



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CAROLINA GRECCO GRANO BORDINI

**BIOMARCADORES DA DOENÇA RENAL CRÔNICA DE
OCORRÊNCIA NATURAL EM CÃES E EFEITOS PRÉ-
ANALÍTICOS NA HEMOGASOMETRIA**

Londrina

2024

CAROLINA GRECCO GRANO BORDINI

**BIOMARCADORES DA DOENÇA RENAL CRÔNICA DE
OCORRÊNCIA NATURAL EM CÃES E EFEITOS PRÉ-
ANALÍTICOS NA HEMOGASOMETRIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora.

Orientadora: Prof. Dr^a Karina Keller Marques da Costa Flaiban

Londrina
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

B729b Bordini, Carolina Grecco Grano.
Biomarcadores da Doença Renal Crônica de ocorrência natural em cães e efeitos pré-analíticos na hemogasometria / Carolina Grecco Grano Bordini. - Londrina, 2024.
86 f. : il.

Orientador: Karina Keller Marques da Costa Flaiban.
Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2024.
Inclui bibliografia.

1. SDMA - Tese. 2. Enzimúria - Tese. 3. Análise de gases sanguíneos - Tese. 4. Temperatura - Tese. I. Flaiban, Karina Keller Marques da Costa. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 63

CAROLINA GRECCO GRANO BORDINI

**BIOMARCADORES DA DOENÇA RENAL CRÔNICA DE
OCORRÊNCIA NATURAL EM CÃES E EFEITOS PRÉ-
ANALÍTICOS NA HEMOGASOMETRIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Karina Keller Marques da Costa
Flaiban
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisboa
Universidade Estadual de Londrina

Prof^a Dr^a Patrícia Mendes Pereira
Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr^a Ellen de Souza Marquez
Universidade Estadual Norte do Paraná

Dr. Guilherme Felipelli Martins
Pet Scop Laboratório Veterinário

Londrina, 28 de novembro de 2024

AGRADECIMENTOS

Difícil colocar em palavras a quem agradeço. Tantas foram as ajudas que recebi durante a execução deste projeto.

Agradeço primeiramente ao meu marido, Danilo, por me incentivar sempre a ser uma pessoa melhor, como também uma profissional mais capacitada e acreditar no meu potencial.

Agradeço a minha sogra, Sueli, por estar disponível para cuidar do meu príncipe, Victor, para que eu pudesse ter mais tempo livre na execução do projeto.

Agradeço aos meus pais, Antonio Roberto e Rosana, que sempre incentivaram os estudos e fizeram que, ainda jovem, eu atribuísse importância a isso. Sigo agradecendo as minhas irmãs, por poder contar com elas em qualquer momento.

Agradeço ao meu filho, é olhando para ele que me dá vontade de ser uma pessoa e profissional melhor.

Agradeço a professora Dr^a Karina, pelo exemplo de orientadora, extremamente humana, acolhedora e competente, sempre visando que o trabalho se encontrasse mais completo, mas sem esquecer a graciosidade e acolhimento nas palavras.

Agradeço aos membros da banca, por despenderem de seu tempo e conhecimento para agregar a este trabalho.

Agradeço a Mariza, companheira de execução do projeto, sem sua parceria seria difícil concluir esse trabalho.

Agradeço a cada ajuda que tive: tutores que aceitaram fazer parte do projeto, médicos veterinários que ajudaram desde a contenção dos animais, realizaram garrotes, exames de imagem, ajudaram no transporte das amostras etc.

Por fim, agradeço a Deus, que encheu meu caminho de possibilidades e pessoas queridas que contribuíram para a execução desse projeto.

“Superficialmente, pode-se dizer que a função dos rins é produzir urina; mas, numa visão mais ponderada, pode-se dizer que os rins produzem o próprio material da filosofia.”
Homer W. Smith

BORDINI, Carolina Grecco Grano. **Biomarcadores da Doença Renal Crônica de ocorrência natural em cães e efeitos pré-analíticos na hemogasometria.** 2024. 86f. Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciência Animal – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2024.

RESUMO

Esta Tese compreende dois estudos. O primeiro investiga biomarcadores séricos e urinários da Doença Renal Crônica (DRC). Quarenta (40) cães foram selecionados prospectivamente e divididos em 3 grupos: Grupo 1: animais saudáveis; Grupo 2: não azotêmicos com imagem ultrassonográfica de degeneração renal e densidade urinária ($Du < 1,030$), e Grupo 3: cães azotêmicos, com imagem ultrassonográfica de degeneração renal e $Du < 1,030$. As amostras de sangue e urina foram encaminhadas para a realização de hemograma, bioquímicos, incluindo dimetilarginina simétrica (SDMA) sérica, urinálise, relação proteína:creatinina urinárias (UPC), relação GGT:creatinina urinárias (uGGT/creatinina) e GGT corrigida pela densidade urinária (dGGT). Dentre os biomarcadores analisados, a SDMA não mostrou diferença entre os grupos 1 ($10,0 \pm 5,56 \mu\text{g/dL}$) e 2 ($20,1 \pm 22,9 \mu\text{g/dL}$), não sendo considerado, nesse estudo, como marcador precoce. Por sua vez, a uGGT/creatinina mostrou diferença ($p=0,005$) entre os grupos 1 (mediana 0,125) e 2 (0,346), evidenciando precocidade. A uGGT/creatinina mostrou-se mais precoce que a UPC dentre os cães avaliados. O segundo estudo teve como objetivo analisar os efeitos do tempo, do armazenamento e do anticoagulante em amostras de sangue venoso de cães destinadas a gasometria. Foram colhidas quatro amostras de sangue das veias jugulares de 30 animais. Em duas amostras foram utilizadas a seringa comercial, com heparina de lítio (HL), de gasometria BD 3mL (Linha BD-A-Line®) e, nas duas amostras restantes, seringa convencional de 3mL (BD®), com heparina sódica (HS), preparada pelo clínico. Análises foram realizadas nos tempos T0, T30, T120, T240 e T360. Após a primeira análise (T0), uma amostra da seringa contendo o HL era armazenada em banho de água gelada ($0-4 \text{ C}$) e a outra em geladeira ($2-8^{\circ}\text{C}$), o mesmo procedimento acontecia com a seringa convencional com HS. O efeito tempo interferiu nos valores das variáveis estudadas, exceto cloretos. O tempo levou a reduções nos valores de bicarbonato e BE. O armazenamento em água gelada ($0-4^{\circ}\text{C}$) mostrou retardo das alterações *in vitro*. Ao utilizar a heparina sódica líquida ocorreu redução com significado clínico nas concentrações de cálcio ionizado (iCa).

Palavras-chave: SDMA, enzimúria, análise de gases sanguíneos, temperatura

BORDINI, Carolina Grecco Grano Bordini. Biomarkers of naturally occurring chronic kidney disease in dogs and pre-analytical effects on blood gas analysis. 2024. 86f. Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciência Animal – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2024.

ABSTRACT

This thesis comprises two studies. The first investigates serum and urinary biomarkers of chronic kidney disease (CKD). Forty (40) dogs were prospectively selected and divided into 3 groups: Group 1: healthy animals; Group 2: non-azotemic dogs with ultrasound imaging of renal degeneration and urinary specific gravity (USG) <1.030, and Group 3: azotemic dogs, with ultrasound imaging of renal degeneration and USG < 1.030. Blood and urine samples were sent for complete blood count, biochemical tests, including serum symmetrical dimethylarginine (SDMA), urinalysis, urinary protein:creatinine ratio (UPC), urinary ggt:creatinine ratio (uGGT/creatinine) and GGT corrected for urinary specific gravity (usgGGT). Among the biomarkers analyzed, SDMA showed no difference between groups 1 ($10.0 \pm 5.56 \mu\text{g/dl}$) and 2 ($20.1 \pm 22.9 \mu\text{g/dl}$), and was not considered an early marker in this study. In turn, uGGT/creatinine showed a difference ($p=0.005$) between groups 1 (median 0.125) and 2 (0.346), evidencing precocity. uGGT/creatinine was earlier than UPC among the dogs evaluated. The second study aimed to analyze the effects of time, storage and anticoagulant on venous blood samples from dogs intended for blood gas analysis. Four blood samples were collected from the jugular veins of 30 animals. In two samples, a commercial syringe with lithium heparin (HL) for blood gas analysis (BD-A-Line®) of 3 mL was used, and in the remaining two samples, a conventional 3 mL syringe (bd®) with sodium heparin (HS), prepared by the clinician, was used. Analyses were performed at times T0, T30, T120, T240 and T360. After the first analysis (T0), one sample from the syringe containing HL was stored in an ice-water bath ($0-4^{\circ}\text{C}$) and the other in a refrigerator ($2-8^{\circ}\text{C}$); the same procedure was performed with the conventional syringe with HS. The effect of time interfered with the values of the studied variables, except for chlorides. Time led to reductions in bicarbonate and be values. Storage in ice-water showed a delay in in vitro changes. When using liquid sodium heparin, there was a clinically significant reduction in ionized calcium (ica) concentrations.

Keywords: SDMA, enzymuria, blood gas analysis, temperature

LISTA DE TABELAS

ARTIGO A- RELAÇÃO GGT/CREATININA URINÁRIAS (uGGT/creatinina) NA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DA DOENÇA RENAL CRÔNICA (DRC) DE OCORRÊNCIA NATURAL EM CÃES38

Tabela 1 – Valores de média e desvio-padrão das variáveis séricas: uréia, creatinina e SDMA e do pH urinário; e valores de mediana e percentis (P25 e P75) da GGT urinária corrigida pela densidade urinária de 1,025 (GGTd), da relação GGT: creatinina urinárias (uGGT/creatinina) e da relação proteína: creatinina urinárias (UPC) das amostras de cães distribuídos nos grupos: Controle; DRC IRIS I e DRC IRIS II-IV 45

ARTIGO B- AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TEMPO, DO ARMAZENAMENTO E DO ANTICOAGULANTE NAS AMOSTRAS DE HEMOGASOMETRIA VENOSA EM CÃES56

Tabela 1– Variação do pH, pressão parcial de dióxido de carbono (pCO_2 mmHg), bicarbonato (HCO_3^- mmol/L), lactato (mmol/L) e glicose (mg/dL) em amostras de sangue venoso de cães (n=30) conservadas em banho de água gelada e geladeira, expressa como a média de cada tempo analisado..... 69

Tabela 2– Variação do bicarbonato (HCO_3^- mmol/L), cálcio ionizado (iCa mg/dL) potássio (K^+ mmol/L), *Anion gap* (AG mmol/L) e glicose (mg/dL) em amostras de sangue venoso de cães (n=30) coletadas com seringa de gasometria BD-A-Line® (HL) e com seringa convencional com pequena quantidade de heparina sódica (HS), expressa como a média de cada tempo analisado..... 70

Tabela 3– Variação da pressão parcial de oxigênio (pO_2 mmHg), do excesso de base (BE_{ecf} mmol/L), do sódio (Na^+ mmol/L), dos cloretos (Cl^- mmol/L) e da osmolalidade (mOsm mmol/kg) em amostras de sangue venoso de cães (n=30), expressa como a média em cada tempo analisado..... 71

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Escala de graduação da DRC pela IRIS baseado nos níveis séricos de creatinina	18
Quadro 2 – Classificação da proteinúria pela IRIS por meio da relação proteína: creatinina urinárias em cães e gatos	18
Quadro 3 – Sub estadiamento da DRC pela IRIS quanto a pressão arterial sistólica em cães	19
Quadro 4 – Estadiamento da DRC pela IRIS em cães considerando os níveis séricos de SDMA (IDEXX)	25
Quadro 5 – Marcadores utilizados para avaliação renal de cães	29

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO A- RELAÇÃO GGT/CREATININA URINÁRIAS (uGGT/creatinina) NA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DA DOENÇA RENAL CRÔNICA (DRC) DE OCORRÊNCIA NATURAL EM CÃES	38
--	-----------

Figura 1 – Diagrama de Fluxo dos valores da variável SDMA ($\mu\text{g/dL}$) das amostras de sangue de cães distribuídos nos seguintes grupos: Controle; DRC IRIS I e DRC IRIS II-IV	46
--	-----------

ARTIGO B- AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TEMPO, DO ARMAZENAMENTO E DO ANTICOAGULANTE NAS AMOSTRAS DE HEMOGASOMETRIA VENOSA EM CÃES	56
---	-----------

Figura 1– Demonstração do armazenamento da amostra de sangue venoso de cães em água gelada	60
---	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG- *Anion gap*

ALT- Alanina amino transferase

AST- Aspartato amino transferase

BE- excesso de base

CHCM- concentração de hemoglobina corpuscular média

Cl⁻ - cloretos

CL- *Clearence*

ctO₂- conteúdo total de oxigênio

DMVP- Departamento de Medicina Veterinária Preventiva

DRC- Doença Renal Crônica

EDTA- anticoagulante ácido etileno tetra-acético

ELISA- Ensaio de imunoabsorção enzimática (Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay)

FA- Fosfatase alcalina

FGF23- fator de crescimento de fibroblastos 23

GGT- Gama glutamil transferase

HCO₃⁻ - bicarbonato

HCM- hemoglobina corpuscular média

HPTsr- hiperparatireoidismo secundário renal

iCa- Cálcio ionizado

IFCC- International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

IRIS- Sociedade Internacional de Interesse Renal (International Renal Interest Society)

IV- Intravenosa

K⁺ - potássio

LRA- Lesão Renal Aguda

mOsm- osmolalidade

Na⁺ - sódio

NAG- N-acetil-b-D-glucosaminidase

OH- ovariectomia

P50- pressão parcial do oxigênio em saturação de oxigênio de 50%

PAM- pressão arterial média

PAS- pressão arterial sistólica

pH- potencial hidrogeniônico

pCO₂- pressão parcial de dióxido de carbono

pO₂- pressão parcial de oxigênio

PT- proteínas totais

RDW- amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos

SBPC/ML- Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboral

SDMA- Dimetilarginina simétrica (Symmetric dimethylarginine)

SO₂- saturação de hemoglobina

SRD- sem raça definida

tCa- cálcio total

TFG - Taxa de Filtração Glomerular

UEL- Universidade Estadual de Londrina

uGGT- Gama glutamil transferase urinária

uGGT/Cr- Relação gama glutamil transferase e creatinina urinários

UPC- Relação proteína: creatinina urinárias

VG- Volume Globular

VGM- Volume Globular Médio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	DOENÇA RENAL CRÔNICA (DRC).....	17
2.1.1	TESTES DE AVALIAÇÃO DE FUNÇÃO E LESÃO RENAL	19
2.1.1.1	Ureia	19
2.1.1.2	Creatinina	20
2.1.1.3	Sedimento e Densidade Urinária	20
2.1.1.4	Dimetilarginina Simétrica (SDMA)	23
2.1.1.5	GGT urinária	26
2.2	HEMOGASOMETRIA	30
2.2.1	FASES LABORATORIAIS	30
2.2.2	FASE PRÉ-ANALÍTICA DA HEMOGASOMETRIA	30
2.2.2.1	Indicação do exame	30
2.2.2.2	Amostra arterial ou venosa	31
2.2.2.3	Coleta da amostra	32
2.2.2.3.1	<i>Sedimentação da amostra</i>	32
2.2.2.3.2	<i>Efeito do tempo</i>	32
2.2.2.3.3	<i>Efeito da temperatura</i>	33
2.2.2.3.4	<i>Efeito da presença de bolhas de ar</i>	34
2.2.2.3.5	<i>Efeito do material da seringa e anticoagulante</i>	34
3	OBJETIVOS	37
3.1	OBJETIVOS GERAIS	37
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37

ARTIGO A- RELAÇÃO GGT/CREATININA URINÁRIAS (uGGT/creatinina) NA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DA DOENÇA RENAL CRÔNICA (DRC)DE OCORRÊNCIA NATURAL EM CÃES		38
	Resumo.....	38
	Abstract	39
1	INTRODUÇÃO	40
2	MATERIAL E MÉTODOS	42
2.1	SELEÇÃO DOS ANIMAIS E AVALIAÇÃO CLÍNICA	42
2.2	ANÁLISE DAS AMOSTRAS	43
2.3	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	44
3	RESULTADOS	44
4	DISCUSSÃO	46
5	CONCLUSÃO	49
	Apêndice 1	50
	Referências	52
 ARTIGO B- AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TEMPO, DO ARMAZENAMENTO E DO ANTICOAGULANTE NAS AMOSTRAS DE HEMOGASOMETRIA VENOSA EM CÃES		56
	Resumo.....	56
	Abstract	57
1	INTRODUÇÃO	58
2	MATERIAL E MÉTODOS	59
2.1	SELEÇÃO DOS ANIMAIS	59
2.2	COLETA DE MATERIAL	59
2.3	ANÁLISE DAS AMOSTRAS	60
2.4	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	61
3	RESULTADOS	62
4	DISCUSSÃO	64
5	CONCLUSÃO	68
	Referências	68
 4	 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	 75
5	CONCLUSÃO	75

REFERÊNCIAS	76
APÊNDICES	83
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	84
APÊNDICE B – Certificado do Comitê de Ética – Artigo A	85
APÊNDICE C – Certificado do Comitê de Ética – Artigo B	86

1 INTRODUÇÃO

A Sociedade Internacional de Interesse Renal (International Renal Interest Society- IRIS) foi organizada em 1998 com a finalidade de estabelecer diretrizes reconhecidas internacionalmente sobre a doença renal em pequenos animais. A doença renal crônica (DRC) é estadiada com base nos valores séricos creatinina e dimetilarginina simétrica (SDMA) (IRIS, 2023).

Independente da etiologia, a DRC é considerada a doença renal mais comum em cães (Miyagawa *et al.*, 2010), sendo uma importante causa de morbidade e mortalidade (Brow *et al.*, 2016).

A falha de função renal muitas vezes é observada pelo clínico devido ao aumento das concentrações séricas de ureia e creatinina, no entanto, é necessário perda de aproximadamente 75% da função renal para que isto ocorra (Fettman, Rebar; 2007; Pressler, 2013). Isto mostra que a creatinina é um biomarcador tardio. Dessa forma, quando o reconhecimento do quadro ocorre por este parâmetro, a doença já está avançada (Seveg, 2018).

A SDMA é um biomarcador da taxa de filtração glomerular (TFG) e apresenta alterações em seus valores precocemente em relação à creatinina (Hall *et al.*, 2014; Hall *et al.*, 2016). Recentemente foi inserida nas diretrizes de DRC da IRIS (IRIS, 2023).

