

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DA RELAÇÃO AMIDO: PROTEÍNA, DA
HIDROXIPROLINA E DO SÓDIO NA PRODUÇÃO DE
URINA E EXCREÇÃO RENAL DE OXALATO E CÁLCIO EM
GATOS**

Fernanda Sanches Mendonça
Zootecnista

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITOS DA RELAÇÃO AMIDO: PROTEÍNA, DA
HIDROXIPROLINA E DO SÓDIO NA PRODUÇÃO DE
URINA E EXCREÇÃO RENAL DE OXALATO E CÁLCIO EM
GATOS**

Discente: Fernanda Sanches Mendonça

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

Co-orientadora: Profa. Dra. Thaila Cristina Putarov

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia

M539e Mendonça, Fernanda Sanches
Efeitos da relação amido: proteína, da hidroxiprolina e do sódio na produção de urina e excreção renal de oxalato e cálcio em gatos / Fernanda Sanches Mendonça. -- Jaboticabal, 2019
54 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi
Coorientadora: Thaila Cristina Putarov

1. Aparelho urinário Cálculos. 2. Gatos. 3. Rações. 4. Sódio. 5. Proteínas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: EFEITOS DA RELAÇÃO AMIDO: PROTEÍNA, DA HIDROXIPROLINA E DO SÓDIO NA PRODUÇÃO DE URINA E EXCREÇÃO RENAL DE OXALATO E CÁLCIO EM GATOS

AUTORA: FERNANDA SANCHES MENDONÇA

ORIENTADOR: AULUS CAVALIERI CARCIOFI

COORDINADORA: THAILA CRISTINA PUTAROV

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. AUREO EVANGELISTA SANTANA
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. JULIANA TOLOI JEREMIAS
Departamento de Inovação Tecnológica / Premier Pet / Dourado-SP


Profa. Dra. ANNELISE CARLA CAMPLESI DOS SANTOS
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. ARCHIVALDO RECHE JÚNIOR (Videoconferência)
Departamento de Clínica Médica-FMVZ/USP / São Paulo/SP

Jaboticabal, 12 de novembro de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FERNANDA SANCHES MENDONÇA – Nascida em 13 de abril de 1991, em Osvaldo Cruz – SP. Graduada em Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), em janeiro de 2014. Deu início no curso de mestrado pelo Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp) em março de 2014 na área Nutrição de Cães e Gatos, sob orientação do professor doutor Aulus Cavalieri Carciofi e finalizou o mesmo em fevereiro de 2016. Iniciou o curso de doutorado no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp) em março de 2016, também na área Nutrição de Cães e Gatos, orientada pelo professor doutor Aulus Cavalieri Carciofi e coorientada pela Dra. Thaila Cristina Putarov.

E a cada ciclo que se encerra descobrimos a beleza que estava oculta em cada gesto, fato, incidente e pretensos acidentes. Percebemos que nada foi por acaso e colhemos como frutos coloridos os ensinamentos, as alegrias vividas e o carinho de quem conquistamos!

- Gabriela Saad

Dedico

Aos meus pais Ignácio e Magali, por todas as portas que me ajudaram a abrir e por sempre lutarem comigo e apoiarem minhas escolhas, mas principalmente por todo o amor a mim dedicado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre me guiar a boas escolhas e caminhos corretos e por me abençoar com saúde para que eu possa sempre evoluir como pessoa e profissional.

A minha família, a qual eu devo tudo que sou e tenho hoje. Papis, Mamis e Jhow, vocês são a base de tudo e tem o meu amor e gratidão eternos. Obrigada por apoiarem minhas decisões e por nunca me abandonarem, mesmo quando eu sou muito ariana. Amo muito vocês.

Ao meu companheiro de vida, Paulo Ricardo, que é meu porto seguro, para onde eu corri esses 6 anos quando o experimento não dava certo ou quando tudo estava tão maravilhoso que eu tinha que compartilhar. Obrigada por me ouvir, me apoiar e por todo amor. Te amo.

Ao meu orientador, Aulus Cavalieri Carciofi, que pela segunda vez me deu a oportunidade de crescer como pessoa e profissional. Obrigada pelos ensinamentos ao longo desses 6 anos que estou no Laboratório, pela ajuda nas horas difíceis e por todas as oportunidades que o senhor me deu. Foram 6 anos de muito trabalho, que me permitiram crescer e amadurecer, e também de muitas realizações que me mostraram que eu estava no caminho certo. Hoje, graças ao senhor, eu vou sair da pós-graduação sendo uma profissional e pessoa melhor. Obrigada!

A minha co-orientadora, Thailinha, que me apoia e ensina desde de o primeiro dia que pisei no Lab. Obrigada por me fazer uma pessoa e profissional melhor, pela amizade, por todas as conversas, pela disposição em ajudar, não só a mim, mas todas as pessoas, pelos milhões de elisas que me ajudou a fazer (esse agradecimento não podia passar kk), resumindo, obrigada por tudo.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos, Laine, Di, Kelly e Claudinha, porque, com certeza, sem vocês esse laboratório não seria tão maravilhoso. Obrigada por cuidarem tão bem dos nossos animaizinhos e do Lab. Agradeço por toda ajuda e ensinamentos, pela paciência com meus TOCs de experimentos, mas principalmente pela amizade, conversas, apoio, incentivo, conselhos médicos, orações e pelo café nosso de cada dia.

A Amanda, que foi minha parceira de trabalho e que sempre me ajudou em tudo que eu fiz no laboratório, desde o primeiro dia que cheguei para o estágio curricular até hoje, final do doutorado. Me ajudou a saber quem eram os cães, passou várias noites identificando milhões de tubos, horas sentada com os animais para as coletas, acordou as 5 da manhã durante vários meses comigo, e outros trilhões de coisas. Além de toda ajuda, sou muito grata por sua amizade, conversas e comilanças que deixaram o trabalho e a vida muito mais leve. Obrigada!

Agradeço aos meus familiares por serem pessoas maravilhosas e alegres, principalmente a minha prima irmã Mariana que esteve comigo em boa parte da minha pós-graduação, me fazendo rir muito e sendo minha companhia nos dias bons e ruins.

A Tamy e a Thais que foram colaboradoras dos meus estudos, e que eu serei eternamente grata por toda ajuda, disponibilidade, sacrifícios que vocês fizeram para meus trabalhos saírem do papel, e também pela amizade, conversas, sustos e tombos compartilhados, em resumo, obrigada por tudo.

Aos animais do laboratório, por todo amor gratuito e pela colaboração em todos os estudos. Agradeço principalmente aos gatinhos que fizeram essa tese possível.

Aos amigos e companheiros de laboratório Lud, Ste, Carol, Le P., Lara, Ca, Pet, Mayara, Érico, Pri, Le L., Pi, Débora, obrigada pela ajuda, afinal ninguém faz nada sozinho, e pelos ótimos momentos que passamos juntos. E as estagiárias e estagiários que nos ajudaram e ajudam sempre.

