberger, J. (2008). Utility of serum cystatin C as a clinical measure of renal function in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, 44, 131-138.
- Williams, T.L., Dillon, H., Elliott, J., Syme, H.M. & Archer, J. (2016). Serum cystatin C concentrations in cats with hyperthyroidism and chronic kidney disease. *J Vet Intern Med*, 30, 1083–1089.
- Yerramilli, M., Farace, G., Quinn, J. & Yerramilli, M. (2016). Kidney disease and the nexus of chronic kidney disease and acute kidney injury the role of novel biomarkers as early and accurate diagnostics. *Vet Clin Small Anim*, 46, 961–993.

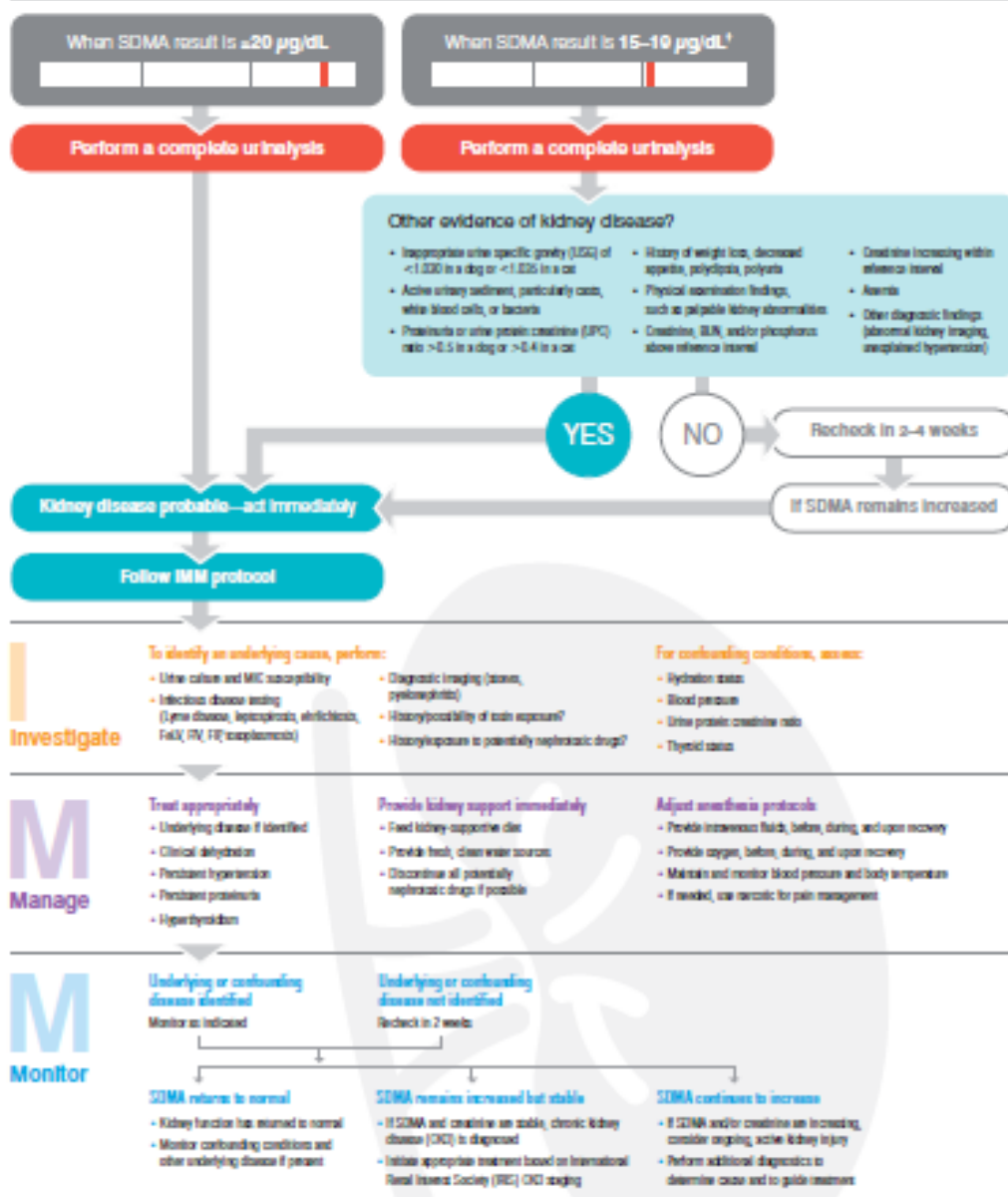
Anexos

1 – Algoritmo para interpretação de valores séricos de SDMA aumentados e etapas sugeridas para chegar ao diagnóstico (IDEXX Laboratories, 2017a).

IDEXX SDMA® Test Algorithm

SDMA can increase with both active or acute kidney injury, as well as chronic kidney disease.