A gama glutamil transferase (GGT) é uma enzima localizada nas células da borda em escova do túbulo contorcido proximal e o aumento da sua atividade na urina tem sido relacionado a lesão tubular (Brunker *et al.*, 2009), sendo utilizada como marcador de lesão renal aguda (LRA).

Devido à importância do diagnóstico precoce, este trabalho tem como um dos objetivos avaliar biomarcadores séricos e urinários em cães com DRC de ocorrência natural.

A hemogasometria é definida como a análise dos gases sanguíneos de uma artéria ou veia e pode fornecer informações sobre o estado cardiopulmonar e ácido-base de um paciente. Amostras arteriais são usadas quando se quer avaliar a função pulmonar, enquanto amostras venosas fornecem informações sobre perfusão e estado ácido-base (Bateman, 2008).

Com a expansão da Medicina Veterinária Intensivista e a maior acessibilidade aos analisadores de gases sanguíneos, faz-se necessário

compreender a técnica, desde a coleta das amostras até a interpretação final dos resultados, minimizando erros pré, trans e pós analíticos (Bateman, 2008).

Este trabalho tem como segundo objetivo analisar os efeitos pré-analíticos sobre a hemogasometria venosa de cães: a) comparando as amostras coletadas em seringas contendo heparina lítica com as amostras coletadas em seringas contendo heparina sódica; e b) determinar a influência do tempo e do método de armazenamento sobre os resultados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DOENÇA RENAL CRÔNICA (DRC)

A DRC pode ser classificada como a perda da função renal irreversível e progressiva caracterizando uma alteração estrutural do parênquima renal (Polzin, 2013). A IRIS estabelece uma escala de estadiamento da DRC baseada nos níveis séricos de creatinina. Neste caso, devido a estimulação crônica do sistema renina-angiotensina-aldosterona, possível hipertensão sistêmica e glomerular, como também proteinúria, os animais devem ser sub estadiados de acordo com relação proteína: creatinina urinárias (UPC) e a pressão arterial sistólica (PAS), como demonstram os Quadros 1 a 3 (IRIS, 2023).

A lesão crônica aos rins acarreta a perda de néfrons que, no processo de reparação, são substituídos por tecido fibroso afuncional, causando a hipertrofia dos néfrons remanescentes. Essa forma compensatória mantém a TFG preservada e os níveis de ureia e creatinina dentro da faixa de referência, até que ocorra a perda de 60-75% dos néfrons (Fettman, Rebar; 2007; Pressler, 2013). Dessa forma, podem existir pacientes não azotêmicos e assintomáticos mesmo em estágios avançados (Yerramilli *et al.*, 2016). Assim, faz-se necessário conhecer marcadores precoces da DRC, para concluir o diagnóstico e estabelecer o tratamento e prognóstico mesmo antes dos aumentos dos níveis de uréia e creatinina.

Quadro 1: Escala de graduação da DRC pela IRIS baseado nos níveis séricos de creatinina em cães

Grau	Creatinina sérica (mg/dL)	Descrição clínica
1	<1,4	Não azotêmicos, no entanto apresenta alguma outra anormalidade renal presente, como, incapacidade de concentração urinária, imagem renal anormal, histopatológico renal anormal, etc
2	1,4 -2,0	Azotemia leve Sinais clínicos leves ou ausentes
3	2,1-5,0	Azotemia moderada Sinais extrarrenais podem estar presentes, mas sua extensão e gravidade podem variar
4	>5,0	Aumento do risco de sinais clínicos sistêmicos e de síndrome urêmica

Fonte: IRIS 2023 modificado

Quadro 2: Classificação da proteinúria pela IRIS por meio da relação proteína: creatinina urinárias em cães

Classificação	Cães
Proteinúrico	>0,5
Proteinúria incerta	0,2-0,5
Não proteinúrico	≤ 0,2

Fonte: IRIS 2023 modificado

Quadro 3: Sub estadiamento da DRC pela IRIS quanto a pressão arterial sistólica em cães

Pressão Arterial Sistólica (mmHg)	Substágio de Pressão Arterial	Risco de Lesão em Órgãos Alvo
< 140	Normotenso	Mínimo
140-159	Pré-hipertenso	Baixo
160-179	Hipertenso	Moderado
≥ 180	Severamente hipertenso	Alto

Fonte: IRIS 2023 modificado

2.1.1 TESTES DE AVALIAÇÃO DE FUNÇÃO E LESÃO RENAL

A taxa de mortalidade por doença renal em paciente humanos (Yu *et al.*, 2007) e em pacientes veterinários (Worwag, Langston; 2008) é bastante elevada. Entre os fatores que contribuem para isso estão o diagnóstico tardio da doença e o caráter progressivo da afecção. O diagnóstico precoce pode ser ainda mais importante na Medicina Veterinária, devido à escassez de terapias de substituição renal (Seveg, 2018).

Para considerar um biomarcador como ideal ele deve ser altamente sensível e específico para DRC, mostrar correlação com o grau de lesão/função, informar sobre o prognóstico, detectar lesões precoces, identificar o seguimento renal afetado, ser aplicável para diferentes grupos etários e raças, ser órgão-específico, permitir identificar a causa da lesão, não ser invasivo e apresentar estabilidade para armazenamento (Shah *et al.*, 2017).

2.1.1.1 Ureia

A ureia é um produto do metabolismo hepático de proteínas, sua maior porção é excretada pela urina por meio da TFG, no entanto, é reabsorvida parcialmente. Dessa forma, alterações na TFG ocasionam mudanças nos níveis séricos de ureia, por exemplo, a redução da TFG acarreta aumento da ureia sanguínea. No entanto, existem outras causas para alterações desse parâmetro, como por exemplo, a desidratação que reduz a TFG, como também, a maior produção de uréia pelo fígado (Fettman, Rebar; 2007).

2.1.1.2 Creatinina

A creatinina é derivada da creatina muscular, com produção diária relativamente constante. Quase que sua totalidade é excretada pela via renal, através da TFG. Fatores como aumento do catabolismo muscular, desidratação e causas de azotemia pós-renal podem aumentar os valores séricos de creatinina, sem relação com a TFG (Fettman, Rebar; 2007).

A creatinina é preferida em relação a ureia como marcador da TFG, já que possui menos interferências extra renais (Nabity, 2018). No entanto, como é um produto do metabolismo muscular, seus valores sofrem interferência da quantidade de massa muscular do paciente. Dessa forma, pode-se considerar de forma errônea uma disfunção renal em animais extremamente musculosos, como também superestimar a função renal em animais caquéticos, sendo esta condição frequente no estágio final da DRC (Yerramili *et al.*, 2016).

Apesar de ser um marcador de lesão renal, o aumento em seus valores acontece de forma tardia, quando há perda substancial dos néfrons funcionais, dessa forma é um marcador de baixa sensibilidade para pequenas diminuições da TFG (Fettman, Rebar; 2007; Pressler, 2013).

Para Grauer (2005), é importante que o clínico atente para aumentos não azotêmicos da creatinina, para isso devem ser realizados exames periódicos. Por exemplo, o clínico poderia considerar a função renal normal em um animal com a concentração sérica de creatinina de 1,2mg/dL, se esse exame for realizado de forma isolada. No entanto, se no exame anterior a creatinina estava 0,6mg/dL, o resultado atual revela que houve perda significativa da função renal neste paciente.

2.1.1.3 Urinálise

A urinálise é um teste laboratorial importante, simples e utilizado na rotina clínica de cães e gatos. O exame compreende a análise macroscópica (aspecto, coloração e densidade), físico-química pelo uso de tiras reagentes (pH, presença de sangue oculto, bilirrubina, proteínas, glicose e cetonas) e a sedimentoscopia, sendo neste último possível identificar os tipos celulares, microorganismos, cristalúria e cilindúria (Fettman, Rebar; 2007).

A urina pode ser coletada por cistocentese, sondagem uretral ou micção espontânea e deve ser analisada dentro de 30 minutos. Caso não seja

possível, a amostra pode ser refrigerada por até 24 horas, isso não altera o pH e a gravidade específica da urina, mas pode induzir a cristalúria *in vitro* (Callens, Bartges; 2015).

Na macroscopia, a urina normal apresenta-se amarela a âmbar e translúcida. A intensidade da cor apresenta relação com o volume de urina produzido e com a gravidade específica. Dessa forma, animais com poliúria (PU) e polidipsia (PD), como é o caso dos DRC, irão apresentar a urina de coloração amarelo claro a transparente (Callens, Bartges; 2015).

A densidade urinária é mensurada por meio de um refratômetro e indica a capacidade dos túbulos renais em concentrar ou diluir a urina. Esse parâmetro não apresenta um intervalo fisiológico e para avaliar seu resultado de maneira eficaz, deve-se levar em consideração a hidratação do paciente. Os valores encontrados normalmente em cães hidratados estão próximos de 1,015 a 1,045 (Watson, Lefebvre, Elliot; 2015). Encontrar uma urina diluída em um animal desidratado ou azotêmico é um achado anormal e indicativo de insuficiência renal (Callens, Bartges; 2015).

As tiras reagentes colorimétricas são utilizadas para a avaliação semiquantitativa de alguns parâmetros citados anteriormente. O pH urinário geralmente é ácido em cães, mas variações podem ocorrer dependendo da dieta, medicamentos ou doenças concomitantes (Callens, Bartges; 2015).

A proteinúria é um termo utilizado para descrever a presença de qualquer tipo de proteína na urina. Em animais com lesão renal a proteína predominante é a albumina e existem dois mecanismos principais para a sua ocorrência: 1) lesão glomerular impossibilitando a permeabilidade seletiva a partículas de alto peso molecular e 2) redução da capacidade reabsortiva pelos túbulos contorcidos proximais (Grauer, 2016). Fettman e Rebar (2007) enfatizam que a proteinúria só deve ser interpretada em animais sem sedimento urinário.

Um estudo realizado por Jacob e colaboradores (2005) constatou que cães azotêmicos com relação proteína: creatinina urinárias (UPC) $\geq 1,0$ apresentavam uma progressão mais rápida da doença renal, maior risco de desenvolverem crises urêmicas e morte.

O limiar de reabsorção tubular de glicose é de 180mg/dL em cães, dessa forma a glicose não é normalmente observada na urina de animais

saudáveis. A presença de glicosúria em animais normoglicêmicos indica uma lesão nos túbulos proximais. A cetonúria em pequenos animais geralmente ocorre secundária ao Diabetes Mellitus, não sendo um achado em animais com lesão renal (Callens, Bartges; 2015).

A bilirrubinúria pode ser um indicador de doença hepática ou hemólise. Já a presença de sangue oculto necessita de posterior interpretação para avaliar se é hemoglobinúria, mioglobinúria ou hematúria (Fettman, Rebar; 2007).

A sedimentoscopia consiste na análise microscópica do sedimento urinário após centrifugação. Esse exame permite analisar a presença de hemácias, leucócitos, bactérias, cristais, cilindros, células de descamação renal e células neoplásicas, evidenciando características importantes para o clínico (Callens, Bartges; 2015).

Segundo Forrester (2004), a hematúria consiste em um número anormal de eritrócitos na urina, podendo ser macro ou microscópica, e indica doença no trato urogenital. Caso a amostra de urina tenha sido obtida por cistocentese, indica-se nova coleta por micção espontânea após 24 horas, para descartar hematúria iatrogênica. Quando a hematúria está presente em ambas as amostras, os locais de origem do sangramento mais prováveis são os rins, ureteres, bexiga, uretra proximal ou próstata. Em pacientes humanos, a hematúria pode ser associada a quadros de nefrite intersticial aguda, glomerulonefrite aguda, vasculites, embolia e trombose (Yu *et al.*, 2007).

A presença de piúria e bacteriúria podem ser indicadores de inflamação e infecção no trato urinário, como ocorre nos casos de cistite ou pielonefrite. Para avaliar a presença de bactérias, o clínico deve considerar o método de coleta da urina, isso ajuda a localizar a origem da infecção como também avaliar contaminação iatrogênica (Piech, Wycislo; 2018). A urocultura deve ser indicada em animais com hematúria, piúria e bacteriúria (Forrester, 2004).

A cristalúria é um achado frequente na urina de cães, podendo ou não estar relacionada com a urolitíase (Piech, Wycislo; 2018).

Os cilindros são compostos por uma matriz de mucoproteína e são formados nos túbulos renais, dessa forma, quando em grande número, podem indicar lesão tubular. Os cilindros hialinos geralmente são desprovidos

de elementos celulares, podendo ser encontrados em casos de proteinúria fisiológica e/ou patológica. No entanto, quando em grande quantidade, a perda de proteína glomerular deve ser considerada, já que a perda de albumina pelos glomérulos estimula a produção e secreção de proteínas pelos túbulos. Por sua vez, os cilindros granulares são compostos de elementos celulares degenerados, além da mucoproteína. Quando em números elevados, são um indicador de lesão tubular ativa. Já os cilindros céreos são indicativos de doença tubular crônica (Piech, Wycislo; 2018).

2.1.1.4 Dimetilarginina simétrica (SDMA)

A arginina é um aminoácido essencial na maioria dos animais e, após sua tradução, ocorre modificação e metilação de sua estrutura, dando origem a dois isômeros: dimetilarginina simétrica (SDMA) e dimetilarginina assimétrica (ADMA). A maior parte da ADMA circulante é eliminada por meio de vias enzimáticas, enquanto a SDMA é eliminada exclusivamente pela filtração e excreção renal, tornando esse último um forte marcador da TFG e da função renal (Yerramili *et al.*, 2016).

O estudo realizado por Nabity e colaboradores (2015) revelou que os níveis de SDMA acompanharam a DRC em cães, identificando precocemente a diminuição da função renal quando comparado aos níveis séricos de creatinina e com a TFG. Além disso, foi possível constatar que a SDMA é estável no soro e no plasma sanguíneo de cães, podendo ser armazenada em temperaturas ambiente de 20°C e refrigerado a 4°C por 14 dias.

Diferente da creatinina, as concentrações de SDMA não são influenciadas pela massa muscular do animal, tornando esse parâmetro um marcador mais fidedigno (Hall *et al.*, 2015).

Um estudo (Koster *et al.*, 2018) analisou a relação da SDMA em cães críticos, monitorados em terapia intensiva, sem sinais de LRA ou diagnóstico prévio de DRC e não constatou relação prognóstica entre este parâmetro e doenças extra renais.

Hall e colaboradores (2016) analisaram 19 cães Beagles com DRC de ocorrência natural em três momentos diferentes, 1) quando a creatinina e SDMA estavam dentro da faixa de referência, 2) creatinina dentro da faixa de referência e SDMA elevado e 3) creatinina e SDMA elevadas. Dessa forma,

concluíram que a SDMA sérica aumentou, em média, 9,8 meses antes que os valores séricos de creatinina se elevassem. Além disso, esse estudo concluiu para a SDMA estar acima do valor superior de referência (14 µg/dL), deve existir a redução de 49% da TFG.

Em um estudo realizado por Nabity e colaboradores (2015) com oito cães machos afetados com nefropatia hereditária ligada ao cromossomo X, os valores séricos de SDMA aumentou, em média, 4,8 semanas antes da creatinina. Uma possibilidade para isso seria que a etiologia da DRC interfere na progressão da doença e no curto espaço de tempo entre o aumento de SDMA e de creatinina.

Coyne e colaboradores (2022) estudaram 1803 casos de diferentes tumores caninos e felinos e, entre eles 307 cães com linfoma e 224 felinos com linfoma. Constataram um aumento de SDMA na ausência de aumento de creatinina em aproximadamente 50% dos pacientes caninos e felinos com linfoma, no momento do diagnóstico. Os autores citam três possibilidades para esse achado: 1) redução na TFG devido à infiltração renal por células tumorais ou nefropatias induzidas pelo tumor; 2) aumento da produção de SDMA pelas células tumorais; 3) ou, menos provável, redução do *clearance* de SDMA pelos rins.

Em um estudo avaliando as concentrações séricas de SDMA em cães da raça Greyhound, foi possível concluir que apresentam níveis séricos de SDMA significativamente maior em comparação com cães de outras raças não galgos, sendo o intervalo de referência para essa raça definido como 6,3-19,9µg/dL (Liffmann *et al.*, 2018).

Drost, Couto e Fischetti (2006) realizaram um estudo com 10 cães da raça Greyhound retirados da corrida e 10 cães não galgos de porte e peso semelhantes para analisar a TFG por meio da depuração plasmática do tecnécio-99m-ácido dietilenotriaminopentacético ([99mTc]Tc-DTPA). Neste estudo, a TFG dos Greyhounds foi significativamente maior ($3,0 \pm 0,1$ mL/kg/min vs. $2,5 \pm 0,2$ mL/kg/min; $P < 0,01$), sugerindo um componente extra-renal para a concentração de creatinina e SDMA na raça ser superior a faixa de referência da espécie. Desta forma, faz-se importante entender a possível influência não renal nos níveis de SDMA circulante.

Atualmente as diretrizes da IRIS (2023) sustentam o uso de SDMA como um teste de triagem para detecção de DRC precoce, realizado em conjunto com a creatinina sérica (Quadro 4), urinálise, UPC e ultrassonografia.

Como já citado, a SDMA pode ser considerada um marcador precoce de DRC em cães, no entanto, pouco se sabe a respeito dela em quadros de LRA nesses animais. Em humanos, a SDMA é considerada um marcador de LRA (Lunenburg *et al.*, 2012).

Um estudo realizado por Dahlem e colaboradores (2017) não avaliou a precocidade da SDMA na LRA, mas revelou aumento deste marcador nos animais diagnosticados com insuficiência renal aguda (IRA) e com DRC.

Quadro 4: Estadiamento da DRC em cães pela IRIS considerando os níveis séricos de SDMA (IDEXX).

Parâmetro	Estágio 1 Não-azotêmico	Estágio 2 Azotemia leve	Estágio 3 Azotemia moderada	Estágio 4 Azotemia severa
Creatinina (mg/dL)	<1,4	1,4-2,0	2,1-5,0	>5,0
SDMA (µg/dL)	<18	18-35	36-54	> 54

Fonte: IRIS 2023 modificado.

A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC/MS) é um método preciso para mensurar a SDMA. No entanto, possui alto custo e demanda tempo, além de necessitar da criação de uma rotina de animais saudáveis e doentes, para então, criar um banco de dados do laboratório. O laboratório da IDEXX disponibiliza um teste de imunoensaio homogêneo competitivo, para quantificar os níveis deste marcador no soro e no plasma. Atualmente, os parâmetros usados pela IRIS são baseados nos valores deste laboratório (Relford, Robertson, Clements; 2016).