Aos amigos que passaram pelo lab e fizeram parte da minha evolução pessoal e profissional, Raquel, Mari, Bru, Marcinha, Aninha, Mayara P., Fer, Kati, Fran e Fabi.

Aos funcionários do Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Renata e Paulo, pelo auxílio nas análises e bate-papos.

Agradeço aos funcionários da Fábrica de Rações, Lucas e Helinho, por toda ajuda e por deixarem esse serviço, que é tão pesado, um pouco mais leve com muitas conversas e risadas.

Aos professores da Unesp de Jaboticabal que ajudaram a formar os resultados desse trabalho e aos professores da vida, que me fizeram chegar até aqui. Agradeço a professora Diva, em especial, que se disponibilizou, nas suas férias, a me ajudar a escrever melhor. Graças a ela que eu consegui escrever bem meu TCC, Dissertação e Tese e receber títulos tão importantes na minha carreira.

A Fapesp, pelo auxílio para realização do estudo com os gatos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A Affinity e Manfrim pela manutenção financeira do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos "Prof. Dr. Flávio Prada".

Aos meus amigos que ouvem minhas reclamações, comemoram minhas conquistas e que, de longe ou perto, sempre me apoiam, Paula, Claudia, Laura, Bruna, Lisiane, Marcela, Jéssica e Angela.

SUMÁRIO

	Página
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS GATOS.....	iii
RESUMOS.....	iv
ABSTRACT.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
EFEITOS DA RELAÇÃO AMIDO: PROTEÍNA, DA HIDROXIPROLINA E DO SÓDIO NA PRODUÇÃO DE URINA E EXCREÇÃO RENAL DE OXALATO E CÁLCIO EM GATOS	
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Doenças do trato urinário inferior de felinos e Urolitíase.....	2
2.1.1. Formação de urólitos.....	3
2.1.2. Principais tipos de urólitos.....	4
2.1.3. Epidemiologia dos urólitos de estruvita e oxalato de cálcio.....	5
2.2. Dieta e formação de oxalato endógeno.....	7
2.3. Diluição urinária.....	11
2.3.1. Sódio.....	12
2.3.2. Proteína.....	14
2.4. Saturação urinária.....	15
3. HIPÓTESES.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
4.1. Animais.....	17
4.2. Delineamento experimental e manejo dos animais.....	17
4.3. Dietas experimentais.....	18
4.4. Digestibilidade, balanço de nitrogênio e amônia urinária	23
4.5. Parâmetros urinários e supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio e estruvita.....	24

4.6. Balanço hídrico.....	26
4.7. Hemogasometria.....	26
4.8. Pressão Arterial Sistólica.....	27
4.9. Análise estatística.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
6. CONCLUSÃO.....	41
7. REFERÊNCIAS.....	42
APÊNDICE.....	51

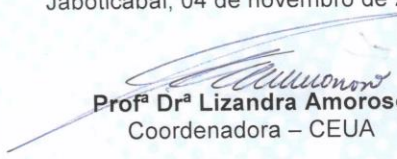
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "**Dietas com diferentes teores de carboidratos, proteína, hidroxiprolina e sódio para gatos: efeito no metabolismo e produção de oxalato**", protocolo nº 16.042/16, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 04 de novembro de 2016.

Vigência do Projeto	10/11/2016 a 01/03/2018
Espécie / Linhagem	Gato / SRD
Nº de animais	56
Peso / Idade	4,5 kg
Sexo	Machos E Fêmeas
Origem	Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos "Prof. Dr. Flávio Prada" – FCAV/Jaboticabal.

Jaboticabal, 04 de novembro de 2016.


Prof.ª Dr.ª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

EFEITOS DA RELAÇÃO AMIDO: PROTEÍNA, DA HIDROXIPROLINA E DO SÓDIO NA PRODUÇÃO DE URINA E EXCREÇÃO RENAL DE OXALATO E CÁLCIO EM GATOS

RESUMO – O presente estudo avaliou diferentes ingestões de amido, proteína, hidroxiprolina e sódio sobre o balanço hídrico, formação e excreção de oxalato, excreção renal de cálcio e a SSR OxCa e estruvita em gatos. Para isto, foram formuladas 8 dietas experimentais: 1 - baixa proteína (alto amido), hidroxiprolina e Na; 2 - baixa proteína (alto amido), alta hidroxiprolina e baixo Na; 3 - baixa proteína (alto amido), baixa hidroxiprolina e alto Na; 4 - baixa proteína (alto amido), alta hidroxiprolina e Na; 5 - alta proteína (baixo amido) e hidroxiprolina e baixo Na; 6 - alta proteína (baixo amido), baixa hidroxiprolina e baixo Na; 7 - alta proteína (baixo amido), baixa hidroxiprolina e alto Na; 8 - alta proteína (baixo amido), hidroxiprolina e Na. O experimento foi realizado em DIC, em esquema fatorial 2x2x2 (dois níveis, alto e baixo, de relação proteína:amido, de sódio e de hidroxiprolina), totalizando 8 dietas, 56 gatos, 7 gatos por dieta. Os gatos receberam os alimentos experimentais por 21 dias, sendo adaptados às dietas por 10 dias, seguidos de 8 dias de coleta total de fezes e urina. No dia 19 e 20 foi realizada hemogasometria, com coleta de sangue em jejum (19 dia) e 8h após expostos aos alimentos (20 dia). No dia 1 e 21, foi mensurada PAS pelo método Doppler. Na urina foi aferido o pH, volume, densidade, macrominerais, oxalato, citrato, ácido úrico e amônia. Com base nestes resultados foram calculadas as SSR OxCa e estruvita. Os dados foram submetidos à análise de variância, médias comparadas pelo teste de Tukey e contrastes de interesse ($P < 0,05$). A PAS não diferiu entre as dietas experimentais e tempos basal vs final, confirmando que a curto prazo dietas de alto Na não causam hipertensão nos gatos. O pH urinário foi mais alcalino nas dietas com maior teor de proteína, evidenciando que esta, por si só, não é responsável pela acidificação do pH da urina. O consumo de alta proteína e Na aumentaram excreção de água e alteraram a densidade da urina de modo oposto, no qual, dietas de alta proteína aumentaram a densidade devido sua carga osmótica e as de alto sódio reduziram pela maior excreção de água livre, contudo, o maior volume urinário não foi compensado pelo aumento da ingestão hídrica ($P > 0,05$). O consumo das dietas de alto Na aumentou a excreção renal de Ca em 25% e reduziu a excreção renal de citrato, ambos fatores podem contribuir para formação de urólitos de OxCa. Gatos consumindo alto amido e hidroxiprolina apresentaram aumento na concentração urinária e excreção renal de oxalato e SSR OxCa, evidenciando a problemática no consumo desses nutrientes quando se trata de urolíase por oxalato de cálcio. Com isso, conclui-se que as dietas com proteína e Na elevados promovem diurese em gatos. O consumo de alimentos com elevado amido e hidroxiprolina induziu aumento da formação de oxalato endógeno, verificado pelo aumento da excreção renal e da concentração urinária de oxalato pelos gatos, fatores que resultaram em maior SSR OxCa. O consumo de dietas com Na elevado aumentou a excreção renal de Ca e reduziu a de citrato, assim, mesmo tendo induzido diurese não reduziu a SSR OxCa. Por outro lado, essa elevação do Na do alimento reduziu a SSR para estruvita, em função da diurese com redução do teor de P da urina.