Take action when SDMA® results are increased. Follow this algorithm to determine if kidney disease is probable and what steps you should take to investigate, manage, and monitor the disease.



The IDEXX SDMA Test is more reliable than creatinine. SDMA increases earlier than creatinine in dogs and cats as kidney function decreases. And unlike creatinine, SDMA is not impacted by muscle mass.¹

For questions regarding IDEXX SDMA Test results, please contact our Customer Support Team at 1-800-433-9967.

¹Open label study in dogs.
²SDMA reference interval for cats, horses, and adult dogs is 0–14 $\mu\text{g/dL}$. In puppies, the SDMA reference interval is 0–10 $\mu\text{g/dL}$. Read the full report at IDEXX.com/SDMAPet.
³To see the panel and a complete list of references, visit IDEXX.com/IDEXX.



2 – Algoritmos sugeridos pela IRIS, com inclusão da SDMA, para a DRC canina e felina (IDEXX, 2018)

2.1 Diagnóstico de DRC

Step 1: Diagnose CKD

Clinical signs and physical examination findings worsen with increasing severity of kidney disease

Clinical presentation

Consider age, sex, breed predispositions, and relevant historical information, including medication history, toxin exposure, and diet.

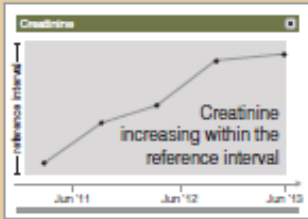

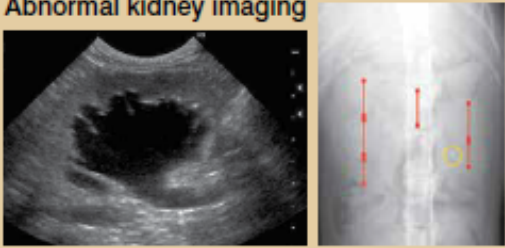
Can be asymptomatic in early CKD. Signs may include polyuria, polydipsia, weight loss, decreased appetite, lethargy, dehydration, vomiting, and bad breath.

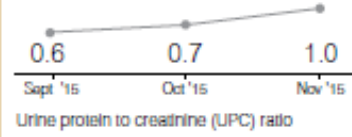
Physical examination findings

Can be normal in early CKD. Findings may include palpable kidney abnormalities, evidence of weight loss, dehydration, pale mucous membranes, uremic ulcers, evidence of hypertension, i.e., retinal hemorrhages/detachment.

To diagnose early CKD

One or more of these diagnostic findings

- 1  Creatinine increasing within the reference interval
- 2 Persistent increased  SDMA >14 µg/dL
- 3 Abnormal kidney imaging 
- 4 Persistent renal proteinuria
UPC >0.5 in dogs; UPC >0.4 in cats



Urine protein to creatinine (UPC) ratio

OR

To diagnose more advanced CKD

Both of these diagnostic findings

- 1 Increased creatinine and SDMA concentrations


Creatinine

SDMA


Results of both tests should be interpreted in light of patient's hydration status.

plus


Urine specific gravity <1.030




Urine specific gravity <1.035




- 2




1.030




Canine




1.008



1.035









Feline




1.008

2.2. Estadiamento da DRC

Step 2: Stage CKD







					
		Stage 1 No azotemia	Stage 2 Mild	Stage 3 Moderate	Stage 4 Severe
Creatinine in mg/dL	Canine	<1.4	1.4–2.0	2.1–5.0	>5.0
	Feline	<1.6	1.6–2.8	2.9–5.0	>5.0
 SDMA in µg/dL		>14	>14	Moderately increased	Markedly increased
 Consider understaged based on creatinine			≥ 25		
				≥ 45	
UPC ratio		Nonproteinuric <0.2 Borderline proteinuric 0.2–0.5 Proteinuric >0.5			
Substage based on proteinuria	Canine	Nonproteinuric <0.2 Borderline proteinuric 0.2–0.5 Proteinuric >0.5			
	Feline	Nonproteinuric <0.2 Borderline proteinuric 0.2–0.4 Proteinuric >0.4			
Systolic blood pressure in mm Hg		Normotensive <150 Borderline hypertensive 150–159			
Substage based on blood pressure		Hypertensive 160–179 Severely hypertensive ≥180			


 SDMA = IDEXX SDMA™ Test


See iris-kidney.com for more detailed staging, therapeutic, and management guidelines.