Em um estudo realizado com 30 cães e 30 gatos, compararam-se os valores de SDMA mensurados pelo teste da IDEXX e pelo DLD SDMA ELISA, teste para humanos, com os valores obtidos pela LC/MS e constatou que o teste da IDEXX foi mais preciso e mais adequado para o uso clínico no diagnóstico e monitoração da doença renal em cães e gatos (Ernst *et al.*, 2018).

2.1.1.5 GGT urinária

A gama glutamil transferase (GGT) é uma enzima localizada nas células da borda em escova dos túbulos proximais. Seu tamanho (90 KDa) impossibilita a passagem dessa enzima do sangue pelo glomérulo íntegro, portanto, sua presença na urina, tem sido relacionada com lesão tubular (De Loor *et al.*, 2013).

Ford (1974) mensurou em seu estudo a atividade da GGT em sete tecidos de quatro ovelhas Clun Forest saudáveis com seis meses de idade. Constatou que a atividade nos rins, foi de 10 a 16 vezes maior que no fígado, seguido de pequenas quantidades em intestino delgado e pâncreas. A atividade da enzima no cérebro e no músculo cardíaco foi muito baixa e nenhuma foi detectada no músculo esquelético.

Keller, Ruedi e Gutzwiller (1985) compararam diversas atividades enzimáticas em tecidos de 17 diferentes espécies animais. Os cães estudados foram da raça Beagle. A GGT teve maior expressão no pâncreas, seguido dos rins, intestinos e fígado desses animais.

Ainda no estudo de Ford (1974) foram comparadas as atividades de GGT séricas em ovelhas submetidas a lesões experimentais. Houve liberação de GGT nos animais que receberam esporidesmina quando havia evidência histológica de colestase, como também aumento nos níveis séricos de GGT nos animais que foram submetidos a ligadura do ducto biliar. As ovelhas que receberam tetracloreto de carbono, que tem potencial de provocar lesão hepática e renal nesta espécie, apresentaram leve ou nenhum aumento da GGT sérica, não sendo possível determinar se esse aumento, quando presente, foi de origem hepática ou renal. Os animais que receberam o composto nefrotóxico cloreto de mercúrio, apresentaram lesões graves em túbulos renais, sem alterações em fígado e, não tiveram aumento nos níveis de GGT sérica. Isto sugere que a GGT sérica não sofre interferências de lesões renais nesta espécie.

Para Clemo (1998) as enzimas urinárias têm sido utilizadas para avaliação da nefrotoxicidade aguda, fornecendo um teste não invasivo sensível para danos renais. Podem também ser utilizadas como marcadores subcelulares de dano renal devido à sua localização na borda em escova, citosol, lisossomos ou mitocôndrias. Dessa forma, o aumento da atividade de GGT urinária (uGGT)

tem sido associado a lesão tubular proximal em cães, mais precisamente das células de borda em escova.

Davis e colaboradores (2022), induziram lesão renal isquêmica em seis cães da raça Greyhounds, machos, com peso médio de 31kg e saudáveis. Neste estudo, foi coletado sangue basal (T0), os animais foram submetidos a anestesia para posterior remoção de volume sanguíneo até que a pressão arterial média (PAM) ficasse abaixo de 40mmHg, nesse momento foi coletado nova amostra de sangue (T1). Foi então administrado gelofusina para elevar a PAM acima de 60mmHg. Novas amostras de sangue foram coletadas 60 (T2), 120 (T3) e 180 (T4) minutos após a PAM > 60mmHg. Foi realizada a mensuração da urina produzida e coleta de urina a cada hora. Após T4 os animais foram submetidos à eutanásia e a remoção renal foi imediata para análise histológica. Um cão apresentou LRA grau I pela IRIS, três cães LRA grau II pela IRIS e dois cães não tiveram LRA. Os valores de uGGT e os valores da relação GGT:creatinina urinárias (uGGT/C) aumentaram significativamente a partir de T2. A histologia revelou lesão renal isquêmica aguda em quatro cães, principalmente na junção tubuloglomerular.

Brunker, Ponzio e Payton (2009) elaboraram um estudo para determinar os intervalos de referência para índices urinários de N-acetil- β -D-glicosaminidase (NAG) e GGT em cães adultos saudáveis. Para isso estudaram um grupo de 38 cães que foram submetidos a exames físico e laboratoriais. As atividades de NAG e GGT na urina foram avaliadas, e os valores dos respectivos índices foram determinados como atividade urinária de NAG ou GGT (U/L) dividida pela concentração de creatinina na urina (g/L). Foi possível estabelecer um intervalo de referência para uGGT em cães: 1,93 a 28,57 U/g. Os valores de uGGT não sofreram interferência do sexo e superfície corporal, no entanto, as alterações no pH da urina afetaram significativamente o índice de uGGT. Entre os 38 cães do estudo, o pH da urina variou de 5,0 a 8,0; o índice médio de uGGT foi de $10,80 \pm 1,39$ U/g entre cães com pH urinário < 7,0 e $19,03 \pm 2,90$ U/g entre cães com pH urinário $\geq 7,0$ ($P = 0,017$).

Uechi, Terui, Nakayama e colaboradores (1994) realizaram um estudo para avaliar se a excreção de NAG e GGT urinárias sofria interferência circadiana, do volume urinário e do sexo em cães. Neste estudo participaram 22 cães adultos, SRD, de 7-13kg, 11 machos e 11 fêmeas. Os animais foram

sondados de forma asséptica para coleta de urina durante 24h. O sistema era esvaziado a cada 4h e o volume de urina recuperado era mensurado. Uma alíquota foi armazenada para as dosagens. Após as 24 horas, todo o volume de urina foi misturado e nova alíquota enviada para os testes laboratoriais. Os animais também foram submetidos a coleta de sangue. Neste trabalho, houve variação circadiana no volume e pH urinários como também na excreção de creatinina. Não houve variação circadiana no *clearance* de creatinina como também nenhum padrão de excreção característico foi encontrado para NAG e GGT urinárias. Neste estudo, não foi constatada diferença de NAG e GGT urinária em relação ao sexo. Para descartar que a atividade urinária sofresse interferência do volume urinário, foi realizada a relação pela creatinina e os resultados sugeriram que a atividade enzimática em uma amostra de urina pode ser utilizada para extrapolar valores de 24h e detectar insuficiência renal.

No trabalho realizado por Ilchyshyn, Villiers e Mont (2019) a atividade da GGT foi afetada pelo pH urinário, sendo preservada quando o pH estava na faixa de 6,5-8,0 e reduzida de forma significativa (80-100%) quando pH se encontrava <5,0 ou >8,5.

No seu estudo dosando a atividade da uGGT em cadelas com piometra, Schepper e colaboradores (1989) propuseram que para corrigir a interferência do volume urinário sobre a atividade da GGT urinária os resultados fossem calculados para uma densidade urinária de 1,025, pela equação: $x = (Y \times 25) / Z$, na qual X = concentração calculada; Y = concentração determinada e Z = dois últimos dígitos densidade urinária mensurada.

Heine, Moe e Molmen (2001) estudaram a liberação de enzimas urinárias em cães com piometra e sua relação com os achados histopatológicos renais. Foram constatadas atividades elevadas das enzimas em pacientes com piometra, que reduziram após a ovariectomia (OH). Na microscopia foram evidenciadas lesões tubulares como vacuolização citoplasmática, edema celular, cilindros hialinos, espessamento da membrana basal, em alguns animais havia necrose tubular focal. Também foram evidenciadas lesões glomerulares e intersticiais de natureza aguda ou crônica. O estudo não foi capaz de constatar se essas alterações estruturais estavam presentes antes do quadro, mas a redução da enzímúria sustenta a hipótese de que sejam lesões agudas reversíveis associadas à piometra.

Lobetti e Lambrechts (2000) acompanharam as enzimas urinárias de 35 cadelas saudáveis submetidas a ovariectomia (OH), e constataram que a atividade da uGGT e a uGG/C aumentaram após a cirurgia, evidenciando que existe lesão renal transitória devido a hipotensão.

Um estudo com 15 cães com leishmaniose constatou, por histopatologia, a presença de lesão renal em todos (Palacio, Liste, Gascón; 1997). Esses animais não apresentavam diferenças significativas nos valores de ureia e creatinina em relação ao grupo controle, no entanto as atividades das enzimas urinárias foram maiores nos cães com leishmaniose, concluiu-se que podem ser utilizadas como marcadores precoces de lesão renal.

O Quadro 5 relaciona os biomarcadores com o tipo de amostra, a condição clínica de sua elevação e com o método utilizado para mensuração.

Quadro 5: Marcadores utilizados para avaliação renal em cães.

Biomarcador	Amostra	Condição de elevação	Método(s) de mensuração
<i>Marcadores substitutos da TFG</i>			
Uréia	- Soro e plasma	-Diminuição da TFG -Causas extra renais	- Método ultravioleta - Cinético colorimétrico
Creatinina	-Soro e plasma	-Diminuição da TFG -Causas extra renais	-Jafee (picrato-alkalino) -Reações enzimáticas
SDMA	- Soro e plasma	-Diminuição da TFG	- LC/MS - ELISA
<i>Marcadores da disfunção tubular</i>			
GGT	- Urina	- Dano ao túbulo proximal causando aumento de sua liberação	- Ensaio cinético

Fonte: Modificado Cobrin et al., 2013.

2.2 HEMOGASOMETRIA

2.2.1 FASES LABORATORIAIS

A solicitação de exames laboratoriais é uma prática comum e em constante crescimento. Exames bem solicitados e executados podem ajudar o clínico, da mesma forma, seu uso e/ou execução inapropriados podem trazer prejuízos ao paciente. Dessa forma, faz-se necessário compreender as diferentes fases das análises laboratoriais para minimizar seus efeitos indesejáveis sobre os resultados.

Para Vasconcellos (2020) as etapas laboratoriais podem ser divididas, didaticamente, em: fase pré-analítica, analítica e pós analítica. A fase pré-analítica compreende todos os procedimentos que ocorrem antes da fase laboratorial, desde a escolha e indicação do exame pelo profissional solicitante, preparo do paciente, coleta, preparo e transporte das amostras biológicas até o laboratório de execução. Esta fase possui diversas variáveis e menor implementação de tecnologias, estando mais sujeita a erros humanos, seguida pelas fases analítica e pós analítica. A fase analítica compreende a análise laboratorial, de execução do exame em si, ocorre em laboratórios clínicos apropriados, de modo manual ou automatizado. Seguindo o mesmo raciocínio, a fase pós analítica compreende tudo que ocorre após a execução do exame como: realização dos laudos, revisão de valores críticos, solicitação de nova coleta, interpretação dos resultados.

Analisar os efeitos do anticoagulante, do tempo e do armazenamento nos resultados dos valores de hemogasometria venosa de cães, possibilita entender a influência desses fatores nos resultados, minimizando os erros da fase pré-analítica e da pós-analítica no que se diz a interpretação dos resultados.

2.2.2 FASE PRÉ ANALÍTICA DA HEMOGASOMETRIA

2.2.2.1 Indicação do exame

A hemogasometria deve ser realizada em todos os animais com suspeita de apresentar distúrbio ácido-base. O exame mensura eletrólitos e parâmetros como: potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de dióxido de

carbono ($p\text{CO}_2$) e pressão parcial de oxigênio ($p\text{O}_2$); tendo um número variável de valores calculados, como o bicarbonato e o excesso de base (Bailey, Pablo; 1998).

Os principais fatores da análise de gases sanguíneos e sua relação clínica são: 1) $p\text{O}_2$, indica a eficácia das trocas de oxigênio entre os alvéolos e os capilares pulmonares; 2) $p\text{CO}_2$, indica a eficácia da ventilação alveolar; 3) saturação de hemoglobina (SO_2), refere-se à fração de hemoglobina transportando oxigênio em relação a todas as hemoglobinas que podem transportá-lo; 4) conteúdo total de oxigênio (ctO_2) que corresponde à soma da concentração do oxigênio ligado à hemoglobina e do oxigênio dissolvido no sangue; 5) pressão parcial do oxigênio em saturação de oxigênio de 50% (P50), é um parâmetro calculado, definido como a pressão parcial do oxigênio ($p\text{O}_2$) em uma saturação de oxigênio de 50%. Quando a P50 se eleva indica decréscimo da afinidade do oxigênio (O_2) pela hemoglobina, facilitando a liberação em nível tecidual e, 6) lactato que é produzido em excesso quando há um suprimento inadequado de oxigênio aos tecidos (Sumita e Mendes; 2018).

2.2.2.2 Amostra arterial ou venosa

Para definir o melhor material a ser coletado, deve-se pensar qual a análise clínica desejada com o exame. A avaliação da função pulmonar necessita de uma amostra de sangue arterial, permitindo a avaliação adequada da $p\text{O}_2$ e saturação de hemoglobina (SaO_2), do estado de ventilação ($p\text{CO}_2$) e do equilíbrio ácido-base (BE e pH) (Gattinoni, Pesenti, Matthay; 2017; Day, 2002). A coleta de sangue arterial pode ser obtida das regiões femoral, braquial, carótida, digital e artérias pedais dorsais (Bailey, Pablo; 1998).

O sangue venoso é um material adequado para a avaliação da perfusão tecidual e estado ácido-base geral, sendo os valores de bicarbonato e do déficit de base muito semelhantes ao das amostras arteriais. No entanto, é uma amostra inadequada para avaliar as variáveis pulmonares ($p\text{O}_2$ e $p\text{CO}_2$) (Gattinoni, Pesenti, Matthay; 2017; Kirubakaran, Gnananayagam, Sundaravalli; 2003; Bailey, Pablo, 1998). No cão, a obtenção do sangue venoso pode ocorrer das veias jugular, cefálica ou safena (Bailey, Pablo; 1998).

2.2.2.3 Coleta da amostra

A coleta da amostra de sangue para análise de gases sanguíneos é de extrema importância, minimizando erros pré analíticos (Hooper, Rezende, Haskins; 2005).

2.2.2.3.1 Sedimentação da amostra

Previamente à análise, as amostras devem ser homogeneizadas lentamente e de forma efetiva, evitando a análise de uma amostra sedimentada, que poderia levar a alteração em todos os parâmetros, principalmente o nível de hemoglobina (Sumita, Mendes; 2018).

2.2.2.3.2 Efeito do tempo

A Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboral (SBPC/ML) (2018) recomenda que a amostra seja analisada imediatamente após a coleta ou em até 30 minutos à temperatura ambiente. Quando a análise ocorrer após esse período, a recomendação é de resfriar a amostra entre 0 e 4°C, diminuindo assim o metabolismo celular que ocorre após a coleta, na seringa, induzindo alteração nos gases sanguíneos, pH e metabólitos.

Harsten e colaboradores (1988) analisaram o efeito do tempo, da temperatura, da presença de bolhas de ar e do uso de diferentes seringas plásticas na análise de gases sanguíneos. Para esse estudo foram utilizadas amostras arteriais com heparina sódica. Em relação ao efeito do tempo, houve alteração estatística apenas nos valores de pH (redução de 0,02 unidades) em amostras armazenadas em água gelada por 60 minutos; pO₂ e pCO₂ não tiveram alterações.

Knowles e colaboradores (2006) fizeram um estudo para avaliar a interferência do material da seringa, tempo de coleta e temperatura nos gases sanguíneos e saturação de oxigênio em amostras de sangue humano. Nesse estudo, foi produzido sangue humano arterializado para a coleta de 45 amostras em seringas de plástico com heparina de lítio liofilizada e balanceada com cálcio e 45 recipientes de vidro com o mesmo anticoagulante. Os dois grandes grupos foram divididos aleatoriamente em três pequenos grupos de 15 amostras, um grupo para análise imediata, um grupo de amostras que ficaram a temperatura ambiente (22°C) para análise após 30 minutos e um grupo de amostras em água

gelada (0-4°C) para análise após 30 minutos. Foram analisados a pCO₂, a pO₂, o pH e a SaO₂. Em relação ao pH e SaO₂ não houve diferença estatística entre os seis grupos. Não houve diferença estatística entre os valores de pO₂ ao se comparar a prática padrão de coleta em plástico com análise imediata das amostras em vidro em análise imediata ou após 30 minutos, seja em temperatura ambiente ou gelada. No entanto, a pO₂ aumentou significativamente em amostras de plástico após 30 minutos, em temperatura ambiente ou gelada. A pCO₂ reduziu significativamente em seringas de vidro armazenadas por 30 minutos em temperatura ambiente ou gelada. Por este estudo, o tempo por si só não afetou os exames, mas a associação do tempo e plástico afetou os valores de pO₂ e a associação tempo e vidro afetou os valores de pCO₂.

Rezende e colaboradores (2007) ao analisarem os efeitos do tempo e armazenamento em água gelada nos gases sanguíneos e medições ácido-base, de amostras coletadas em seringas de polipropileno e com heparina sódica líquida, recomendam que se houver um tempo de espera para a análise da amostra, esta seja armazenada em água gelada por até 6 horas. Esse armazenamento apresentou estabilidade para o pH, excesso de base, pCO₂, concentração de hemoglobina e conteúdo de oxigênio; no entanto, mostrou efeitos significativos para pO₂ e saturação da oxihemoglobina.

2.2.2.3.3 Efeito da temperatura

No trabalho de Harsten e colaboradores (1988), para analisar a interferência da temperatura em amostras de gasometria humana, realizaram a análise antes, 20, 40, 60 e 120 minutos após o armazenamento em temperatura ambiente, cubos de gelo e água gelada. As amostras armazenadas em temperatura ambiente apresentaram alterações significativas na pO₂ em 20 minutos e na pCO₂ em 40 minutos quando comparadas as armazenadas em água gelada. O armazenamento em água gelada mostrou ser melhor que manter as amostras em cubos de gelo ou a temperatura ambiente.

Madiedo, Sciacca e Hause (1980) analisaram o efeito das bolhas de ar e temperatura na análise dos gases sanguíneos. Para isso, foram coletados 5 mL de sangue humano arterial com 200 UI de heparina sódica. As bolhas de ar foram retiradas imediatamente e uma primeira análise realizada. Depois disso, as seringas foram fechadas de forma anaeróbica e divididas em

três grupos: 1) 10% de bolhas de ar, manualmente homogeneizada por 10 vezes e armazenada em gelo (4°C) por 15-20 minutos; 2) armazenado anaerobicamente e a 4°C e 3) armazenado anaerobicamente a 25°C. As amostras do grupo 2 foram mais estáveis, não tendo alteração estatística em relação aos valores iniciais.

2.2.2.3.4 Efeito da presença de bolhas de ar

No estudo de Madiedo, Sciacca e Hause (1980), citado anteriormente, as amostras do grupo 1 após 20 minutos mostraram um aumento significativo na média de pO₂ (11mmHg). Os valores de pH e pCO₂ foram estáveis com ou sem a presença de bolhas nos primeiros 20 minutos.