Palavras-chave: dieta, diurese, felino, saturação urinária, urólito

EFFECTS OF STARCH: PROTEIN RELATION, OF HYDROXYPROLINE AND SODIUM IN URINE PRODUCTION AND RENAL OXALATE AND CALCIUM EXCRETION IN CATS

ABSTRACT – The present study evaluated different intakes of starch, protein, hydroxyproline and sodium on water balance, oxalate formation and excretion, renal calcium excretion and RSS OxCa and struvite in cats. For this, 8 experimental diets were formulated: 1 - low protein (high starch), hydroxyproline and Na; 2 - low protein (high starch), high hydroxyproline and low Na; 3 - low protein (high starch), low hydroxyproline and high Na; 4 - low protein (high starch), high hydroxyproline and Na; 5 - high protein (low starch) and hydroxyproline and low Na; 6 - high protein (low starch), low hydroxyproline and low Na; 7 - high protein (low starch), low hydroxyproline and high Na; 8 - high protein (low starch), hydroxyproline and Na. The experiment was carried out in CRD, with a 2x2x2 factorial scheme (two levels, high and low, protein: starch ratio, Na and hydroxyproline), totaling 8 diets, 56 cats, 7 cats per diet. Cats received experimental feed for 21 days, were adapted to the diets for 10 days, followed by 8 days of total fecal and urine collection. On day 19 and 20, blood gas analysis was performed, blood was collected fasting (19 day) and 8h after exposure to food (20 day). On days 1 and 21, SBP was measured by the Doppler method. In urine, were measured pH, volume, density, macrominerals, oxalate, citrate, uric acid and ammonia. Based on these results RSS CaOx and struvite were calculated. Data were subjected to analysis of variance, means compared by Tukey test and contrasts of interest ($P < 0.05$). SBP did not differ between experimental diets and baseline vs final times, confirming that in short term Na does not increase blood pressure in cats. Urinary pH was more alkaline in diets with higher protein content, evidencing that this alone is not responsible for acidifying urine pH. Consumption of high protein and Na increased water excretion and altered urine density in the opposite way, which high protein increased density due to its osmotic load and high Na reduced by higher free water excretion, however, the increased on urinary volume was not compensated by increased water intake ($P > 0,05$). Consumption of high Na diets increased renal Ca excretion by 25% and reduced renal excretion of citrate, both factors may contribute to the formation of calcium oxalate uroliths. Cats consuming high starch and hydroxyproline showed increased urinary concentration and renal excretion of oxalate and RSS OxCa, highlighting the problem in the consumption of these nutrients when it comes to calcium oxalate urolithiasis. Thus, it was concluded that high protein and Na diets promote diuresis in cats. Consumption of high starch and hydroxyproline foods induced an increase in endogenous oxalate formation, verified by the increase of renal excretion and urinary oxalate concentration in cats, factors that resulted in higher RSS OxCa. Consumption of high Na diets increased renal Ca excretion and reduced citrate excretion, so even though induced diuresis did not reduce RSS OxCa. On the other hand, this increase in food Na reduced the RSS for struvite, due to diuresis with reduced in urine P content.

Keywords: diets, diuresis, feline, urinary saturation, urolith

LISTA DE ABREVIATURAS

DTUIF	Doenças do trato urinário inferior de felinos
SSR	Supersaturação relativa da urina
SSR OxCa	Supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio
MS	Matéria seca
PB	Proteína bruta
GR/HPR	Glioxilato redutase/Hidroxipiruvato redutase
AGT1	Alanina:glioxilato aminotransferase 1
L-LDH	L-Lactato desidrogenase
ADH	Hormônio antidiurético
ANP	Peptídeo natriurético atrial
BN	Balanço de nitrogênio
PAS	Pressão arterial sistólica

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Fórmula das dietas experimentais.....	20
Tabela 2. Composição química analisada das dietas experimentais.....	21
Tabela 3. Peso corporal, ingestão de matéria seca e balanço de nitrogênio de gatos alimentados com as dietas experimentais....	31
Tabela 4. pH e densidade aparente da urina de gatos alimentados com as dietas experimentais.....	31
Tabela 5. Balanço hídrico de gatos alimentados com as dietas experimentais.....	33
Tabela 6. Supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio e estruvita e concentração de cálcio, sódio, oxalato, citrato e uréia na urina de gatos alimentados com as dietas experimentais.....	35
Tabela 7. Excreção renal de cálcio, sódio, oxalato, citrato e uréia de gatos alimentados com as dietas experimentais.....	36

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Composição dos urólitos provenientes de gatos submetidos ao Centro de Urólitos de Minnesota, EUA, de 1981 a 2011. MAP= Estruvita; CaOx= Oxalato de Cálcio; Cap= Fosfato de cálcio; Purine= ácido úrico, sais de ácido úrico e xantina; Matrix= material proteico e sangue seco; Other= outros tipos. Fonte: Lulich e Osborne, 2012.....	7
Figura 2. Produção endógena de oxalato a partir de hidroxiprolina (situação A) e açúcares (situação B), pela a via do glioxilato no hepatócito felino. Fonte: Dijcker et al., 2011.....	10
Figura 3. Esquema dos procedimentos experimentais durante os 21 dias de estudo.....	18

1. INTRODUÇÃO

Há crescente debate em torno da alimentação adequada para cães e gatos, que é acompanhado por tendência do mercado mundial para as dietas ditas naturais e a humanização desses animais. Em se tratando de felinos, os questionamentos são ampliados, especialmente sobre as dietas processadas com elevados teores de carboidratos e seus efeitos sobre a saúde do animal. A nutrição que antes era responsável por garantir apenas sobrevivência e saciedade, atualmente, precisa atender essa nova demanda de mercado aliando nutrição e saúde.