2.3. Tratamento da DRC

Step 3: Treat CKD

	 Stage 1 No azotemia	 Stage 2 Mild	 Stage 3 Moderate	 Stage 4 Severe
Treatment recommendations	Investigate for and treat underlying disease Treat hypertension if systolic blood pressure persistently >160 or evidence of end-organ damage Treat persistent proteinuria with therapeutic diet and medication (UPC >0.5 in dogs; UPC >0.4 in cats) Keep phosphorus <4.6 mg/dL If required, use kidney therapeutic diet +/- phosphate binder Use with caution potentially nephrotoxic drugs Correct prerenal and postrenal abnormalities Fresh water available at all times	Same as Stage 1 Kidney therapeutic diet Treat hypokalemia in cats Treat metabolic acidosis If  SDMA ≥ 25, consider treatment for Stage 3	Same as Stage 2 Keep phosphorus <5.0 mg/dL Treat anemia (PCV <25% in dogs; PCV <20% in cats) Treat vomiting/inappetence/nausea Consider subcutaneous and/or enteral fluids to maintain hydration Consider calcitriol therapy in dogs If  SDMA ≥ 45, consider treatment for Stage 4	Same as Stage 3 Keep phosphorus <6.0 mg/dL Consider feeding tube for nutritional and hydration support and for ease of medicating

 Consider treatment of next stage. Creatinine may underestimate degree of kidney dysfunction in patients with poor muscle mass.


IRIS
 International Renal Interest Society

 SDMA = IDEXX SDMA™ Test
 See iris-kidney.com for more detailed staging, therapeutic, and management guidelines.

3- Exemplo do questionário utilizado na recolha de dados durante a anamnese e exame de estado geral

QUESTIONÁRIO CLÍNICO

Dados referentes ao felino:

Nome: _____ **Sexo:** M/F **Raça:** _____ **Idade:** _____

Esterilizado: Sim/Não **Condição corporal (1 a 9):** _____

Estímulo

iatrotrópico: _____

Existe algum episódio anterior de doença do trato urinário? Sim ___ Não ___


Se sim,

qual? _____

Questionário:


1. O dono refere prostração do animal? Sim ___ Não ___
2. A pelagem está em bom estado? Sim ___ Não ___
3. O dono notou perda de peso progressiva? Sim ___ Não ___
4. Há diminuição do apetite? Sim ___ Não ___
5. Existe vômito esporádico? Sim ___ Não ___
6. Existem úlceras na cavidade oral? Sim ___ Não ___
7. O hálito da cavidade oral tem um odor urémico? Sim ___ Não ___
8. Episódios de diarreia recentes? Sim ___ Não ___
9. Há sinais de desidratação? Sim ___ Não ___
10. Ao exame físico, há dor à palpação dos rins? Sim ___ Não ___
11. Presença de polidipsia: Sim ___ Não ___
12. Presença de poliúria: Sim ___ Não ___
13. Aspeto da urina: Normal ___ Com sangue ___ Turva _____

3.1. Escala utilizada para avaliação da condição corporal (Royal Canin, 2018)






WEIGHT MANAGEMENT PROGRAMME

BODY CONDITION SCORE CAT






ROYAL CANIN
INCREDIBLE IN EVERY DETAIL




TOO THIN

 <p style="font-size: 2em; font-weight: bold; color: #f9a825;">1</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs, spine and pelvic bones easily visible on shorthaired cats • Very narrow waist • Small amount of muscle • No palpable fat on the rib cage • Severe abdominal tuck 	 <p style="font-size: 2em; font-weight: bold; color: #f9a825;">2</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs easily visible on shorthaired cats • Very narrow waist • Loss of muscle mass • No palpable fat on the rib cage • Very pronounced abdominal tuck 	 <p style="font-size: 2em; font-weight: bold; color: #f9a825;">3</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs visible on shorthaired cats • Obvious waist • Very small amount of abdominal fat • Marked abdominal tuck
--	--	--

IDEAL
ABOVE IDEAL

 <p style="font-size: 2em; font-weight: bold; color: #2e7d32;">4</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs not visible but are easily palpable • Obvious waist • Minimal amount of abdominal fat 	 <p style="font-size: 2em; font-weight: bold; color: #2e7d32;">5</p> <ul style="list-style-type: none"> • Well proportioned • Ribs not visible but are easily palpable • Obvious waist • Small amount of abdominal fat • Slight abdominal tuck 	 <p style="font-size: 2em; font-weight: bold; color: #f9a825;">6</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs not visible but palpable • Waist not clearly defined when seen from above • Very slight abdominal tuck
--	--	---

OVERWEIGHT
OBESE

 <p style="font-size: 2em; font-weight: bold; color: #d32f2f;">7</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs difficult to palpate under the fat • Waist barely visible • No abdominal tuck • Rounding of abdomen with moderate abdominal pad 	 <p style="font-size: 2em; font-weight: bold; color: #d32f2f;">8</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs not palpable under the fat • Waist not visible • Slight abdominal distension 	 <p style="font-size: 2em; font-weight: bold; color: #d32f2f;">9</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ribs not palpable under a thick layer of fat • Waist absent • Obvious abdominal distension • Extensive abdominal fat deposits
--	--	---