Por outro lado, no trabalho de Harsten e colaboradores (1988), as bolhas de ar levaram a mudanças significativas nos valores de pO₂ e pCO₂, sendo que a pO₂ foi afetada após 60 segundos, o que não ocorreu nas análises de 30 segundos.

A recomendação atual é que após as coletas, imediatamente, as bolhas de ar que eventualmente estiverem na seringa devem ser retiradas em até 30 segundos para manter um ambiente anaeróbico, colocando uma borracha na agulha ou um tampão comercial (Bateman, 2008).

2.2.2.3.5 Efeito do material da seringa e anticoagulante

Na prática clínica, utilizam-se seringas de plástico de 1 ou 3 mL com agulha de calibre entre 23-29. As seringas podem ser comerciais ou preparadas na própria clínica utilizando-se anticoagulante. Para as seringas preparadas pelo próprio veterinário, costumam ser utilizadas seringas de 1 ou 3mL, plásticas, com anticoagulante heparina sódica líquida utilizado para preencher o canhão da agulha (Day, 2002). As seringas de hemogasometria comerciais são de material plástico, com heparina de lítio liofilizada como anticoagulante e equilibrada com cálcio. No Brasil, existem seringas para três formas de coleta: natural, tubos de sangue pré-calibrados ou por aspiração (BD Vacutainer®).

Para Harsten e colaboradores (1988) ao se compararem três tipos diferentes de seringas de plástico polipropileno com recipientes de vidro,

os valores de pO_2 e pCO_2 aumentaram expressivamente quando no plástico, isso porque esse material é altamente permeável.

Um estudo realizado no Brasil, em humanos, comparando as diferentes seringas comerciais para gasometria (S-Monovette®; BD Preset® e Pico 50®) e a realizada pelo próprio enfermeiro, concluiu que as diferenças na fabricação das seringas podem introduzir fonte de variabilidade em exames laboratoriais de gases sanguíneos, especialmente quando as seringas são preparadas pelos próprios profissionais (Lima-Oliveira *et al.*, 2012).

Para Hopper, Rezende e Haskins (2005) a heparina líquida na amostra poderia levar a dois possíveis erros pré analíticos: 1) diluição da amostra e 2) ligação iônica de íons bivalentes, como o cálcio. Comparada com os valores basais, a diluição da amostra alterou os valores de pCO_2 , pO_2 , déficit de base e concentrações de bicarbonato, potássio, sódio, cloretos, cálcio ionizado e lactato. Apesar da heparina sódica ser considerada uma solução ácida (pH 6,655), o pH só apresentou alteração quando a quantidade de heparina na amostra foi de 34,1%, não ocorrendo nas diluições de 3,9%, 9,4% e 18,8%. A pCO_2 reduziu a partir da diluição 9,4% de heparina. O bicarbonato reduziu com a diluição da heparina como se fosse esperado em uma simples diluição. O déficit de base reduziu pela redução do bicarbonato.

A heparina sódica contém altas concentrações de sódio e cloretos em relação aos níveis séricos de cães e as concentrações dessas variáveis aumentaram em proporção ao volume de diluição. Em relação ao potássio, houve redução dos seus valores com as diluições, sendo a concentração média do valor base 4,6 mEq/L e 2,7 mEq/L após diluição de 34,1% com heparina, isso poderia levar a uma medida de tratamento errônea com prejuízo ao paciente. Os valores de lactato alteraram com a heparina sódica na proporção de uma diluição simples. A diluição das amostras de sangue com heparina teve o grande impacto na concentração de cálcio ionizado, sendo este efeito superior ao que poderia ser contabilizado apenas pela diluição. Heparina quebra o cálcio e outros cátions divalentes, como o magnésio, resultando em dosagens mais baixas. Este é um fenômeno da heparina; seja sódio ou lítio, líquida ou liofilizada (Hopper, Rezende e Haskins, 2005).

Segundo o documento do CLSI C46-A – Blood Gas and pH Analysis Related Measurements; Approved Guideline – recomenda-se o uso de

seringas plásticas preparadas com a heparina liofilizada e com balanceamento de cálcio. De acordo com a International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), a seringa de gasometria deve conter 50 UI de heparina lítica balanceada com cálcio por mL de sangue total.

Para Hopper, Rezende e Haskins (2005) o melhor preparo de seringa ocorreu utilizando-se seringas de 3 mL com uma agulha de calibre 22 acoplada, nas quais 0,5 mL de heparina foi aspirado, o êmbolo chegou na marca de 3mL para permitir o revestimento da superfície interna da seringa com heparina. Realizada a ejeção da heparina e do ar, nova aspiração e ejeção do ar por 3 vezes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Identificar biomarcadores séricos e urinários capazes de identificar precocemente a doença renal crônica.

Avaliar o efeito do tempo, do armazenamento e do anticoagulante nas amostras de hemogasometria venosa em cães.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a concentração sérica de SDMA e sua precocidade quanto ao diagnóstico de DRC.

Avaliar os valores urinários de GGT, como também a GGT corrigida pela densidade e a relação GGT:creatinina urinárias (uGGT/C).

Avaliar os efeitos do armazenamento em água gelada ou em geladeira ao longo de seis horas em amostras de sangue venoso de cães saudáveis e doentes colhidas em seringas contendo heparina sódica líquida ou heparina lítica liofilizada equilibrada com cálcio sobre as variáveis hemogasométricas.

ARTIGO A- RELAÇÃO GGT/CREATININA URINÁRIAS (uGGT/C) NA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DA DOENÇA RENAL CRÔNICA (DRC) DE OCORRÊNCIA NATURAL EM CÃES

RESUMO

Com o objetivo de avaliar biomarcadores séricos e urinários capazes de identificar precocemente a doença renal crônica (DRC) foi conduzido um estudo prospectivo, com 40 cães distribuídos em três grupos: 1) Grupo controle de cães saudáveis (n=17), 2) Cães não azotêmicos, com alteração na imagem renal ultrassonográfica e densidade urinária (Du) <1,030 (n=10) e, 3) Cães azotêmicos com alteração na imagem renal ultrassonográfica e Du <1,030 (n=13). Os pacientes passaram por uma avaliação clínica inicial, na qual foi coletado sangue. Na sequência, foram encaminhados para ultrassonografia abdominal e coleta de urina por cistocentese. As amostras de sangue e urina foram encaminhadas para a realização de hemograma, bioquímicos, incluindo dimetilarginina simétrica (SDMA) sérica, urinálise, relação proteína:creatinina urinárias (UPC), relação GGT:creatinina urinárias (uGGT/C) e GGT corrigida pela densidade urinária (dGGT). Dentre os biomarcadores analisados, a SDMA não mostrou diferença entre os Grupos 1 (média $10,0 \pm 5,56$ µg/dL) e 2 ($20,1 \pm 22,9$ µg/dL), não sendo considerado, nesse estudo, como marcador precoce. Por sua vez, uGGT/C mostrou diferença ($p=0,005$) entre os Grupos 1 (mediana 0,125) e 2 (0,346), evidenciando precocidade. A uGGT/C mostrou-se mais precoce que a UPC dentre os cães avaliados.

Palavras-chave: SDMA, proteinúria, enzimúria.

ARTICLE A- URINARY GGT/CREATININE RATIO (uGGT/creatinina) IN THE EARLY IDENTIFICATION OF NATURALLY OCCURRING CHRONIC KIDNEY DISEASE (CKD) IN DOGS

ABSTRACT

A prospective study was conducted to evaluate serum and urinary biomarkers capable of early identification of chronic kidney disease (CKD). The study included 40 dogs divided into three groups: 1) Control group of healthy dogs (n=17); 2) Non-azotemic dogs with abnormal renal ultrasound images and urinary density (USG) <1.030 (n=10); and 3) Azotemic dogs with abnormal renal ultrasound images and USG <1.030 (n=13). The patients underwent an initial clinical evaluation, in which blood was collected. They were then referred for abdominal ultrasound and urine collection by cystocentesis. Blood and urine samples were sent for complete blood count, biochemical tests, including serum symmetrical dimethylarginine (SDMA), urinalysis, urinary protein:creatinine ratio (UPC), urinary GGT:creatinine ratio (uGGT/C) and GGT corrected for urinary density (usgGGT). Among the biomarkers analyzed, SDMA showed no difference between Groups 1 (mean 10.0 ± 5.56 $\mu\text{g/dL}$) and 2 (20.1 ± 22.9 $\mu\text{g/dL}$), and was not considered an early marker in this study. In turn, uGGT/C showed a difference ($p=0.005$) between Groups 1 (median 0.125) and 2 (0.346), evidencing precocity. uGGT/C was earlier than UPC among the dogs evaluated.

Keywords: SDMA, proteinuria, enzymuria.

1 INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) pode ser classificada como a perda da função renal irreversível e progressiva caracterizando uma alteração estrutural do parênquima renal (Polzin, 2013).

A instalação do quadro pode começar sem sintomas evidentes, evoluindo para sinais de uremia. Com o avançar do comprometimento renal, observa-se sinais em outros sistemas como o digestivo, cardiovascular, esquelético, neurológico e hematopoiético (Notomi *et al.*, 2006), sendo uma importante causa de morbidade e mortalidade em cães (Brow *et al.*, 2016).

Independente da etiologia, a DRC é considerada a doença renal mais comum em cães. As estimativas de prevalência variam de 0,05 a 7% (Miyagawa *et al.*, 2010), podendo aumentar com a idade (Roura, 2019).

Estes valores de prevalência refletem a prevalência de diagnósticos clínicos, não levando em conta os pacientes subdiagnosticados (O'Neil *et al.*, 2013). A falha de função renal muitas vezes é observada pelo clínico devido ao aumento das concentrações séricas de uréia e creatinina, no entanto, é necessário a perda de aproximadamente 75% da função renal para que isto ocorra (Fettman, Rebar; 2007; Pressler, 2013).

A taxa de mortalidade por insuficiência renal em pacientes humanos é de aproximadamente 50% (Yu *et al.*, 2007), devendo ser ainda maior em pacientes veterinários, em que a diálise não está disseminada na rotina clínica (Worwag, Langston; 2008). Entre os fatores que contribuem para isso estão o diagnóstico tardio da doença e o caráter progressivo da afecção. O diagnóstico precoce pode ser ainda mais importante na Medicina Veterinária, devido à escassez de terapias de substituição renal (Seveg, 2018).

Com o intuito de diagnosticar precocemente pacientes com DRC para garantir longevidade, biomarcadores têm sido estudados (De Loor *et al.*, 2013; Ilchyshyn *et al.*, 2019; Palacio *et al.*, 1997; Grauer *et al.*, 1995).

A dimetilarginina simétrica (SDMA) é um biomarcador da taxa de filtração glomerular (TFG) e apresenta alterações em seus valores precocemente em relação à creatinina (Hall *et al.*, 2014; Hall *et al.*, 2016). Recentemente foi inserida nas diretrizes de DRC da IRIS (IRIS, 2023).

A gama glutamil transferase (GGT) é uma enzima localizada nas células em borda em escova do túbulo contorcido proximal e o aumento da sua atividade na urina tem sido relacionado a lesão tubular aguda (Brunker *et al.*, 2009). No presente estudo, serão estudados os valores de atividade da GGT urinária na DRC.

Tendo em vista que o diagnóstico precoce da doença renal permite estabelecer o tratamento, retardando a evolução da doença e conferindo qualidade de vida e longevidade ao paciente, este trabalho tem como objetivo avaliar biomarcadores séricos e urinários em cães com DRC de ocorrência natural.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 SELEÇÃO DOS ANIMAIS, AVALIAÇÃO CLÍNICA E COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

O projeto foi submetido a Comissão de Ética no Uso de Animais da Unopar com o número 001/20.

Quarenta (40) cães foram selecionados para o estudo. Vinte e três (23) cães de ambos os sexos e com idades e raças variadas foram selecionados prospectivamente da população de pacientes atendidos pela Urovet, empresa prestadora de serviços veterinários na área de Nefrologia e Urologia em Londrina/PR. Esses animais apresentavam diagnóstico de DRC e estavam estáveis no momento da coleta das amostras. O diagnóstico e estadiamento da DRC foi baseado na imagem renal pela ultrassonografia, densidade urinária e valores séricos de creatinina. Dezesete (17) cães de tutores voluntários foram classificados como saudáveis. Os critérios para inclusão nesse grupo foram baseados na ausência de alterações clínicas, laboratoriais e nas imagens ultrassonográficas.

Os cães foram avaliados por meio de anamnese e exame físico. Foram coletados dados como o peso, a avaliação de mucosas, a hidratação, a temperatura retal (TR), a auscultação cardiopulmonar e a realização de palpação abdominal. Durante a avaliação clínica, foi realizada a pressão arterial sistólica pelo método Doppler. Foram realizadas cinco aferições, sendo que as leituras que forneceram o valor mais alto e o mais baixo da PAS foram descartadas, sendo o resultado determinado como a média dos três valores restantes.

Após essa avaliação inicial, foram realizadas as coletas de sangue para a realização de hemograma e bioquímicos.

Ultrassonografia abdominal para avaliação do parênquima renal, definição e relação cortico-medular renal, ecogenicidade e tamanho dos rins. Além disso, a ultrassonografia permitiu excluir do estudo pacientes com alterações em outros órgãos abdominais. Durante esse procedimento foi coletada a urina dos animais por cistocentese.

Os achados de imagem ultrassonográfica não foram diagnósticos para uma doença renal específica, mas sim um diagnóstico

morfológico de alterações estruturais do parênquima renal, avaliando-se a superfície renal, a definição e a relação córtico-medular, como também tamanho renal, presença de cistos, urólitos e áreas de infarto. Assim, independente da etiologia desencadeante, animais com alterações de parênquima renal foram classificados como portadores de DRC.

Os cães foram divididos em três grupos: 1) cães saudáveis, não azotêmicos (creatinina $<1,4\text{mg/dL}$) e com densidade urinária $>1,030$ e sem alterações nas imagens ultrassonográficas renais; 2) Pacientes possuindo alteração na imagem ultrassonográfica renal e redução na densidade urinária ($<1,030$), com creatinina $<1,4\text{ mg/dL}$, e; 3) pacientes apresentando alteração na imagem ultrassonográfica renal e redução na densidade urinária ($<1,030$), com creatinina $\geq 1,4\text{mg/dL}$. Não foi levado em conta os valores de SDMA séricos para o estadiamento.

2.2 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

As amostras de sangue e de urina foram enviadas ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (HV-UEL). O hemograma foi realizado no aparelho Pock IV Sysmex, sendo o diferencial leucocitário e a estimativa da contagem de plaquetas realizados em lâmina. As análises bioquímicas (soro) de concentração de creatinina, uréia, cálcio, fósforo, magnésio, glicose, lactato, colesterol, triglicerídeos, proteínas totais (PT) e albumina, como também a atividade de fosfatase alcalina (FA), alanina amino transferase (ALT), aspartato amino transferase (AST) e gama glutamil transferase (GGT) foram realizadas no aparelho Dimension Clinical Chemistry System Siemens. A concentração dos eletrólitos sódio (Na^+), potássio (K^+), cloreto (Cl^-) e cálcio ionizado (iCa) foram realizadas no Rapid Point 500 Siemens.

A concentração de SDMA foi determinada usando um imuno ensaio de alto rendimento disponível comercialmente (Teste SDMA- IDEXX) realizada em o Analisador Bioquímico Catalyst One (IDEXX).

A urina foi avaliada por meio de exame físico, químico (tiras reagentes) e sedimentoscopia por microscopia óptica. No sobrenadante urinário foi mensurada a concentração de creatinina, proteína e a atividade da GGT no

analisador bioquímico automatizado Dimension Clinical Chemistry System, Siemens.

Para a avaliação bioquímica da urina, com vistas a reduzir o efeito da densidade urinária, a atividade da GGT urinária foi corrigida pela densidade (GGTd) conforme Schepper *et al.* (1989) e pela concentração de creatinina urinária (UGC) (Uechi *et al.*, 1994). A concentração de proteínas urinárias foi corrigida pela concentração de creatinina urinária (UPC) (IRIS, 2023).

2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para avaliar a normalidade das variáveis, foi utilizado o teste de Shapiro Wilk. A comparação entre os grupos foi avaliada por meio de análise de variância unifatorial. Em caso de diferença entre os grupos, a comparação entre as médias foi realizada por meio do teste de Tukey. Para variáveis sem distribuição Gaussiana foi realizada análise de variância “on ranks” e comparação entre medianas por meio do teste Dunn, considerando uma probabilidade de erro de 0,05.

3 RESULTADOS

Os valores médios de hemácias, de hemoglobina e de volume globular foram maiores no grupo 1. Os valores de uréia e fósforo acompanharam as alterações da creatinina, sendo mais elevados no grupo 3. Estão compilados no Apêndice 1 do artigo os valores de média e desvio-padrão das variáveis hematológicas e bioquímicas das amostras de sangue de cães distribuídos nos diferentes grupos.

Como pode-se observar na Tabela 1, não houve diferença entre os valores de SDMA dos animais pertencentes aos grupos 1 e 2, sendo que estes diferiram em relação ao grupo 3. A Figura 1 mostra os valores de SDMA dos animais dos diferentes grupos. A IRIS (2023) e o algoritmo da IDEXX consideram como normal valores até 14 µg/dL; valores entre 15-18 µg/dL são considerados aumentos leves que devem ser investigados quanto a outros sinais

de DRC e, a partir de 18 µg/dL classificam o paciente como estágio II da DRC e aumentos subsequentes para os demais estádios.

Tabela 1: Valores de média e desvio padrão das variáveis séricas: ureia, creatinina e SDMA e do pH urinário; e valores de mediana e percentis (P25 e P75) da GGT urinária corrigida pela densidade urinária (GGTd), da relação GGT: creatinina urinárias (uGGT/creatinina) e da relação proteína: creatinina urinárias (UPC) das amostras de cães distribuídos nos grupos 1, 2 e 3.