Dentre os diversos desafios da nutrição felina estão as implicações dos nutrientes dos alimentos nas urolitíases, que influenciam diretamente a saúde do trato urinário destes animais, sendo os urólitos de estruvita e oxalato de cálcio os mais comumente encontrados em gatos. A formação dos cálculos é acompanhada por vários fatores, para oxalato de cálcio, por exemplo, alguns são relacionados aos alimentos, como o consumo de amido, hidroxiprolina, sódio e proteína, já descritos anteriormente por pesquisadores da área. Contudo, nenhum estudo avaliou o efeito conjunto desses nutrientes sobre a modulação dos parâmetros urinários, especificamente os fatores que predispõem à formação de urólitos, e poucos estudos elucidam as implicações do uso da proteína como diurético, com possíveis benefícios na prevenção dos urólitos de oxalato de cálcio e consequentes efeitos sobre a formação dos urólitos de estruvita em gatos.

O conhecimento da influência do consumo de amido, proteína, sódio e hidroxiprolina sobre a excreção renal de oxalato e supersaturação relativa da urina (**SSR**), permitirá compreender melhor o papel da composição química dos alimentos extrusados na formação e prevenção dos urólitos em felinos. Com isso será possível auxiliar empresas e profissionais da área a formular alimentos que reduzam a incidência dessa doença e colaborem com a saúde e qualidade de vida desses animais.

Diante do exposto, o presente estudo teve por objetivo avaliar, em dietas secas extrusadas para gatos, o efeito de diferentes ingestões de amido, proteína, hidroxiprolina e sódio sobre o balanço hídrico, excreção renal de oxalato e de cálcio e a SSR para os urólitos de oxalato de cálcio e estruvita.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Doenças do trato urinário inferior de felinos e Urolitíase

Doença do trato urinário inferior de felinos (**DTUIF**) é um termo usado para descrever inflamações que afetam a bexiga ou uretra dos gatos, podendo estar associada a sinais clínicos como disúria, hematúria, polaciúria, estrangúria e periúria. Maior propensão à ocorrência das DTUIF está associada a faixa de idade de 1 a 10 anos. As manifestações mais comuns, estão associadas à cistite idiopática felina (55%–64%), urolitíase (15%–21%), *plugs* uretrais (10%–21%), defeitos anatômicos (10%), desordens ambientais (9%), neoplasia (1%–2%) e infecção do trato urinário (1%–8%) (Gerber et al., 2005; Forrester e Roudebush, 2007; Forrester et al., 2010; Tion et al., 2015; Kaul et al., 2019).

A urolitíase, segunda maior causa das DTUIF, é definida como a formação de urólitos em qualquer parte do trato urinário a partir de cristaloides menos solúveis (Tion et al., 2015), resultado de múltiplos processos fisiológicos ou patológicos herdados, congênitos e/ou adquiridos (Osborne et al., 1996; Osborne et al., 2010). Essa desordem pode ser causada por diferentes tipos de agregados minerais. A identificação da composição dos urólitos é de extrema importância, pois irá definir o manejo dietético e/ou tratamento, uma vez que este não é igual para todos os agregados (Case, 2012).

A idade é um dos fatores relacionados a formação de urólitos e tipo de cálculo a ser formado. A urolitíase tem maior ocorrência em animais adultos, raramente encontrada em gatos com menos de 1 ano de idade. Em geral urólitos de estruvita são mais comumente encontrados em animais mais jovens, menos de 4 anos de idade, e os urólitos de oxalato de cálcio em animais mais velhos, com mais de 7 anos de idade (Thumchai et al., 1996; Lekcharoensuk et al., 2000; Cannon et al., 2007).

Além da idade, outros fatores como o sexo, raça e condição reprodutiva podem predispor o animal a formação de urólitos. Estudos mostram que fêmeas tem maior prevalência de urolitíase por estruvita e os machos por oxalato de cálcio (Willeberg, 1975; Lekcharoensuk et al., 2000; Houston et al., 2003; Hunprasit et al., 2019). Alguns autores demonstraram que algumas raças de gatos são mais

predispostas a urolitíase (Kirk et al, 1995; Thumchai et al., 1996; Lekcharoensuk et al., 2000; Cannon et al., 2007; Hunprasit et al., 2019). Em estudo de Lekcharoensuk et al. (2000), as raças de gatos British Shorthair, Shorthair Exótico, Havana Brown, Persa e Scottish Fold apresentaram maior risco de formar urólitos de oxalato de cálcio enquanto que Chartreux, Shorthair Doméstico e Shorthair Oriental tem maior chance de formação de urólitos de estruvita. Contudo, as informações contidas nos estudos que relacionam raças e tipos de urólitos ainda são controversas. Gatos castrados, sejam estes machos ou fêmeas, possuem maior chance de desenvolver urolitíase comparado a gatos não castrados (Lekcharoensuk et al., 2000).

2.1.1. Formação dos urólitos

Os urólitos são formados em duas fases complementares, a de iniciação, com a formação de microcristais, sedimentos microscópicos, e a de crescimento, com a agregação dos cristais no trato urinário dando origem aos precipitados macroscópicos, definidos como urólitos (Allen e Kruger, 2000).

O processo de iniciação parece não ser o mesmo para todos os tipos de urólitos, assim como os fatores de iniciação podem ser diferentes dos fatores que permitem seu crescimento (Allen e Kruger, 2000; Osborne et al., 2010). Essa fase inicial da formação do urólito, também conhecida como nucleação, é dependente da supersaturação da urina com substâncias calculogênicas. A nucleação também é diretamente influenciada pelo pH e temperatura da urina, presença ou ausência de fatores inibidores (citrato, magnésio, glicoproteínas) ou promotores de cristalização (proteínas, bactérias, outros cristais), bem como a capacidade de excreção renal dos cristaloides (Osborne et al., 1996).

Três teorias foram propostas a fim de explicar o início da litogênese, iniciação ou nucleação: teoria da supersaturação-cristalização, teoria da nucleação de matriz e teoria da inibição da cristalização (Osborne e Kruger, 1984).

1) *Teoria da supersaturação-cristalização*: sugere que a formação dos urólitos depende da supersaturação da urina com minerais e metabólitos litogênicos. Nesta teoria os cristais precipitam-se e ocorre a nucleação, independente de matriz pré-formada ou inibidores de cristalização.

2) *Teoria de nucleação da matriz*: preconiza que a nucleação é dependente da presença das mucoproteínas agindo como núcleo inicial, provocando a agregação dos cristais sobre estas.

3) *Teoria da inibição da cristalização*: propõe que a formação dos cálculos, é dependente da redução de inibidores da cristalização, principalmente para os cálculos de oxalato de cálcio e fosfato de cálcio, visto que inibidores são importantes na minimização da agregação de cristais e crescimento.

Contudo, em todas as teorias previamente apresentadas, a presença de supersaturação da urina para com os componentes do cristal, é pré-requisito para a nucleação. A urina estando supersaturada vai ocorrer a nucleação, cristalização, agregação, crescimento e por fim o urólito maduro será formado no trato urinário dos gatos (Osborne et al., 2010). Além disso, agregação e crescimento dos cristais vai depender do tempo de retenção destes no trato urinário e da duração do período de supersaturação da urina (Osborne et al., 2000).