Parâmetro	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	P
Ureia (mg/dL)	39,16 ^b ± 14,0	49,40 ^b ± 21,30	234,77 ^a ± 148,5	<0,001
Creatinina (mg/dL)	0,99 ^b ± 0,23	1,14 ^b ± 0,26	5,49 ^a ± 3,04	<0,001
SDMA	10,0 ^b ± 5,56	20,1 ^b ± 22,90	43,0 ^a ± 27,82	<0,001
pH urinário	7,105 ^a ± 1,185	6,35 ^{a,b} ± 1,334	5,731 ^b ± 0,525	0,004
UPC	0,120 ^b	0,25 ^{a,b}	1,43 ^a	<0,001
	0,097 – 0,270	0,108 – 2,87	0,76 – 3,68	
GGTd	36,25 ^a	32,81 ^a	43,75 ^a	0,190
	22,87- 43,75	24,22 – 67,03	34,52 – 61,98	
uGGT/creatinina	0,125 ^b	0,346 ^a	0,500 ^a	0,005
	0,101 – 0,270	0,195 – 0,726	0,311- 0,696	

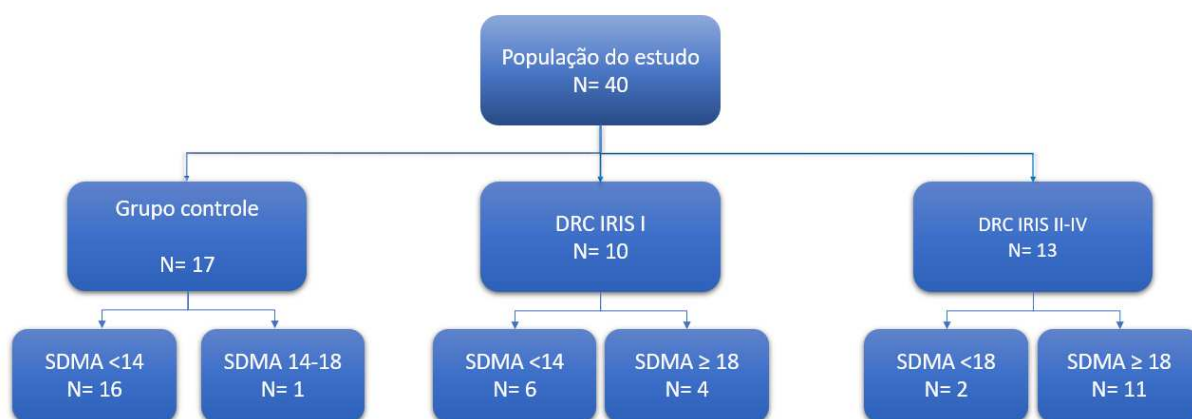
Fonte: Do próprio autor

GGTd: GGT urinária corrigida pela densidade urinária (Schepper et al., 1989)

UGC: GGT urinária corrigida pela creatinina urinária (Uechi, Terui, Nakayama *et al.*, 1994)

UPC: Proteína urinária corrigida pela creatinina urinária (IRIS, 2023)

Figura 1: Diagrama de fluxo dos valores da variável SDMA ($\mu\text{g/dL}$) das amostras de sangue de cães distribuídos nos seguintes grupos: Controle; DRC IRIS I e DRC IRIS II-IV.



Na Tabela 1 pode-se observar que os valores de média do UPC do grupo 3 diferem do grupo 1.

Ao utilizar a GGT urinária corrigida pela densidade urinária não houve diferença estatística entre os grupos. Mas ao se utilizar a relação GGT: creatinina urinárias (uGGT/creatinina) houve diferença estatística entre o grupo 1 em relação aos grupos 2 e 3.

4 DISCUSSÃO

Atualmente as diretrizes da IRIS sustentam o uso de SDMA como um teste de triagem para detecção precoce de DRC, realizado em conjunto com a creatinina sérica, urinálise, UPC e exames de imagem. Ao se utilizar a SDMA como biomarcador precoce, esperava-se diferença estatística entre os grupos 1 e 2. A razão pela qual a DRC neste estágio não influenciou os níveis séricos de SDMA é obscura. Uma hipótese para isso é que mesmo apresentando alterações na estrutura renal pela ultrassonografia e na densidade urinária,

esses pacientes não tiveram uma redução acima de 49% da TFG, como foi demonstrado no estudo de Hall e colaboradores (2016).

Neste mesmo estudo (Hall *et al.*, 2016), acompanhando beagles com DRC de ocorrência natural, a SDMA sérica aumentou, em média, 9,8 meses antes que os valores séricos de creatinina se elevassem.

Em um estudo realizado por Nabity e colaboradores (2015) com oito cães machos afetados com nefropatia hereditária ligada ao cromossomo X, os valores séricos de SDMA aumentaram, em média, 4,8 semanas antes da creatinina. Isso evidencia que a etiologia da DRC interfere na progressão da doença e no curto espaço de tempo entre o aumento de SDMA e de creatinina.

Os estudos acima citados (Hall *et al.*, 2016 e Nabity *et al.*, 2015) acompanharam as dosagens séricas de SDMA seriadas, retrospectiva e/ou prospectivamente nos animais, detectando dessa forma a precocidade. No presente estudo, os animais não foram acompanhados, mas sim estadiados por outros meios e a comparação foi entre os grupos, não evidenciando essa precocidade, sendo que seis pacientes classificados no grupo 2 pela imagem ultrassonográfica e baixa densidade urinária apresentavam valores de SDMA <14µg/dL, valor considerado dentro da referência para a espécie (IRIS, 2023).

Esse delineamento do presente estudo corresponde a forma de estadiamento na rotina, visto que após cada atendimento o paciente deve ser estadiado e subestadiado para a DRC.

Estudos investigam as concentrações de SDMA associado a linfoma (Coyne *et al.*, 2022), pancreatite aguda (Gori *et al.*, 2020), leishmaniose (Gultekin *et al.*, 2023), medicações como telmisartana e enalapril (Nasr *et al.*, 2024) e cães idosos (Marynissen *et al.*, 2024).

Wun, Broughton-Neiswanger e Villarino (2024) estudaram a precocidade do SDMA em relação a creatinina em lesão renal induzida por meloxicam em gatos e, ambos os marcadores foram igualmente efetivos na detecção da perda da TFG.

Para Peich e Wycislo (2019) o pH urinário reflete o estado ácido base de um paciente. Nesse contexto, a acidúria indica aumento da secreção renal de íons hidrogênio, podendo ter como causas acidose metabólica, terapia com furosemida e acidose tubular aguda. Dessa forma, a possível causa da acidúria nos pacientes IRIS II-IV é a acidose metabólica associada a DRC, visto

que essa condição reduz a capacidade tubular de excreção de íons hidrogênio e a conservação de bicarbonato.

Para Grauer (2007), a proteinúria é uma alteração comum em cães que pode indicar a presença de DRC antes do início da azotemia ou a presença de DRC mais grave após o início da azotemia. Dessa forma, a proteinúria de origem renal tem sido utilizada como indicador de doença renal precoce em cães, particularmente de doenças que envolvem o glomérulo. A relação proteína: creatinina urinárias (UPC) é utilizada para corrigir o efeito volume de urina (Grauer, 2005). A UPC maior que 0,2 é considerado anormal em cães (IRIS,2023) e deve ser investigada.

A gama glutamil transferase (GGT) é uma glicoproteína com peso molecular de aproximadamente 90KDa, não sendo capaz de ultrapassar a barreira glomerular íntegra (de Carvalho *et al.*, 2011; Clemo, 1998).

Ford (1974), em seu estudo com ovelhas, comparou as atividades de GGT sérica após lesões experimentais. Foi possível demonstrar, nessa espécie, que a GGT sérica não sofreu interferências de lesões renais. O estudo não abordou se a GGT sérica ultrapassa glomérulo lesionado.

Na revisão de literatura, os autores do presente estudo não encontraram artigos que estudassem especificamente a GGT sérica e urinária na lesão glomerular, da mesma forma que ocorre com proteínas e albumina. No entanto, ao extrapolar o comportamento de proteínas de alto peso molecular, considerando que a GGT é uma proteína, esta ultrapassaria o glomérulo lesionado (De Loor *et al.*, 2013).

No atual estudo, foram utilizados a uGGT/creatinina como também a GGTD para corrigir o efeito da densidade urinária sobre a atividade da GGT, sendo que a uGGT/creatinina se mostrou um marcador precoce de DRC (Tabela 1), já que apresentou diferença estatística nas medianas dos grupos 1 e 2.

Pode-se notar pelos valores da Tabela 1, que a uGGT/creatinina apresentou maior precocidade em relação ao UPC, já que este parâmetro não apresentou diferença estatística entre os grupos 1 e 2, apesar do valor da mediana no grupo 2 ser superior ao valor de referência considerado pela IRIS (2023).

Trabalhos mostram que a atividade da GGT urinária sofre interferência do pH urinário (Ilchyshyn *et al.*; 2019; Brunker *et al.*, 2009), sendo preservada quando o pH se encontrava na faixa de 6,5-8,0 e reduzida de forma significativa (80-100%) quando pH se encontrava <5,0 ou >8,5 (Ilchyshyn *et al.*; 2019). Dessa forma, a UGC do grupo IRIS II-IV pode estar subestimada pelos valores de pH.

Hipóteses para aumentar a uGGT/creatinina com o avançar da DRC: 1) doença progressiva, na qual, há lesão tubular constante e/ou 2) a GGT sérica ultrapassa a barreira glomerular quando esta não está intacta. São necessários estudos adicionais para determinar se o aumento dessa enzima na urina é devido a defeito na filtração glomerular e/ou na reabsorção tubular e/ou na lesão tubular.

Este estudo apresentou limitações como a dificuldade de encontrar pacientes DRC sem sinais de agudização, como também a dificuldade de selecionar cães classificados no grupo 2, pois muitas vezes o tutor desta classe ainda não busca por atendimento, já que os sinais podem ser pouco expressivos no início da doença e os pacientes foram escolhidos de um serviço de atendimento de rotina.

5 CONCLUSÃO

Ao se analisar os biomarcadores séricos e urinários em cães com DRC de ocorrência natural, concluiu-se que a SDMA não se mostrou um biomarcador precoce. Por sua vez, a uGGT/creatinina se mostrou eficaz na identificação precoce da DRC em cães não azotêmicos.

APÊNDICE 1

Valores de média e desvio-padrão das variáveis hematológicas e bioquímicas de cães distribuídos nos grupos: Controle; DRC IRIS I e DRC IRIS II-IV.

Parâmetro	Grupo controle	DRC IRIS I	DRC IRIS II-IV	P
N	17	10	13	
Hemácias (x10 ⁶ /mm ³)	7,41 ^a ± 0,69	5,78 ^b ± 1,65	5,38 ^b ± 1,79	<0,001
Hemoglobina (g/dL)	16,8 ^a ± 1,83	13,2 ^b ± 4,40	12,2 ^b ± 4,21	<0,001
VG (%)	48,8 ^a ± 4,98	38,2 ^b ± 12,5	35,2 ^b ± 12,0	<0,001
VGM (fL)	65,9 ^a ± 2,59	65,3 ^a ± 5,13	65,3 ^a ± 4,00	0,889
HGM (pg)	22,7 ^a ± 1,12	22,5 ^a ± 2,07	22,6 ^a ± 1,37	0,921
CHGM(g/dL)	34,5 ^a ± 1,02	34,5 ^a ± 1,34	34,6 ^a ± 1,31	0,954
RDW CV(%)	13,6 ^a ± 1,78	14,5 ^a ± 2,97	13,45 ^a ± 1,75	0,473
Leucócitos (x10 ³ /mm ³)	10,39 ^a ± 3,49	10,74 ^a ± 4,89	10,38 ^a ± 6,01	0,979
Neutrófilos segmentados (x10 ³ /mm ³)	6,86 ^a ± 2,89	8,10 ^a ± 4,88	8,12 ^a ± 5,45	0,647
Linfócitos (x10 ³ /mm ³)	2,73 ^a ± 0,89	1,63 ^b ± 0,76	1,75 ^b ± 0,73	< 0,005
Ureia (mg/dL)	39,16 ^b ± 14,0	49,40 ^b ± 21,30	234,77 ^a ± 148,5	<0,001
Creatinina (mg/dL)	0,99 ^b ± 0,23	1,14 ^b ± 0,26	5,49 ^a ± 3,04	<0,001
Cálcio (mg/dL)	9,9 ^{a,b} ± 0,52	8,6 ^b ± 2,19	10,3 ^a ± 1,7	0,028
Cálcio ionizado (mg/dL)	4,98 ^a ± 0,16	4,78 ^{a,b} ± 0,36	4,55 ^b ± 0,74	0,047
Fósforo (mg/dL)	3,62 ^b ± 0,84	4,55 ^b ± 1,77	11,6 ^a ± 10,25	0,001
FA (U/L)	58,26 ^a ± 67,87	151,3 ^a ± 340,82	109,23 ^a ± 171,03	0,461
ALT (U/L)	53,16 ^a ± 39,48	50,10 ^a ± 24,59	106,00 ^a ± 155,06	0,218
AST (U/L)	28,14 ^a ± 9,02	32,9 ^a ± 17,58	27,31 ^a ± 15,11	0,571
GGT (U/L)	10,28 ^b ± 1,66	10,50 ^{a,b} ± 3,34	12,69 ^a ± 3,04	0,034
Proteínas totais (g/dL)	6,86 ^a ± 0,77	6,82 ^a ± 1,33	7,26 ^a ± 1,84	0,638
Albumina (g/dL)	3,3 ^a ± 0,78	2,78 ^{a,b} ± 0,86	2,58 ^b ± 0,19	0,034

Colesterol(mg/dL)	216,74 ^b ±53,31	224,40 ^{a,b} ±67,95	288,92 ^a ±78,07	0,010
Triglicerídeos (mg/dL)	86,9 ^a ± 63,34	148,6 ^a ±163,65	75,62 ^a ± 29,02	0,139
Glicose (mg/dL)	100,90 ^a ±13,99	97,40 ^a ±14,95	107,83 ^a ± 32,06	0,491
Sódio (mmol/L)	144,9 ^a ± 2,2	146,4 ^a ± 2,4	146,8 ^a ± 3,4	0,141
Potássio (mmol/L)	4,24 ^b ± 0,41	4,7 ^{a,b} ± 0,58	5,22 ^a ± 0,74	<0,001
Clóretos (mmol/L)	113,9 ^a ± 1,82	115,6 ^a ± 3,50	115,3 ^a ± 5,71	0,445
Lactato (mmol/L)	3,1 ^a ± 1,37	2,5 ^a ± 1,56	3,02 ^a ± 1,69	0,609
SDMA	10,0 ^b ± 5,56	20,1 ^b ± 22,90	43,0 ^a ± 27,82	<0,001

Fonte: Do próprio autor

REFERÊNCIAS

- BROW, C. A.; ELLIOT, J.; SCHMIEDT, C.W.; BROWN, S.A. Chronic Kidney Disease in Aged Cats: Clinical Features, Morphology, and Proposed Pathogeneses. **Veterinary Pathology**. V. 53, N. 2, p. 309-326, 2016.
- BRUNKER, J.D.; PONZIO, N.M.; PAYTON, M.E. Indices of urine N-acetyl- β -D-glucosaminidase and γ -glutamyl transpeptidase activities in clinically normal adult dogs. **American Journal of Veterinary Research**. V. 70, n. 2, p. 297-301, fev. 2009.
- CLEMO, F.A. S. Urinary enzyme evaluation of nephrotoxicity in the dog. **Toxicologic Pathology**, v.26, n. 1, p. 29-32, jan-fev. 1998.
- DE CARVALHO, J.A.M.; PIVA, S.J.; HAUSEN, B.S.; BOCHI, G.V.; KAEFER, M.; COELHO, A.C.; DUARTE, M.M.M.F.; MORESCO, R.N. Assessment of urinary γ -glutamyltransferase and alkaline phosphatase for diagnosis of diabetic nephropathy. **Clinica Chimica Acta**. v. 412, n.15-16, p. 1407-1411, jul 2011.
- COYNE, M.J.; DRAKE, C.; McCRANN, D.J.; KINCAIDE, D. The association between symmetric dimethylarginine concentrations and various neoplasms in dogs and cats. **Veterinary and comparative oncology**. V. 20, N.4, p. 846-853, 2022.
- DE LOOR, J.; DAMINET, S., SMETS, P.; MADDENS, B.; MEYER, E. Urinary Biomarkers for Acute Kidney Injury in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V.27, p. 998-1010, 2013.
- FETTMAN, M.J.; REBAR, A. Avaliação Laboratorial da Função Renal. In: THRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª edição. ROCA, 2007, p.285-310.
- FORD, E.J.H. Activity of gamma-glutamyl transpeptidase and other enzymes in the serum of sheep with liver or kidney damage. **Journal of Comparative Pathology**. V. 84, n.2, p. 231-243, abr.1974.
- GORI, E.; PIERINE, A.; LIPPI, I.; MEUCCI, V.; PERONDI, F.; MARCHETTI, V. Evaluation of Symmetric Dimethylarginine (SDMA) in Dogs with Acute Pancreatitis. **Veterinary Sciences**. V. 7, N. 2, p. 72-80, 2020.

GRAUER, G.F.; GRECO, D.S.; BEHREND, E.N.; MANI, I.; FETTMAN, M.J.; ALLEN, T.A. Estimation of Quantitative Enzymuria in Dogs With Gentamicin-Induced Nephrotoxicosis Using Urine Enzyme/Creatinine Ratios - From Spot Urine Samples. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Vol. 9, n. 5, p. 324-327, set-out, 1995.

GRAUER, G.F. Measurement, Interpretation, and Implications of Proteinuria and Albuminuria. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V. 37, p. 283-295, 2007.

GRAUER, G.F. Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V.35, p.581-596, 2005.

GULTEKIN, G.; PASA, S.; URAL, K.; ERDOGAN, H.; GONULVEREN, G.; GULTEKIN, M. Arginine, symmetric and asymmetric dimethylarginine levels in canine leishmaniasis. **Microbial Pathogenesis**. V. 178, 2023.

HALL, J.A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; JEWELL, D.E. Comparison of sérum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V. 28, p. 1676-1683, 2014.

HALL, J.A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; MELENDEZ, L.D.; JEWELL, D.E. Relationship between lean body mass and sérum renal biomarkers in healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V. 29, p. 808-814, 2015.

HALL, J.A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; ALMES, K.; JEWEL, D.E. Serum Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine in Dogs with Naturally Occurring Chronic Kidney Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V. 30, n.1, p. 794-802, 2016.

ILCHYSHYN, N.P.; VILLIERS, E.; MONTI, P. Validation of a spectrophotometric method for GGT measurement in canine urine and determination of the urine GGT-to-creatinine ratio reference interval and biological variation in 41 healthy dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. V. 31, n.1, p. 33-39, jan 2019.

IRIS Guidelines 2023- IRIS Staging CKD. Disponível em <https://iris-kidney.com/guidelines/staging.html>. Acesso em: 24 mar 2024.