2.1.2. Principais tipos de urólitos

Diversos tipos de urólitos podem ser formados a partir da junção de dois ou mais compostos litogênicos. Em gatos, o urólito de estruvita, ou fosfato amônio magnésiano, é o de maior incidência, seguido pelo urólito de oxalato de cálcio (Cannon et al., 2007; Picavet et al. 2007; Houston e Moore 2009; Lulich e Osborne, 2012). Juntos, os cálculos de estruvita e oxalato de cálcio representam de 80 a 90% dos cálculos encontrados em gatos (Bartges e Callens, 2015). Outros urólitos verificados com menos frequência nos gatos são os de urato de amônio, xantina, cistina, fosfato de cálcio e sílica (Case, 2012).

A formação do urólito de estruvita está relacionada a diversos fatores dentre eles, infecções do trato urinário (mais comum em cães) ou aspectos relacionados à composição dos alimentos (Osborne et al., 1996; Grauer, 2015). Para o urólito de estruvita, a quantidade de magnésio e fósforo da dieta e, principalmente, o pH urinário decorrente do consumo do alimento, são os principais fatores de risco (Forrester e Roudebush, 2007; Grauer, 2015). Sua formação está associada ao pH urinário alcalino com valores acima de 6,8 (Lekcharoensuk et al., 2001; Forrester et al., 2010; Grauer, 2015). Esse tipo de urólito pode ser prevenido e tratado por meio

da manipulação dietética. Alimentos com baixo magnésio e fósforo e que gere um pH urinário menor 6,3 são os ideais para gatos com esse tipo de cálculo (Lekcharoensuk et al., 2001).

O urólito de oxalato de cálcio, segundo mais encontrado na casuística mundial, também tem sua formação associada a diversos fatores, muitos desses ainda desconhecidos (Hunprasit et al., 2019). Assim como o urólito de estruvita (Forrester et al., 2010; Lulich et al., 2016), existe relação entre a nutrição e formação do composto oxalato de cálcio (Forrester et al., 2010). A dieta possui diversos fatores de risco capazes de modificar parâmetros urinários importantes, os quais influenciam na formação deste cálculo. A nucleação e crescimento do urólito de oxalato de cálcio está associada ao pH urinário ácido (<6,3) (Kirk et al, 1995; Lekcharoensuk et al., 2001).

Apesar do pH urinário ser um fator importante na formação do urólito de oxalato de cálcio, alguns componentes da dieta podem ser decisivos na litogênese desse cálculo. Autores, como Zentek e Shulz (2004) e Dijcker et al. (2012), estudaram alguns ingredientes e nutrientes que possivelmente influenciam a formação desse urólito, dentre eles as proteínas ricas em colágeno, por conterem elevada hidroxiprolina na sua composição, e o amido. Foi verificado nesses estudos que os ingredientes que contêm altas concentrações de hidroxiprolina e de amido, podem elevar as chances dos gatos, principalmente os predispostos a essa condição, a formar os urólitos de oxalato de cálcio.

2.1.3. Epidemiologia dos urólitos de estruvita e oxalato de cálcio

Ao longo dos anos foram observadas mudanças na composição dos urólitos encontrados em gatos (Cannon et al., 2007; Picavet et al. 2007). Avaliação epidemiológica realizada de 1981 a 2011, no Centro de Urólitos de Minnesota (Universidade de Minnesota, EUA), observou que a maior parte de urólitos encontrados nos felinos, no início dos anos 80, era de estruvita (78%), enquanto apenas 2% era oxalato de cálcio (Figura 1). Entre 1994 a 2002 essa relação começa a mudar, aproximadamente 55% dos urólitos dos gatos passa a ser composto por oxalato de cálcio e 33% por estruvita. Grande parte das teorias que tentam justificar essa mudança giram em torno da relação contrária quanto à formação destes dois

urólitos com relação ao pH da urina. Na tentativa de se prevenir e tratar o urólito de estruvita, formado em pH alcalino, buscou-se acidificar o pH urinário dos gatos com a produção das chamadas “dietas acidificantes”, o que poderia vir a explicar o aumento dos cálculos de oxalato de cálcio, formado em pH ácido, visto que esses alimentos poderiam promover meio adequado para formação desses cristais (Forrester et al., 2010; Lulich e Osborne, 2012).

Em 2003 começa a cair a incidência de urólitos de oxalato de cálcio (47%) e aumentar de estruvita (42%). No ano de 2004, a relação é praticamente a mesma, e nos anos seguintes, 2005 a 2011, os urólitos de estruvita superam novamente os de oxalato de cálcio. O aumento da frequência dos urólitos de estruvita, de 2003 a 2011, pode estar associado à redução do uso indiscriminado de dietas de dissolução de cálculos de fosfato amônio magnésiano, baseado no aumento dos urólitos de oxalato de cálcio que ocorreu nas décadas de 80 e 90 (Lulich e Osborne, 2012).

Diversos centros especializados em cuidados de animais com urolitíase fizeram este tipo de compilado (Cannon et al., 2007; Picavet et al., 2007; Houston e Moore 2009). Os valores encontrados por esses autores, para as relações estruvita:oxalato de cálcio ao longo desses anos, foram semelhantes aos encontrados no Centro de Urólitos de Minnesota.

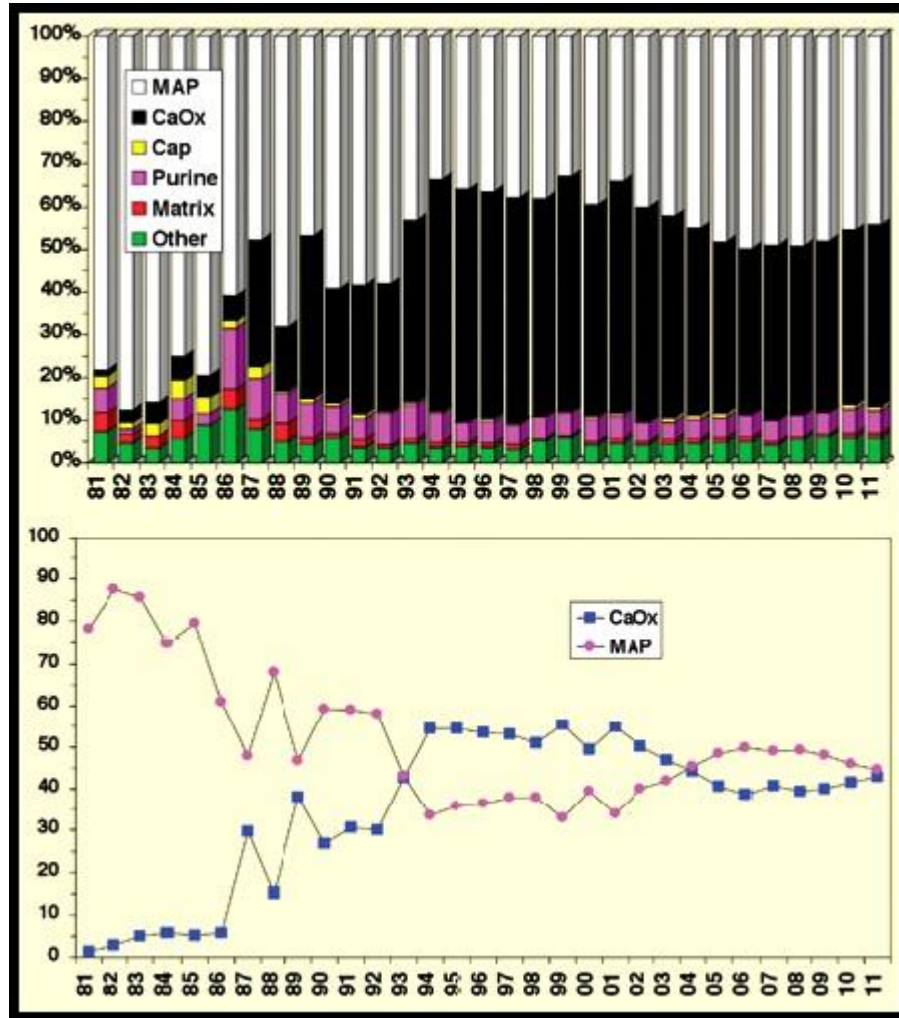


Figura 1. Composição dos urólitos provenientes de gatos submetidos ao Centro de Urólitos de Minnesota, EUA, de 1981 a 2011. MAP= Estruvita; CaOx= Oxalato de Cálcio; Cap= Fosfato de cálcio; Purine= ácido úrico, sais de ácido úrico e xantina; Matrix= material proteico e sangue seco; Other= outros tipos. Fonte: Lulich e Osborne, 2012.

2.2. Dieta e formação endógena de oxalato

Dispor de nutrição adequada para os gatos formadores de urólitos é indispensável a fim de evitar a necessidade de uso de procedimentos invasivos para remoção dos cálculos, bem como recidivas. Isso porque fatores relacionados ao alimento podem influenciar diretamente na formação e prevenção da urolitíase por afetarem os parâmetros urinários volume, pH e gravidade específica da urina (Markwell et al., 1998; Carciofi et al., 2005).

Gatos domésticos são carnívoros verdadeiros, com dieta natural baseada em pequenos mamíferos, pássaros e insetos, resultando em elevado consumo de

proteína e água, moderada gordura e pouco carboidrato (Zoran, 2002; Zoran e Buffington, 2011). Com a domesticação a dieta dos gatos vem sendo alterada, estes que se alimentavam de presas compostas por 55,8% de proteína bruta (**PB**), 23,6% de gordura, 8,8% de extrativos não nitrogenados e 11,8% de cinzas na matéria seca (**MS**), com cerca de 67% de umidade (Dierenfeld et al., 2002), passaram a ingerir menos proteína, alta quantidade de carboidratos e menos água via alimentos comerciais secos (Verbrugghe et al., 2012).

Cerca de 95% das rações secas são extrusadas (Spears e Fahey, 2004; Tran et al., 2008). Alimentos comerciais secos extrusados para felinos contêm de 25% a 60% de carboidratos em sua composição (de Oliveira et al., 2008), sendo a maior parte amido. O amido é muito usado em *petfood* por ter adequado valor nutritivo e baixo custo comparado à proteína e gordura. Além disso, para que o processo de extrusão ocorra adequadamente resultando em um *kibble* de qualidade, expandido, com textura adequada, é necessária a inclusão deste. O cozimento ou gelatinização do amido durante a extrusão, junto com outros fatores, muda a conformação da massa permitindo expansão adequada do produto final e consequente textura desejada do *kibble* (Spears e Fahey, 2004; Baller et al., 2018).

Os gatos são capazes de digerir eficientemente os carboidratos, com digestibilidade aparente superior a 95% em alimentos extrusados (de Oliveira et al., 2008). A digestibilidade, no entanto, pode variar e dependendo da fonte e processamento situa-se no intervalo de 40 a 100% (Morris et al., 1977; de Wilde e Huysentruyt, 1983; Kienzle, 1993; de Oliveira et al., 2008; Verbrugghe et al., 2012; Bazolli et al., 2015). Contudo, por não ser um nutriente essencial na dieta dos felinos, o amido vem sendo investigado como possível contribuinte para a formação de urolitíase por oxalato de cálcio nos gatos (Ribaya-Mercado and Gershoff, 1984; Nguyen et al., 1995; Dijcker et al., 2011; Pedreira, 2015).

O amido é formado pela união de várias moléculas de glicose que, por sua vez, é um dos açúcares precursores de oxalato na via do glioxilato, considerada uma das principais rotas na formação de oxalato endógeno em gatos (Behnam et al. 2006). Adicionalmente, alimentos ricos em amido, com menos proteína, podem promover aumentos na saturação urinária devido à menor excreção renal de água (Dijcker et al., 2011; Pedreira, 2015; Mendonça et al., 2018).

Além do amido, outros precursores do oxalato são o glicolato alimentar, açúcares como galactose e frutose e alguns aminoácidos, dentre eles a hidroxiprolina, glicina e serina. Estes aminoácidos também fazem parte da via do glioxilato. A hidroxiprolina está presente em grande quantidade no colágeno, o que tem levado alguns autores a incriminar o elevado consumo de proteína de origem animal rica em colágeno, como possível fator de risco para a formação de oxalato de cálcio em gatos (Zentek et al., 2004; Dijcker et al., 2012). Li et al. (2011) analisaram o perfil dos aminoácidos essenciais e não essenciais dos principais ingredientes usados na alimentação animal, incluindo o conteúdo de hidroxiprolina. Os autores verificaram que gelatina (colágeno), farinha de penas, farinha de subproduto de aves, farinha de carne e ossos e farinha de peixe são ingredientes que podem fornecer quantidades relevantes de hidroxiprolina, 12,8%, 5%, 3,3 %, 2,9% e 1,9%, respectivamente. A proteína isolada de suíno, ou farinha de torresmo, também contém elevado teor de hidroxiprolina em sua composição, cerca de 5,8% na MS (Mendonça et al., 2018). Alguns desses ingredientes são muito populares nas indústrias de ração *pet*, com isso, seu uso e porcentagem de inclusão em dietas para gatos deve ser estabelecido com cautela, considerando-se as possíveis implicações para a produção de oxalato, particularmente para dietas destinadas à manutenção da saúde urinária de gatos.