MARYNISSEN, S.; JUNIUS, G.; den STEEN, E.V.; PATTEET, L.; DUCHATEAU, L.; CROUBELS, S.; DAMINET, S.; PAEPE, D. Serum symmetric dimethylarginine in older dogs: Reference interval and comparison of a gold standard method with the ELISA. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V. 38, n.2, p. 960-970, 2024.

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

NABITY, M.B.; LEESS, G.E.; BOGGEESS, M.M.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; RAKITIN, A.; AGUIRAR, J.; RELFORD, R. Symmetric Dimethylarginine Assay Validation, Stability, and Evaluation as a Marker for the Early Detection of Chronic Kidney Disease in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V. 29, n.1, p.1036–1044, 2015.

NASR, A.; LOURENÇO, B.N.; COLEMAN, A.E.; BARTGES, J.W. Serum symmetric dimethylarginine concentrations in enalapril- or telmisartan-treated dogs with proteinuric chronic kidney disease. **Frontiers in Veterinary Science**. p 1-11, 2024.

NOTOMI, M.K.; KOGIKA, M.M.; IKESAKI, J.Y.H.; MONTEIRO, P.R.G.; MARQUESI, M.L. Estudo retrospectivo de casos de insuficiência renal crônica em cães no período de 1999 a 2002. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 43, p.12-22, 2006.

O'NEIL, D.G.; ELLIOT, J.; CHURCH, D.B.; MCGREEVY, P.D.; THOMSON, P.C.; BRODBELT, D.C. Chronic Kidney Disease in Dogs in UK Veterinary Practices: Prevalence, Risk Factors, and Survival. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V. 27, n.1, p. 814-821, 2013.

PALACIO, J.; LISTE, F.; GASCON, M. Enzymuria as an index of renal damage in canine leishmaniasis. **Veterinary Record**. V. 140, p. 477-480, 1997.

PIECH, T.L.; WYCISLO, K.L. Importance of Urinalysis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V.49, n.2, p. 233-245, 2019.

POLZIN, D. Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. V. 23, n.2, p. 205-215, 2013.

PRESSLER, B. Clinical approach to advanced renal function testing in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V.43, n.6 p. 1193-1208, 2013.

ROURA, X. **Risk factors in dogs and cats for development of chronic kidney disease**. IRIS- International Renal Interest Society. **2019**. Disponível em: [IRIS Kidney - Education – Risk factors \(iris-kidney.com\)](https://iris-kidney.com). Acesso em: 20 fev 2024

SHAH, N.A.; LERMA, E.V. Novel Biomarkers of Renal Function Introduction and Overview. **Medscape**. 2017. Disponível em <https://emedicine.medscape.com/article/1925619-overview>. Acesso em [16/01/19](https://emedicine.medscape.com/article/1925619-overview).

WUN, M.; BROUGHTON-NEISWANGER, L.E.; VILLARINO, N.F. Comparison of serum SDMA and creatinine as a biomarker for the detection of meloxicam-induced kidney injury in cats. dogs with proteinuric chronic kidney disease. **Frontiers in Veterinary Science**. V.11, p.1-8, 2024.

YU, L.; ABENSUR, H.; BARROS, E.J.G.; HOMSI, E.; BURDMANN, E.A.; CENDOROGLO NETO, M.; YOUNES-IBRAHIM, M.; SANTOS, O.P. Insuficiência renal aguda: diretriz da Sociedade Brasileira de Nefrologia. 2007. Disponível em: https://sbn.org.br/app/uploads/Diretrizes_Insuficiencia_Renal_Aguda.pdf. Acesso: janeiro, 2019.

Artigo B- Avaliação dos efeitos do tempo, do armazenamento e do anticoagulante nas amostras de hemogasometria venosa em cães

RESUMO

Com os avanços da Medicina Veterinária, em particular na Medicina Veterinária Intensivista, a hemogasometria é um exame laboratorial que está crescendo na rotina e devido aos equipamentos *point-of-care* está cada vez mais acessível e disponível na rotina clínica. A fase pré-analítica dos exames alberga a maior parte dos erros, perdendo para as fases analítica e pós-analítica. Com o objetivo de analisar os efeitos do tempo, do armazenamento e do anticoagulante em amostras de sangue venoso de cães destinadas a gasometria, foram colhidas quatro amostras de sangue das veias jugulares de 30 animais. Em duas amostras foram utilizadas a seringa comercial de gasometria BD 3mL (Linha BD-A-Line®) com agulha de calibre 25x7 e as outras duas foram colhidas com seringa convencional de 3mL (BD®), com 200UI de heparina sódica, preparada pelo clínico, com agulha 25x7. Quaisquer bolhas de ar foram eliminadas das amostras e foram vedadas para preservar o ambiente anaeróbico. Após a primeira análise (até 20 minutos -T0), uma amostra da seringa contendo heparina de lítio (HL) era armazenada em banho de água gelada (0-4°C) e a outra em geladeira (2-8°C), o mesmo procedimento acontecia com a seringa convencional com heparina sódica (HS). Análises subsequentes foram realizadas nos tempos: 30 (T30), 120 (T120), 240 (T240) e 360 (T360) minutos após a primeira análise. Verificou-se efeitos significativos do tempo sobre o conjunto de variáveis, com exceção dos cloretos. O tempo levou a reduções nos valores de bicarbonato e BE. O armazenamento em água gelada mostrou retardo das alterações *in vitro*. Ao utilizar a heparina sódica líquida ocorreu redução nas concentrações de potássio (K⁺) e cálcio ionizado (iCa). Conclui-se, portanto, que o exame gasométrico de sangue venoso de cães deve ser analisado imediatamente após sua coleta e, caso seja necessário refrigeração, as amostras devem ser mantidas em água gelada.

Palavras-chave: heparina lítica, heparina sódica, análise de gases sanguíneos, temperatura

Article B - Evaluation of the Effects of Time, Storage, and Anticoagulant on Venous Blood Gas Samples in Dogs

ABSTRACT

With the advancements in Veterinary Medicine, particularly in Intensive Care Veterinary Medicine, blood gas analysis is a laboratory test that is becoming more common in routine practice, and thanks to point-of-care devices, it is increasingly accessible and available in clinical settings. The pre-analytical phase of laboratory tests accounts for most errors, surpassing the analytical and post-analytical phases. To analyze the effects of time, storage, and anticoagulant on venous blood samples from dogs intended for blood gas analysis, four blood samples were collected from the jugular veins of each of the 30 animals included in the study. Two samples were drawn using the BD 3mL commercial blood gas syringe (BD-A-Line®) with a 25x7 gauge needle, and the other two were collected with a conventional 3mL syringe (BD®), prepared by the clinician with sodium heparin, using a 25x7 gauge needle. Any air bubbles were removed from the samples, which were then sealed to preserve the anaerobic environment. After the first analysis (up to 20 minutes - T₀), one sample from the syringe containing lithium heparin (LH) was stored in an ice water bath (0-4°C), and the other was refrigerated; the same procedure was followed for the conventional syringe with sodium heparin (SH). Subsequent analyses were performed at 30 (T₃₀), 120 (T₁₂₀), 240 (T₂₄₀), and 360 (T₃₆₀) minutes after the initial analysis. Except for chloride levels, time effects influenced the values of the variables, causing changes in bicarbonate and base excess (BE) values. Storage in chilled water delayed the in vitro alterations. Using liquid sodium heparin led to variation in the concentrations of potassium (K⁺) and ionized calcium (iCa).

Keywords: lithium heparin, sodium heparin, Blood gas analysis, temperature

1 INTRODUÇÃO

A hemogasometria é um exame indicado em pacientes críticos ou em animais com suspeita de distúrbios ácido-base. O exame mensura eletrólitos e parâmetros como: potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de dióxido de carbono ($p\text{CO}_2$) e pressão parcial de oxigênio ($p\text{O}_2$) e complementa-se por um número variável de valores calculados (Bailey, Pablo; 1998).

Exames bem solicitados e executados podem ajudar o clínico, da mesma forma, seu uso e/ou execução inapropriados podem trazer prejuízos ao paciente. Dessa forma, faz-se necessário compreender as diferentes fases das análises laboratoriais para minimizar seus efeitos indesejáveis sobre os resultados e considerá-los na interpretação do exame.

Este estudo tem o objetivo avaliar os efeitos do anticoagulante, do tempo até a análise e da forma de armazenamento nos valores da gasometria venosa em cães, possibilitando entender a influência desses fatores nos resultados, minimizando os erros da fase pré-analítica e da pós-analítica referente à interpretação dos resultados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 SELEÇÃO DOS ANIMAIS

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Unopar sob o número 07/23.

Os animais eram de tutores voluntários, de qualquer raça, sexo e idade, podendo ser saudáveis ou apresentar doença sistêmica, já que seriam analisados fatores pré-analíticos. Pacientes com anemia moderada a grave (Volume Globular (VG) <20%), com baixo peso (<3kg), em choque e/ou hipotensão foram excluídos devido ao volume de sangue necessário.

2.2 COLETA DE MATERIAL

Foram colhidas quatro amostras de sangue venoso das veias jugulares de cada um dos 30 animais pertencentes ao estudo. Cada amostra foi coletada até a marcação de 1,6mL, sendo duas amostras com a seringa comercial de gasometria BD 3mL (Linha BD-A-Line®) com agulha de calibre 25x7, a qual contém 80UI de heparina de lítio, jateada com spray seco e balanceada com cálcio. Outras duas amostras foram colhidas com seringa convencional de 3mL (BD®), com aproximadamente 200UI de heparina sódica (Hepamax-S ®) com o seguinte preparo: introduzido 0,5mL de heparina na seringa, puxado o êmbolo até a marcação de 3mL para que o anticoagulante tivesse contato com toda a superfície da seringa, descartado todo o material da seringa; dessa forma, restava heparina residual apenas no centro da agulha de calibre 25x7.

Quaisquer bolhas de ar foram eliminadas das amostras, imediatamente após a coleta. Nas seringas de gasometria Linha BD-A-Line®, as agulhas foram removidas e foram colocados um tampão de seringa (BD Hemogard®) sobre a ponta da seringa. Nas seringas convencionais, as agulhas foram ocluídas colocando uma rolha de borracha nas agulhas.

A temperatura dos cães era imediatamente aferida com termômetro, por via intra-retal e anotada, juntamente com os dados de identificação do animal.

2.3 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Após as coletas, as amostras de sangue foram colocadas em um isopor seco e limpo e foram enviadas ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (HV-UEL) e analisadas em até 20 minutos (T0) da coleta no Rapid Point 500 Siemens, que atende às recomendações de padrões de controle de qualidade recomendados. A concentração de bicarbonato (HCO_3^-) e de excesso de bases (BE) foram calculadas e corrigidas com a temperatura do animal.

Após a primeira análise (T0), uma amostra da seringa comercial contendo heparina de lítio (HL) era armazenada em banho de água gelada (0-4°C) e a outra em geladeira (2-8°C), o mesmo procedimento acontecia com a seringa convencional com heparina sódica (HS). O banho de água gelada consiste em colocar as amostras com água e gelo reciclável em um isopor (Figura 1), o gelo foi trocado a cada 60 minutos, garantindo que a temperatura ficasse entre 0 e 4°C. Análises subsequentes foram realizadas nos tempos: 30 (T30), 120 (T120), 240 (T240) e 360 (T360) minutos após a primeira análise.

Figura 1: Demonstração do armazenamento da amostra de sangue venoso de cães em água gelada.



2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados por meio de estatística descritiva pelo programa Jamovi e foram procedidos os testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e de homogeneidade de variâncias (Levene). As comparações entre os tratamentos foram realizadas por meio de análise de variância de medidas repetidas ao longo do tempo (0, 30, 120, 240 e 360 minutos) considerando o armazenamento (água gelada/geladeira) e o anticoagulante (heparina sódica – HS e heparina lítica -HL) bem como a interação entre os fatores. A comparação de médias foi realizada por meio do teste de Tukey, considerando uma probabilidade de erro de 0,05. Os dados estão apresentados em valores de média e desvio padrão.

3 RESULTADOS

Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 1, 2 e 3 mostrando o comportamento das variáveis nos momentos estudados. Na Tabela 1 estão compiladas as variáveis que sofreram interferência do armazenamento, na Tabela 2 as que sofreram interferência do tipo de anticoagulante e na Tabela 3 o comportamento das variáveis que não tiveram interferência do armazenamento ou anticoagulante.

A variável pH apresentou diferença ($p < 0,001$) nos diferentes momentos estudados, independente do armazenamento da amostra e do tipo de anticoagulante utilizado. Apesar da interação entre tempo x armazenamento ser significativa ($p < 0,001$), ao comparar as duas formas de armazenamento no mesmo momento não houve diferença (Tabela 1).

Em relação ao tempo, a variável pCO_2 (pressão parcial de dióxido de carbono) apresentou aumento nos valores médios ($p < 0,001$). Pode-se observar na Tabela 1 que esse aumento iniciou no T240. Esta variável também apresentou interação tempo x armazenamento significativa ($p = 0,020$). No entanto essas diferenças não existiram quando considerados cada tempo, entre si.

A variável pO_2 (pressão parcial de oxigênio) aumentou consideravelmente ao longo do tempo ($p < 0,001$). A média variou de $44 \pm 20,5$ mmHg no T0 até $73,5 \pm 44,1$ mmHg no T360 (Tabela 3), independente do armazenamento ($p = 0,942$) ou do anticoagulante ($p = 0,865$).

O valor médio do bicarbonato (HCO_3^-) apresentou redução estatística ao longo do tempo ($p < 0,001$), assim como na interação do tempo com o anticoagulante ($p = 0,003$) e com o armazenamento ($p < 0,001$) (Tabela 1 e Tabela 2).

A variável BE (excesso de base) apresentou redução ($p < 0,001$) de suas médias ao longo do tempo (Tabela 3).

As médias do sódio (Na^+) diferiram ($p < 0,001$) ao longo do tempo, independente do anticoagulante ou do armazenamento utilizados (Tabela 3).

Os valores médios da concentração de potássio (K^+) apresentaram diferença ao longo do tempo ($p < 0,001$), bem como ocorreu diferença no efeito do anticoagulante utilizado ($p = 0,038$) (Tabela 2).

A concentração de cloretos (Cl^-) foi a única variável que não apresentou diferença estatística em relação ao tempo ($p=0,092$), anticoagulante ($p=0,37$) e armazenamento ($p=0,48$), ou na interação entre eles (Tabela 3).

Em relação as médias da concentração de cálcio ionizado (iCa), houve variação ao longo do tempo ($p<0,001$), e interação dos efeitos tempo x armazenamento ($p<0,001$) e tempo x anticoagulante ($p=0,003$) (Tabelas 1 e 2).

As médias da variável *Anion Gap* (AG) apresentaram diferenças quanto ao efeito tempo ($p<0,001$) e à interação dos efeitos tempo x anticoagulante ($p=0,035$) (Tabela 2).

A variável mOsm (osmolalidade) oscilou ao longo do tempo ($p<0,001$), reduzindo no T120 e aumentando novamente nos tempos T240 e T360. Não houve diferença quando considerado a interação dos efeitos tempo x armazenamento ($p= 0,373$), tempo x anticoagulante ($p= 0,565$) ou a interação entre os três ($p= 0,334$).

Em relação às médias de lactato, os valores aumentaram estatisticamente considerando efeito tempo ($p<0,001$) e a interação dos efeitos tempo e armazenamento ($p<0,001$) (Tabela 1).

A média da concentração de glicose reduziu ao longo do tempo ($p<0,001$), com interação significativa dos efeitos tempo x armazenamento ($p<0,001$) e tempo x anticoagulante ($p=0,024$) (Tabelas 1 e 2).

4 DISCUSSÃO

A variação dos valores de pH sanguíneo maior do que 0,015, é considerada acima dos limites aceitáveis apontados por Haskins (1977). Tal alteração ocorreu em cada momento estudado, para as amostras conservadas em geladeira; enquanto, ao armazenar em água gelada, a diferença iniciou a partir do T120 até o T360. Como os valores fisiológicos do pH têm uma estreita variação, com o intervalo de referência para sangue venoso em cães entre 7,351 e 7,443 (DiBartola, 2012a), qualquer alteração ao longo tempo e decorrente do armazenamento ocasionados nesta variável poderá ser refletido na interpretação clínica.

Segundo Haskins (1977), a variação da $p\text{CO}_2$ e da $p\text{O}_2$ não deve ser maior que 3 e 5 mmHg, respectivamente. Independente da forma de armazenamento, os valores de $p\text{CO}_2$ sofreram aumento acima do limite aceitável a partir do T240. Já os valores médios de $p\text{O}_2$ elevaram-se continuamente em todos os momentos estudados.

Diferente do estudo de Harsten e colaboradores (1988) com amostras de sangue arterial coletadas em heparina sódica e armazenadas em água gelada por 60 minutos, no qual apenas os valores de pH sanguíneo alteraram-se, o presente estudo, com sangue venoso, as variações na $p\text{O}_2$ foram mais evidentes.

Knowles e colaboradores (2006) relacionaram o aumento da $p\text{O}_2$ com a interação dos efeitos tempo e material plástico da seringa, como a redução da $p\text{CO}_2$ com a interação dos efeitos tempo e material vidro. No presente estudo, todas as amostras foram coletadas em seringas plásticas e observaram-se alterações semelhantes nas duas variáveis ao longo do tempo.

Caso o aumento da $p\text{O}_2$ fosse atribuído à exposição da amostra ao ar atmosférico, considerando a seringa semipermeável, deveria ocorrer uma redução da $p\text{CO}_2$, o que não foi encontrado nesse estudo (Pruden *et al.*, 1996).

Como foi observado neste estudo, uma possibilidade para o aumento da $p\text{CO}_2$, acompanhada da redução do pH, diminuição da glicose e aumento do lactato é a glicólise pelos leucócitos, hemácias e plaquetas (Madieto *et al.*, 1980).

Do ponto de vista clínico, a estase venosa e atividade muscular podem resultar em acúmulos de metabólitos ácidos, sendo a gasometria arterial a mais indicada para a análise de $p\text{CO}_2$ e $p\text{O}_2$ (DiBartola, 2012a).

A concentração de bicarbonato sofreu redução ao longo do tempo, independente da forma de armazenamento ou do anticoagulante, a partir do T30, intensificando até o momento T360. As variações de bicarbonato podem tornar-se relevantes do ponto de vista clínico, pois trata-se do parâmetro que é utilizado para avaliar a presença de alterações metabólicas, seja acidose ou alcalose (DiBartola, 2012b). O julgamento inadequado, pela demora na realização da análise, pode resultar em terapias desnecessárias, logo, a amostra mais fidedigna é aquela processada imediatamente após a coleta.