Tanto a glicose oriunda do amido, quanto a hidroxiprolina, podem ser convertidas a glioxilato no hepatócito felino. Quando o glioxilato está disponível no hepatócito e não é reduzido a glicolato pela enzima glioxilato redutase/hidroxipiruvato redutase (**GR/HPR**), ou transaminado a glicina pela ação da enzima alanina:glioxilato aminotransferase 1 (**AGT1**), este será oxidado a oxalato através da L-Lactato desidrogenase (**L-LDH**) (Behnam et al., 2006). A Figura 2 mostra a formação de oxalato endógeno pela via do glioxilato no hepatócito felino em duas situações: A- alto consumo de hidroxiprolina; B- alto consumo de açúcares (Dijcker et al., 2011).

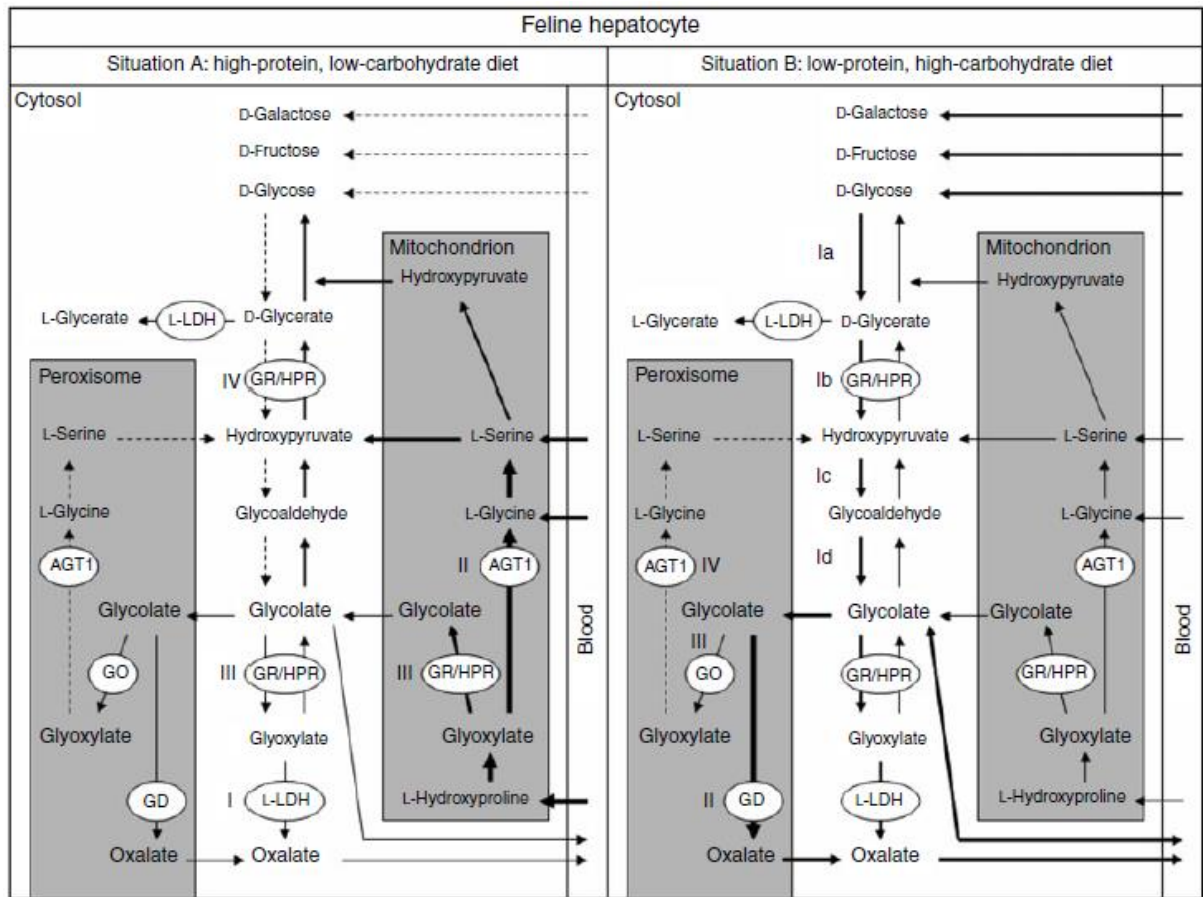


Figura 2. Produção endógena de oxalato a partir de hidroxiprolina (situação A) e açúcares (situação B), pela via do glicoxilato no hepatócito felino. Fonte: Dijcker et al., 2011.

A hidroxiprolina é degradada principalmente nas mitocôndrias do hepatócito felino, onde estão localizadas as enzimas envolvidas na conversão da hidroxiprolina em glicoxilato (Situação A, Figura 2; Holmes e Assimos, 1998). Em condições normais, o glicoxilato formado pela hidroxiprolina participa da gliconeogênese, onde é convertido em L-glicina pela AGT1 e, posteriormente, em L-serina, hidroxipiruvato e açúcares. Quando em excesso, o glicoxilato é convertido a glicolato pelas enzimas GR/HPR e extravasa a membrana da mitocôndria, servindo de substrato para enzimas presentes no citosol, GR/HPR e L-LDH, resultando na formação e excreção de oxalato na urina (Takayama et al., 2003; Dijcker et al., 2012; Jiang et al., 2012).

Em condições de alto consumo de açúcares, estes serão convertidos por enzimas a D-glicerato no citosol do hepatócito. Posteriormente o D-Glicerato será convertido a hidroxipiruvato que, por sua vez, será transformado em glicolaldeído e posteriormente a glicolato. O glicolato, formado pelo excesso de consumo de

açúcares, pode ser reduzido a glioxilato pela ação da enzima GR/HPR e oxidado a oxalato pela L-LDH, sendo eliminado na urina. Outro caminho que o glicolato pode seguir, quando em excesso, é entrar nos peroxissomos e sofrer a ação da glicolato desidrogenase e ser convertido a oxalato por não haver meios para promover sua detoxificação nesta organela. A detoxificação é um mecanismo que converte o glioxilato em L-Glicina, L-Serina e hidroxipiruvato, dependente da enzima AGT1, que em felinos está presente somente na mitocôndria (Lumb et al., 1994). A localização da enzima AGT1 pode ser explicada devido ao hábito alimentar dos carnívoros. Diferentemente dos herbívoros, que necessitam dessa via bem desenvolvida para evitar a oxidação à oxalato, os felinos, devido ao baixo consumo de carboidratos e glicolato durante o processo evolutivo, provavelmente dispensaram a existência de sistema de detoxificação do glioxilato nos peroxissomos (Dijcker et al., 2011).