Ao se observar o comportamento das variáveis pH, bicarbonato e $p\text{CO}_2$ é possível notar que o sistema tampão bicarbonato continuou ativo ao longo do tempo, agora em um sistema fechado. Isto deve ser considerado pelo clínico, em caso de retardo na análise da amostra, para não incorrer em decisões terapêuticas indevidas ao paciente.

Com a redução da média da variável bicarbonato ao longo do tempo era esperado que os valores médios da variável BE acompanhassem essa mudança, o que ocorreu a partir do T30 até o T360. As oscilações nestas variáveis não são relevantes do ponto de vista clínico, pois os valores de BE variaram de -6,13 (T0) a -8,4 (T360), não acarretando grandes mudanças no cálculo de reposição do bicarbonato (Carlson e Bruss, 2008).

As membranas celulares são permeáveis ao íon sódio, por isso, pelo gradiente de concentração, o sódio do espaço extracelular movimenta-se para o espaço intracelular. A diferença de concentração é mantida *in vivo* pela bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, com gasto de energia. Como *in vitro*, na seringa de coleta, a energia é limitada, ao longo do tempo ocorre o deslocamento do Na^+ plasmático para o interior das células sanguíneas e redução na sua mensuração (Wellman, DiBartola, Kohn; 2012). Neste estudo, a concentração de sódio oscila ao longo do tempo nos momentos analisados. Uma hipótese para isso é que ocorre a destruição celular *in vitro*, com a liberação do íon no meio extracelular. No entanto, apesar de existir diferença estatística, essa diferença não é suficiente para alterar a conduta clínica, uma vez que varia dentro do intervalo fisiológico. Mesmo diante de altas concentrações nas amostras contendo

heparina sódica, não foram observadas diferenças entre os anticoagulantes para essa variável.

Já a concentração de potássio elevou-se ao longo do tempo. As hipóteses que se apresentam são: 1) a bomba Na^+K^+ ATPase *in vitro* reduz sua atividade quando não houver mais ATP levando ao deslocamento do K^+ intracelular para o meio extracelular; 2) consequência da hemólise (Wellman, DiBartola, Kohn; 2012).

Para DiBartola e De Moraes (2012), cães apresentam a concentração intraeritrocitária de íon K^+ semelhante à concentração plasmática. Desta forma, a hemólise não acarretaria hipercalemia nesta espécie, salvo em algumas raças, que apresentam alta concentração de potássio intracelular. No entanto, no presente estudo, não é possível excluir a hemólise *in vitro* como uma das possibilidades a serem consideradas para as alterações observadas nas concentrações de sódio e de potássio.

Aumentos na concentração de K^+ entre T0 e T360, ocorreu, independente do anticoagulante, embora tenha sido menor que 0,5mEq/L. Caso o animal apresente normocalemia, tal variação não acarretará prejuízos, no entanto, considerando um paciente com hipocalemia prévia, o retardo na análise pode levar a reposição insuficiente.

O anticoagulante utilizado interferiu na concentração de potássio obtida. Tal diferença pode ser atribuída à diluição da amostra, pois o volume que sobra de HS no canhão da agulha é aproximadamente 0,039mL (Hooper, Rezende, Haskins; 2005), correspondendo a 2,4% do volume final da seringa. Em cada momento, ao subtrair 2,4% da média da HL, é obtido um valor semelhante à média de HS. A diferença das médias dessa variável quando se compara o mesmo momento com os diferentes anticoagulantes, foi de <0,2mEq/L, não incorrendo em relevância clínica e alteração na conduta.

. No trabalho de Hopper, Rezende e Haskins (2005), o efeito da heparina líquida levou a diluição das seguintes variáveis: pCO_2 , pO_2 , BE, bicarbonato, K^+ , Na^+ , Cl^- , iCa e lactato, diferente do presente estudo que constatou redução nas concentrações de K^+ , iCa , *Anion gap* e glicose.

Para De Moraes e Biondo (2012) os níveis de cloretos no soro podem ser estáveis por meses. No presente estudo, esta variável foi dosada no sangue e não apresentou alterações em suas médias, mostrando tal estabilidade

também no sangue por seis horas.

Os valores da concentração de cálcio ionizado armazenados em geladeira mostraram estabilidade ao longo do tempo. As amostras armazenadas em água gelada apresentaram valores inferiores no T360, sendo a diferença da média entre o T360 para o T0 de 0,1mg/dL, o que não apresenta relevância clínica.

Ao longo do tempo, as amostras contendo HL foram estáveis até o T360, quando houve ligeira redução na calcemia. Já amostras contendo HS como anticoagulante mantiveram-se estáveis durante o período analisado, embora com valores significativamente inferiores comparados aos das amostras com HL, fato que deve ser considerado pelo clínico ao analisar os resultados.

Independente da heparina, seja sódica ou lítica, líquida ou liofilizada, ela apresenta a capacidade de quelar cálcio, resultando em mensurações mais baixas (Hopper, Rezende, Haskins; 2005). Nas seringas de gasometria Linha BD-A-Line® esse efeito já é considerado na sua fabricação, as quais são equilibradas com cálcio, por isso, o valor mensurado é mais fidedigno.

O *Anion Gap* (AG) origina-se da diferença entre os principais cátions e ânions do espaço extracelular (Di Bartola, 2012a). Dentre os íons considerados no cálculo da variável, houve alterações nas concentrações de K^+ e de HCO_3^- , logo a variação observada na concentração de AG ao longo do tempo reflete as oscilações em seus componentes.

A osmolalidade de uma solução se refere à concentração de partículas osmoticamente ativas, sendo que a osmolalidade plasmática pode ser calculada a partir dos valores de sódio, nitrogênio uréico e glicose (Di Bartola, 2012c). A redução da osmolalidade ao longo do tempo reflete a diminuição das concentrações de sódio e de glicose. Embora significativa, tal redução foi de 5 mOsm/kg, não incorrerá em relevância clínico ao considerar o intervalo fisiológico da espécie.

Os valores médios da concentração de lactato aumentaram ao longo do tempo, achado semelhante ao observado por Assal e colaboradores (1978). O metabolismo anaeróbico das células sanguíneas gera o consumo de glicose e apresenta como produto o lactato. Por sua vez, a variável glicose reduziu ao longo do tempo, evidenciando tal efeito.

Nas condições do experimento, o exame hemogasométrico de sangue venoso de cães deve ser analisado imediatamente após sua coleta, isso difere de estudos em outras espécies como bovinos, suínos, equinos e caprinos em que o armazenamento adequado é capaz de retardar as alterações *in vitro* (Haskins, 1977; ASSAL *et al.*, 1980; Szenci *et al.*, 1991; Lisbôa *et al.*, 2001; Leal *et al.*, 2006; Leal *et al.*, 2010).

CONCLUSÃO

Nas condições do presente estudo, o tempo alterou a maioria das variáveis, exceto os cloretos.

A recomendação com base no estudo é que o exame seja realizado imediatamente após a coleta, sempre que possível. Se for necessário armazenar, a água gelada mostrou-se a melhor forma de armazenamento das amostras de sangue venoso canino para o exame gasométrico, pois este método de conservação retardou as alterações *in vitro*.

Em relação ao anticoagulante, as seringas de heparina sódica apresentaram alterações nas concentrações de K^+ e iCa . Esse preparo das seringas pode ser utilizado, mas deve ser considerado no momento de analisar os resultados.

Tabela 1 - Variação do pH, pressão parcial de dióxido de carbono (pCO₂ mmHg), bicarbonato (HCO₃⁻ mmol/L), lactato (mmol/L) e glicose (mg/dL) em amostras de sangue venoso de cães (n=30) conservadas em banho de água gelada e geladeira, expressa como a média de cada tempo analisado

Variável	Armazenamento	0	30	120	240	360
pH	Geladeira	7,33 ^{Aa} ±0,07	7,31 ^{Ab} ±0,06	7,29 ^{Ac} ±0,06	7,26 ^{Ad} ±0,06	7,24 ^{Ae} ±0,07
	Água gelada	7,33 ^{Aa} ±0,07	7,32 ^{Aa} ±0,06	7,31 ^{Ab} ±0,06	7,28 ^{Ac} ±0,06	7,26 ^{Ad} ±0,07
pCO ₂ (mmHg)	Geladeira	38,3 ^{Aa} ±9,33	39,6 ^{Aa} ±7,6	40,9 ^{Aa} ±8,04	43,3 ^{Ab} ±7,83	44,6 ^{Ab} ±9,06
	Água gelada	39,3 ^{Aa} ±8,53	39,1 ^{Aa} ±8,03	40,1 ^{Aa} ±8,44	42,3 ^{Ab} ±9,02	43,6 ^{Ab} ±9,36
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	Geladeira	19,3 ^{Aa} ±1,89	18,7 ^{Ab} ±1,71	18,4 ^{Ac} ±1,96	18 ^{Ac} ±1,75	17,4 ^{Ad} ±1,99
	Água gelada	19,4 ^{Aa} ±1,84	18,8 ^{Ab} ±1,7	18,8 ^{Ab} ±1,88	18,4 ^{Ab} ±1,5	17,9 ^{Ac} ±1,93
Lactato (mmol/L)	Geladeira	2,21 ^{Ae} ±0,91	2,52 ^{Ad} ±1,06	3,02 ^{Ac} ±1,29	3,62 ^{Ab} ±1,56	3,96 ^{Aa} ±1,76
	Água gelada	2,22 ^{Ae} ±0,99	2,4 ^{Ad} ±1,09	2,76 ^{Ac} ±1,16	3,17 ^{Ab} ±1,44	3,44 ^{Aa} ±1,59
iCa (mg/dL)	Geladeira	4,74 ^{Aa} ±0,63	4,76 ^{Aa} ±0,65	4,76 ^{Aa} ±0,65	4,73 ^{Aa} ±0,65	4,72 ^{Aa} ±0,63
	Água gelada	4,76 ^{Ab} ±0,61	4,79 ^{Ab} ±0,60	4,76 ^{Ab} ±0,61	4,70 ^{Ab} ±0,59	4,66 ^{Aa} ±0,56
Glicose (mg/dL)	Geladeira	90,2 ^{Aa} ±13,9	85,4 ^{Ab} ±12,8	81,1 ^{Ab} ±18,2	77,1 ^{Ab} ±18,9	73,9 ^{Ab} ±19,2
	Água gelada	91,3 ^{Aa} ±13,8	88,2 ^{Aab} ±11,8	87,7 ^{Ab} ±14,7	84,6 ^{Ac} ±15	78,7 ^{Ad} ±18,6

Fonte: do próprio autor.

Legenda: Letras maiúsculas iguais na coluna indicam p>0,05, Letras minúsculas iguais na linha indicam p>0,05.

Tabela 2 - Variação do bicarbonato (HCO_3^- mmol/L), cálcio ionizado (iCa mg/dL) potássio (K^+ mmol/L), Ânion gap (AG mmol/L) e glicose (mg/dL) de em amostras de sangue venoso de cães ($n = 30$) coletadas com seringa de gasometria BD-A-Line® (HL) e com seringa convencional com pequena quantidade de heparina sódica (HS), expressa como a média de cada tempo analisado

Variável	Anticoagulante	0	30	120	240	360
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	HL	19,4 ^{Aa} ±1,79	18,9 ^{Ab} ±1,74	18,6 ^{Ac} ±1,99	18,3 ^{Ac} ±1,7	17,5 ^{Ad} ±2,03
	HS	19,3 ^{Aa} ±1,93	18,6 ^{Ab} ±1,66	18,6 ^{Ab} ±1,88	18,2 ^{Ac} ±1,59	17,8 ^{Ad} ±1,92
iCa (mg/dL)	HL	5,15 ^{Aa} ±0,43	5,18 ^{Aa} ±0,44	5,16 ^{Aa} ±0,47	5,11 ^{Aa} ±0,47	5,04 ^{Ab} ±0,48
	HS	4,35 ^{Ba} ±0,51	4,36 ^{Ba} ±0,49	4,36 ^{Ba} ±0,50	4,31 ^{Ba} ±0,47	4,34 ^{Ba} ±0,48
K ⁺ (mmol/L)	HL	4,09 ^{Aa} ±0,42	4,15 ^{Ab} ±0,40	4,26 ^{Ac} ±0,39	4,39 ^{Ac} ±0,39	4,43 ^{Ad} ±0,39
	HS	3,9 ^{Ba} ±0,51	4,01 ^{Bb} ±0,41	4,15 ^{Bc} ±0,41	4,2 ^{Bcd} ±0,68	4,33 ^{Bd} ±0,39
AG (mmol/L)	HL	19,9 ^{Aac} ±4,87	20,5 ^{Aac} ±5,0	18,3 ^{Ad} ±5,2	20,0 ^{Ac} ±5,24	20,9 ^{Aab} ±4,96
	HS	20,5 ^{Aa} ±4,61	21,3 ^{Aa} ±4,85	18,4 ^{Ab} ±4,91	20,7 ^{Aa} ±4,67	20,8 ^{Aa} ±4,28
Glicose (mg/dL)	HL	91,7 ^{Aa} ±13,6	87,9 ^{Aa} ±12,8	83,9 ^{Ab} ±18,5	79,9 ^{Ac} ±19,1	75 ^{Ad} ± 20,1
	HS	89,8 ^{Aa} ±14,0	85,6 ^{Aa} ±11,9	84,8 ^{Ab} ±15,1	81,8 ^{Ac} ±15,7	77,7 ^{Ad} ±17,9

Fonte: do próprio autor

Legenda: Letras maiúsculas iguais na coluna indicam $p > 0,05$, Letras minúsculas iguais na linha indicam $p > 0,05$

Tabela 3 - Variação da pressão parcial de oxigênio (pO_2 mmHg), do excesso de base (BE_{ecf} mmol/L), do sódio (Na^+ mmol/L), dos cloretos (Cl^- mmol/L) e da osmolalidade (mOsm mmol/kg) em amostras de sangue venoso de cães (n =30), expressa como a média de cada tempo analisado

Variável/ Tempo	0	30	120	240	360
pO_2 (mmHg)	44 ^a ±20,5	51,1 ^b ±39,7	53,6 ^c ±28,2	65,5 ^d ±39,7	73,5 ^e ±44,1
BE (ecf) (mmol/L)	-6,13 ^a ±2,79	-6,79 ^b ±2,57	-7,28 ^c ±2,99	-7,74 ^c ±2,57	-8,4 ^d ±3,25
Na^+ (mmol/L)	148 ^a ±3,8	148 ^a ±4,06	146 ^b ±3,97	147 ^c ±3,51	147 ^c ±4,03
Cl^- (mmol/L)	112 ^a ±3,74	112 ^a ±3,78	113 ^a ±3,91	112 ^a ±2,68	112 ^a ±3,94
Osmolalidade (mOsm/Kg)	302 ^a ±7,55	302 ^b ±8,12	297 ^d ±7,86	299 ^c ±6,84	299 ^{cd} ±7,87

Fonte: do próprio autor

Legenda: Letras minúsculas iguais na linha indicam $p > 0,05$

REFERÊNCIAS

- ASSAL, A.N., ARNBJERG, J., POULSEN, J.S.D. Acid-base status of canine blood during storage. **Nordisk Veterinaermedicin**, v.30, p.345-353, 1978.
- ASSAL, A.N., CHRISTIANSEN, I.J., POULSEN, J.S.D. Acid base status of porcine blood during storage. **Nordisk Veterinaermedicin**, v.32, p.9-16, 1980.
- BAILEY, J.E.; PABLO, L.S. Practical approach to acid-base disorders. **Veterinary clinics of north america: small animal practice** . v. 28, n. 3, p.645-662, mai 1998.
- BD- Aline- Descritivo de Produtos. Disponível em: [resource.aspx \(bd.com\)](http://resource.aspx.bd.com). Acesso 13/05/2014.
- CARLSON, G. P.; BRUSS, M. Fluid, electrolyte, and acid-base balance. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. B. T. (Eds.). **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 529–559.
- DE MORAIS, H.A; BIONDO, A.W. Disorders of Chloride: Hyperchloremia and Hypochloremia. In: DIBARTOLA, Stephen. **Fluid,electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice**. 3ª EDIÇÃO. St. Louis, Missouri: Saunders, 2012. p. 80-91.
- DIBARTOLA, Stephen. Introduction to acid-base disorders. In: DIBARTOLA, Stephen. **Fluid,electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice**. 3ª EDIÇÃO. St. Louis, Missouri: Saunders, 2012a. p. 231-251.
- DIBARTOLA, Stephen. Metabolic Acid-Base Disorders. In: DIBARTOLA, Stephen. **Fluid,electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice**. 3ª EDIÇÃO. St. Louis, Missouri: Saunders, 2012b. p. 253-286.
- DIBARTOLA, Stephen. Applied Renal Physiology. **Fluid,electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice**. 3ª EDIÇÃO. St. Louis, Missouri: Saunders, 2012c. p. 26-43.
- DIBARTOLA, S.; DE MORAIS, H.A. Disorders of Potassium: Hypokalemia and Hyperkalemia In: DIBARTOLA, Stephen. **Fluid,electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice**. 3ª EDIÇÃO. St. Louis, Missouri: Saunders, 2012. p. 92-119.
- HARSTEN, A.; BERG, B.; INEROT, S.; MUTH, L. Importance of correct handling of samples for the results of blood gas analysis. **Acta Anaesthesiologica**

Scandinavica. v. 32, p. 365-368, jul, 1988.

HASKINS, S.C. Sampling and storage of blood for pH and blood gas analysis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.170, p.429-433, 1977.

HOPPER, K.; REZENDE, M.; HASKINS, S. Assessment of the effect of dilution of blood samples with sodium heparin on blood gas, electrolyte, and lactate measurements in dogs. **American Journal of Veterinary Research.** V. 66, n.4, p. 656-660, 2005.

The jamovi project (2022). jamovi. (Version 2.3) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>.

KNOWLES, T.P.; MULLIN, R.A.; HUNTER, J.A.; HERBERT, F. Effects of Syringe Material, Sample Storage Time, and Temperature on Blood Gases and Oxygen Saturation in Arterialized Human Blood Samples. **Respiratory care.** v. 51, p. 732-736, julho 2006.

LEAL, M.L.R.; SOARES, P.C.; CYRILLO, F.C.; BENESI, F.J. Influence of refrigeration on blood gas analysis of caprine venous blood. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.** V.47, n. 2, p. 105-110, 2010.

LEAL, M.L.R.; SOARES, P.C.; BERTAGNON, H.G.; da SILVA, P.E.G.; ORTOLANI, E.L.; BENESI, F.J. Efeito da refrigeração sobre o exame hemogasométrico em sangue venoso de ovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.** V. 43, p. 80-85, 2006.

LISBÔA, J.A.N.; BENESI, F.J.; MARUTA, C.A.; MIRANDOLA, R.M.S.; TEIXEIRA, C.M.C. Tempo de viabilidade de amostras de sangue venoso bovino destinadas ao exame hemogasométrico, quando mantidas sob conservação em água gelada. **Ciência Rural.** V.31, n.2, p.271-276, 2001.

MADLEDO, G.; SCIACCA, R.; HAUSE, L. Air bubbles and temperature effect on blood gas analysis. **Journal of clinic pathology.** V. 33, n. 9, p. 864-867, set 1980.

PRUDEN, E.L.; SIGGAARD-ANDERSEN, O.; TIETZ, N.W. Blood gases and pH. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. **Tietz fundamentals of clinical chemistry.** Philadelphia: WB Saunders; 1996. p. 506.

SZENCI, O., BRYDL, E., BAJCSY, C.A. Effect of storage on measurement of ionized calcium and acid-base variables in equine, bovine, ovine, and canine venous blood. **Journal of the American Veterinary Medical Association,**

v.199, p.1167-1169, 1991.

VASCONCELLOS, L.S. Fase pré-analítica. *In*: SUMITA, N.M.; ANDRIOLO, A.; FERREIRA, C.E.S. *et al.* **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial (SBPC/ML): boas práticas em laboratório clínico.** 1 ed. Barueri: Manole, 2020. p.184- 189.

WELLMAN, M.L.; DIBARTOLA, S.P.; KOHN, C.W. Applied Physiology of Body Fluids in Dogs and Cats. *In*: DIBARTOLA, Stephen. **Fluid,electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice.** 3ª EDIÇÃO. St. Louis, Missouri: Saunders, 2012. p. 2-25.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Neste trabalho foi possível avaliar o comportamento dos biomarcadores séricos e urinários nos grupos estudados. O UGC se mostrou um marcador precoce, sendo necessário mais estudos futuros para definir sua origem na urina, isto é, se por destruição progressiva das células tubulares renais ou se por quebra de barreira glomerular e passagem da GGT sérica.

O estudo dos fatores pré-analíticos na gasometria venosa de cães foi realizado com seringas de 3mL. Estudos com seringas de 1mL como também com sangue arterial são necessários para avaliar os efeitos pré-analíticos nesse contexto.

5 CONCLUSÃO

Essa tese permitiu a execução de dois artigos com informações novas e pertinentes dentro da área de clínica médica de cães.

O primeiro artigo não mostrou precocidade nas concentrações de SDMA em relação a creatinina em cães. Ao se analisar a relação uGGT/creatinina na DRC de ocorrência natural, foi possível identificar que é um marcador precoce em relação ao UPC.

No segundo artigo, sobre fatores pré-analíticos na gasometria venosa de cães, foi possível evidenciar diferenças quando utilizada a seringa realizado pelo próprio veterinário em relação a seringa comercial. Durante 6 horas as amostras podem ser armazenadas em água gelada (0-4°C) para retardar as alterações *in vitro*.

REFERÊNCIAS

BAILEY, J.E.; PABLO, L.S. Practical approach to acid-base disorders. **Veterinary clinics of north america: small animal practice** . v. 28, n. 3, p.645-662, mai 1998.

BATEMAN, S.W. Making Sense of Blood Gas Results. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. V. 38, p. 543-557, 2008.

BD- A-Line- Descritivo de Produtos. Disponível em: [resource.aspx \(bd.com\)](resource.aspx (bd.com)). Acesso 13/05/2014.

BROW, C. A.; ELLIOT, J.; SCHMIEDT, C.W.; BROWN, S.A. Chronic Kidney Disease in Aged Cats: Clinical Features, Morphology, and Proposed Pathogeneses. **Veterinary Pathology**. V. 53, N. 2, p. 309-326, 2016.

BRUNKER, J.D.; PONZIO, N.M.; PAYTON, M.E. Indices of urine N-acetyl- β -D-glucosaminidase and γ -glutamyl transpeptidase activities in clinically normal adult dogs. **American Journal of Veterinary Research**. V. 70, n. 2, p. 297-301, fev. 2009.

CALLENS, A.J.; BARTGES, J.W. Urinalysis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V.45, n.4 p. 621-894, 2015.

CLEMO, F.A. S. Urinary enzyme evaluation of nephrotoxicity in the dog. **Toxicologic Pathology**, v.26, n. 1, p. 29-32, jan-fev. 1998.

COYNE, M.J.; DRAKE, C.; McCRANN, D.J.; KINCAID, D. The association between symmetric dimethylarginine concentrations and various neoplasms in dogs and cats. **Veterinary and Comparative Oncology**. V. 20, 846–853, 2022.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Ionized Calcium Determinations: Pre-collection Variables, Specimen Choice, Collection, and Handling; Approved Guideline – Segunda Edição. CLSI document C31-A2. Wayne: CLSI; 2001.

COBRIN, A.R.; BLOIS, S. L.; KRUTH, S.A.; ABRAMS-OGG, A.C.G.; DEWEY, C. Biomarkers in the assessment of acute and chronic kidney diseases in the dog and cat. **Journal of Small Animal Practice**. V. 5, p.647-655, 2013.

DAVIS, J.; ROSSI, G.; CIANCIOLO, R.E.; HO, K.M.; HOSGOOD, G.L.; MILLER, D.W.; RAISIS, A.L. Early diagnosis of acute kidney injury subsequent to severe hypotension and fluid resuscitation in anaesthetized dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**. V. 49, P. 344-353, 2022.

DAY, T.K. Blood gas analysis. **Veterinary clinics of north america: small animal practice**. V. 32, n. 4, p. 1031–1048, jul 2002.

DE LOOR, J.; DAMINET, S., SMETS, P.; MADDENS, B.; MEYER, E. Urinary Biomarkers for Acute Kidney Injury in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V.27, p. 998-1010, 2013.

DROST, W.T.; COUTO, G.; FISCHETTI, A.J.; MATTOON, J.S. IAZBIK, C. Comparison of Glomerular Filtration Rate between Greyhounds and Non-Greyhound Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V 20, p. 544–546, 2006.

ERNST, R.; OGEER, J.; McCRANN, D.; CROSS, J.; STRONG-TOWNSEND, M.; FRIIS, H.; COYNE, M.; CLEMENTS, C.; DRAKE, C.; MURPHY, R. Comparative performance of IDEXX SDMA test and the DLD SDMA ELISA for the measurement of SDMA in canine and feline serum. **PLoS One**. 2018. Disponível no

site:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0205030>.

Acesso em: 27/09/2019.

FETTMAN, M.J.; REBAR, A. Avaliação Laboratorial da Função Renal. In: THRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª edição. ROCA, 2007, p.285-310.

FORD, E.J.H. Activity of gamma-glutamyl transpeptidase and other enzymes in the serum of sheep with liver or kidney damage. **Journal of Comparative Pathology**. V. 84, n.2, p. 231-243, abr.1974.

FORRESTER, D. Diagnostic approach to hematuria in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V. 34, p. 849–866, 2004.

GATTINONI, L.; PESENTI, A.; MATTHAY, M. Understanding blood gas analysis. **Intensive Care Medicine**. V. 44, n. 1, p. 91-93, jan 2018.

GRAUER, G. Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V.35, p.581-596, 2005.

GRAUER, G. Proteinúria. International Renal Interest Society. 2016. Disponível em: <http://iris-kidney.com/education/proteinuria.html>. Acesso janeiro/2019.

HALL, J.A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; MELENDEZ, L.D.; JEWELL, D.E. Relationship between lean body mass and sérum renal biomarkers in healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V. 29, p. 808-814, 2015.

HALL, J.A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; ALMES, K.; JEWELL, D.E. Serum Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine in Dogs with Naturally Occurring Chronic Kidney Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V. 30, p. 794-802, 2016.

HARSTEN, A.; BERG, B.; INEROT, S.; MUTH, L. Importance of correct handling of samples for the results of blood gas analysis. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**. v. 32, p. 365-368, jul, 1988.

HEINE, R.; MOE, L.; MOLMEN, G. Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra. **Research in Veterinary Science**. V.70, p. 129-137, 2001.

HOPPER, K.; REZENDE, M.; HASKINS, S. Assessment of the effect of dilution of blood samples with sodium heparin on blood gas, electrolyte, and lactate measurements in dogs. **American Journal of Veterinary Research**. V. 66, n.4, p. 656-660, 2005.

ILCHYSHYN, N.P.; VILLIERS, E.; MONTI, P. Validation of a spectrophotometric method for GGT measurement in canine urine and determination of the urine GGT-to-creatinine ratio reference interval and biological variation in 41 healthy dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. V. 31, n.1, p. 33-39, jan 2019.

IRIS Guidelines 2023- IRIS Staging CKD. Disponível em <https://iris-kidney.com/guidelines/staging.html>. Acesso em: 24 mar 2024.

JACOB, F.; POLZIN, D.J.; OSBORNE, C.A.; NEATON, J.D.; KIRK, C.A.; ALLEN, T.A.; SWANSON, L.L. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. V. 226, n.3, p. 393-400, 2005.

KELLER, P. RUEDI, D.; GUTZWILLER, A. Tissue distribution of diagnostically useful enzymes in zoo animals: a comparative study. **The Journal of Zoo Animal Medicine**. V. 16, p. 28-49, 1985.

KIRSZTAJN, G.M.; NISHIDA, S.K.; SILVA, M.S.; AJZEN, H.; MOURA, L.A.; PEREIRA, A.B. Urinary Retinol-Binding Protein as a Prognostic Marker in Glomerulopathies. **Nephron**. V. 90, p.424–431, 2002.

KOSTER, L.S.; PEDA, A.; FRAITES, T.; SITHOLE, F. A preliminar investigation into the prognostic relevance of symmetric dimethylarginine in critically ill dogs. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. V. 28, n.6, p. 527-531, 2018.

KNOWLES, T.P.; MULLIN, R.A.; HUNTER, J.A.; HERBERT, F. Effects of Syringe Material, Sample Storage Time, and Temperature on Blood Gases and Oxygen Saturation in Arterialized Human Blood Samples. **Respiratory care**. v. 51, p. 732-736, julho 2006.

LIFFMAN, R.; JOHNSTONE, T.; TENNENT-BROWN, B.; HEPWORTH, G.; COURTMAN, N. Establishment of reference intervals for serum symmetric dimethylarginine in adult nonracing Greyhounds. **Veterinary Clinical Pathology**. P. 1–6; 2018.

LIMA-OLIVEIRA, G.; LIPPI, G.; SALVAGNO, G.L.; MONTAGNANA, M.; PICHETH, G.; GUIDI, G.C. Different manufacturers of syringes: A new source of variability in blood gas, acid–base balance and related laboratory test? **Clinical Biochemistry**. v. 45, n. 9, p. 683-687, 2012. **Indian Journal of Pediatrics**. V. 70, n.10, p. 781-785, out 2003.

LOBETTI, R.; LAMBRECHTS, N. Effects of general anesthesia and surgery on renal function in healthy dogs. **American Journal Veterinary Reserach**. V. 61, n.2, p. 121-124, 2000.

LUNEBURG, N.L.; HOLTEN, R-A.; OPPER, R.F.T; SCHWEDHELM, E.; MAAS, R.; OGER, R.H.B. Symmetric dimethylarginine is a marker of detrimental outcome in the acute phase after ischaemic stroke: role of renal function. **Clinical Science**. V. 122, p.105-111, 2012.

MADLEDO, G.; SCIACCA, R.; HAUSE, L. Air bubbles and temperature effect on blood gas analysis. **Journal of clinic pathology**. V. 33, n. 9, p. 864-867, set 1980.

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

NABITY, M.B. Tradicional renal biomarkers and new approaches to diagnostics. **Toxicology Pathology**. V.46, n.8, p. 999-1001, 2018.

PALACIO, J.; LISTE, F.; GASCON, M. Enzymuria as an index of renal damage in canine leishmaniasis. **Veterinary Record**. V. 140, p. 477-480, 1997.

PIECH, T.L.; WYCISLO, K.L. Importance of Urinalysis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V.49, n.2, p. 233-245, 2019.

POLZIN, D. Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. V. 23, n.2, p. 205-215, 2013.

PRESSLER, B. Clinical approach to advanced renal function testing in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V.43, n.6 p. 1193-1208, 2013.

RELFORD, R.; ROBERTOSN, J.; CLEMENTS, C. Symmetric dimethylarginine: improving the diagnosis and staging of chronic kidney disease in small animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V.46, n.6 p. 941-960, 2016.

REZENDE, M.; HASKINS, S.; HOPPER K. The effects of ice-water storage on blood gas and acid base measurements. **Journal of Veterinary Emergency & Critical Care**. V. 17, n.1, p. 67-71, 2007.

SEVEG, G. Biomarkers of kidney disease: potential utilities. International Renal Interest Society. Disponível em: http://iris-kidney.com/education/renal_biomarkers.html. Acesso janeiro/2019.

SCHEPPER, J. DE; COCK, I. DE; CAPIAU, E. Urinary γ -glutamyl transferase and the degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. **Research in Veterinary Science**. V. 46, p. 396-400, 1989.

SHAH, N.A.; LERMA, E.V. Novel Biomarkers of Renal Function Introduction and Overview. **Medscape**. 2017. Disponível em: <https://emedicine.medscape.com/article/1925619-overview>. Acesso em 16/01/19.

SUMITA, N.M.; MENDES, M.E. Gasometria. In: SUMITA, N.M.; ANDRIOLO, A.; SHCOLNIK, W. *et al.* **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial (SBPC/ML) Fatores pré-analíticos e interferentes em ensaios laboratoriais**. 1 ed. Barueri: Manole, 2018. p.231-248.

UECHI, M.; TERUI, H.; NAKAYAMA, T.; MISHINA, M.; WAKAO, Y.; TAKAHASHI, M. Circadian variation of urinary enzymes in the dog. **Journal of Veterinary Medical Science**. V. 56, n.5, p. 849–854, 1994.

VASCONCELLOS, L.S. Fase pré-analítica. In: SUMITA, N.M.; ANDRIOLO, A.; FERREIRA, C.E.S. *et al.* **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial (SBPC/ML): boas práticas em laboratório clínico**. 1 ed. Barueri: Manole, 2020. p.184- 189.

WATSON, A.D.J.; LEFEBVRE, H.P.; ELLIOTT, J. Urine Specific Gravity. International Renal Interest Society. Disponível em: http://iris-kidney.com/education/urine_specific_gravity.html. Acesso janeiro/2019.

YERRAMILLI, M.; FARACE, G.; QUINN, J.; YERRAMILLI, M. Kidney Disease and the Nexus of Chronic Kidney Disease and Acute Kidney Injury: The Role of Novel Biomarkers as Early and Accurate Diagnostics. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V.46, n.6 p. 961-993, 2016.

YU, L.; ABENSUR, H.; BARROS, E.J.G.; HOMSI, E.; BURDMANN, E.A.; CENDOROGLO NETO, M.; YOUNES-IBRAHIM, M.; SANTOS, O.P. Insuficiência

renal aguda: diretriz da Sociedade Brasileira de Nefrologia. 2007. Disponível em:
https://sbn.org.br/app/uploads/Diretrizes_Insuficiencia_Renal_Aguda.pdf.

Acesso: janeiro, 2019.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____, CPF: _____, estou sendo convidado a participar de um estudo denominado **Biomarcadores da lesão renal em cães e/ou Hemogasometria venosa em cães.**

A minha participação no referido estudo será permitindo a utilização dos dados do meu animal _____, RG/CV _____, espécie _____, sexo _____, idade _____, raça _____.

Fui alertado de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como: exames de sangue e urina adicionais aos requeridos pelo clínico e sem custos.

Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os exames a serem realizados e que podem ser realizados outros exames além dos que seriam solicitados pelo veterinário responsável como ultrassonografia abdominal, pressão arterial, exames bioquímicos.

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, será mantido em sigilo.

Também fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo

A pesquisadora envolvida com o referido projeto é Carolina Grecco Grano Bordini, docente da Universidade Pitágoras Norte do Paraná e aluna de Pós-graduação da Universidade Estadual de Londrina, e com ela poderei manter contato pelo e-mail: carol_grano@hotmail.com ou telefone: 3371-7938. A coordenadora do projeto é a professora Dr^a Karina Keller Marques da Costa Flaiban, docente da Universidade Estadual de Londrina, e com ela poderei manter contato pelo e-mail: kkflaiban@gmail.com.

É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas conseqüências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

_____, ____ de ____ de 20____.

Nome e assinatura do sujeito da pesquisa

Carolina Grecco Grano Bordini

APÊNDICE B



COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO DE ANIMAIS – CEUA

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL EM CÃES E GATOS”, registrada no Comitê de Ética para o uso de animais, com o nº 001/20, sob a responsabilidade de Carolina Grecco Grano Bordini que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrada, para fins de ensino ou desenvolvimento de recurso os didáticos – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR) em **30/06/2020**.

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/08/2020 a 30/07/2021
Espécie/Linhagem/Raça	<i>Caninos e felinos</i>
Nº de animais	180
Peso/idade	qualquer
Sexo	qualquer
Origem	Clínicas Veterinárias

Araçongas, 30 de junho de 2020.


 Profª Drª Daniella Aparecida Godoi
 Coordenadora do CEUA

Profª Drª Fabíola Cristine de Almeida do Rego Grecco
 Vice coordenador do CEUA

APÊNDICE C



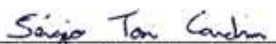
COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO DE ANIMAIS – CEUA

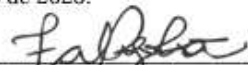
CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**Hemogasometria em cães e gatos**”, registrada no Comitê de Ética para o uso de animais, com o nº 07/23, sob a responsabilidade de Carolina Grecco Grano Bordini- que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrada, para fins de ensino ou desenvolvimento de recurso os didáticos – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR) em reunião de 18/05/2023.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/06/2023 a 01/06/2024
Espécie/Linhagem/Raça	Cães
Nº de animais	50
Peso/idade	Indiferente
Sexo	Indiferente
Espécie/Linhagem/Raça	Gatos
Nº de animais	50
Peso/idade	Indiferente
Sexo	Indiferente
Origem	Animais de tutores atendidos pela UROVET (clínica veterinária particular) e que assinaram termo de ciência do projeto

Arapongas, 19 de maio de 2023.


 Prof. Dr. Sérgio Tosi Cardim
 Coordenador do CEUA


 Profª. Drª. Fabíola Cristine de Almeida do Rego Grecco
 Vice coordenador do CEUA