O oxalato é produto final do metabolismo, sem funcionalidade ao organismo, portanto excretado em sua totalidade através da filtração glomerular (Holmes et al. 2005; Knight et al., 2007). As grandes concentrações no trato urinário torna o oxalato mais disponível para se ligar ao cálcio e formar o urólito indissolúvel de oxalato de cálcio (Dijcker et al., 2011).

2.3. Diluição urinária

Além dos fatores de risco citados anteriormente, o consumo de alimento extrusado seco, muito popular entre os proprietários atualmente, pode estar relacionado à formação de cristais (Lekcharoensuk et al., 2001). Na natureza boa parte da água ingerida pelos felinos é proveniente do alimento, maior parte da composição de suas presas (Dierenfeld et al., 2002). Gatos tem menor resposta à sede e desidratação que cães e outros animais onívoros (NRC, 2006), o que faz com que não consumam grandes quantidades de água quando alimentados com alimentos secos (Anderson et al., 1982; Zoran, 2002; Carciofi et al., 2005).

Com a popularização de dietas secas no mercado, especula-se que os felinos talvez estejam ingerindo menos água do que deveriam. Essa redução no consumo hídrico afeta diretamente o volume de urina produzido e conseqüentemente a concentração urinária de solutos. Aumentos na concentração de algumas substâncias na urina tendem a influenciar outro fator de risco importante para a

urolitíase, a saturação urinária, mensurada por meio da SSR (Allen e Kruger, 2000; Hostutler et al., 2005).

Um dos caminhos para se reduzir o risco do animal produzir urina supersaturada é promover aumento da excreção renal de água, diluindo os compostos litôgenicos presentes na urina. Maior excreção renal de água com consumo de dietas secas pode ser obtida por aumentos da ingestão de sódio ou proteína pelo alimento (Hashimoto et al., 1995; Hawthorne and Markwell, 2004).

2.3.1. Sódio

O sódio é o principal cátion do fluido extracelular (Morais e Dibartola, 2008; Dibartola, 2012). Alterações nas concentrações plasmáticas de sódio modificam a osmolaridade do plasma, desencadeando mecanismos de regulação que estão amplamente ligados aos rins como arginina-vasopressina, renina-angiotensina-aldosterona e peptídeos natriuréticos. Esses mecanismos ajustam a ingestão e excreção de água e sódio, a fim de restaurar a osmolaridade plasmática a concentrações normais (Hall, 2011a, b; Nguyen et al., 2017).

A arginina-vasopressina, também conhecida como hormônio antidiurético (**ADH**), desempenha papel importante no controle da excreção de sódio e água. Esse hormônio, é secretado pela hipófise posterior em casos de redução do volume de sangue circulante e pressão arterial. Sua função é aumentar a permeabilidade dos ductos para aumentar a reabsorção de água pelos rins, sendo especialmente importante durante a privação de água. Os mecanismos de liberação desse hormônio também estimulam a sede nos animais, aumentando o consumo hídrico e a quantidade de água livre. Quando ocorre a homeostase e a osmolaridade retorna aos níveis normais, há redução na secreção de ADH com consequente diminuição da reabsorção de água pelos rins, ajudando a eliminar o excesso de volume do corpo e aumentar a diluição urinária (Hall, 2011a).

O sistema renina-angiotensina é um dos reguladores mais poderosos da reabsorção e excreção de sódio do corpo. Esse sistema é ativado pela ação da enzima renina, liberada pelos rins, e resulta na ativação do angiotensinogênio, liberado pelo fígado, em angiotensina I. Pela a ação da enzima conversora da angiotensina, ocorre a formação da angiotensina II, que é a responsável pela

regulação do sódio e da água. A elevada ingestão de sódio, promove redução da secreção de renina, causando diminuição da formação de angiotensina II. Como a angiotensina II atua sobre a reabsorção tubular de sódio, o nível reduzido desta diminui a reabsorção deste macroelemento e de água, aumentando assim a excreção renal de ambos. Esse mecanismo é ativado a fim de minimizar o aumento no volume de fluido extracelular e pressão arterial. Em casos de baixa ingestão de sódio, a angiotensina II estará presente em grandes concentrações no organismo promovendo ação contrária a anteriormente citada, ou seja, maior retenção de sódio e água a fim de aumentar o volume sanguíneo e pressão arterial. O sistema renina-angiotensina ainda estimula a liberação de aldosterona, sendo chamado, na maior parte das vezes, de renina-angiotensina-aldosterona. A aldosterona, hormônio produzido na zona glomerulosa do córtex das adrenais, tem ação semelhante a angiotensina II. Sua função é promover a reabsorção de sódio e água com consequente aumento na excreção urinária de potássio (Hall, 2011b).

O peptídeo natriurético atrial (**ANP**) pode contribuir para a regulação do volume e pressão arterial, contudo, tem ação contrária a do ADH e sistema renina-angiotensina-aldosterona. O aumento do estiramento dos átrios devido excesso de volume sanguíneo, parece ser o estímulo para as fibras musculares atriais cardíacas liberarem esse peptídeo. Uma vez liberado, o ANP entra na circulação e tem ação nos rins, causando aumentos na taxa de filtração glomerular e redução da reabsorção de sódio, levando a maior excreção renal de sódio e água (Hall, 2011b; Nguyen et al., 2017).

Além da influência do sódio na diluição urinária, debate existe sobre a possibilidade da maior ingestão de sódio causar aumento da pressão arterial nos felinos, assim como é observado em humanos (Kawasaki et al., 1978; Ha, 2014). As evidências científicas são escassas, contudo, estudo como de Luckschander et al. (2004) avaliou a pressão arterial sistólica (**PAS**) de gatos saudáveis com ingestões de sódio de até 1% na MS, e não foi observada diferença estatística para esse parâmetro. De acordo com os principais guias nutricionais, NRC (2006) e FEDIAF (2016), níveis de sódio de até 1,5% na DM (3,75 g/1000 kcal ME) são considerados seguros para gatos saudáveis.

O sódio ainda está associado, em diversos estudos com humanos, ao aumento da excreção urinária de cálcio (King et al., 1964; Castenmiller et al., 1985, Massey e Whiting, 1996). Supõe-se que a alta ingestão de sódio possa estimular, em seres humanos, transportadores específicos de cálcio no túbulo distal do néfron (Lee et al., 2012). No entanto, estudo recente em felinos demonstrou compensação da maior excreção de cálcio pelo maior volume de urina produzido, com diluição da urina, podendo favorecer a prevenção da formação do urólito (Pablack et al., 2014b).

2.3.2. Proteína

O uso de elevada proteína na dieta para prevenção de urólitos ainda é controverso. Estudos de Pak (1991) e Dijcker et al. (2011) demonstraram que o aumento da proteína pode acidificar o pH da urina dos gatos devido a carga ácida advinda da metabolização dos aminoácidos sulfurados (metionina, cistina e taurina), bem como gerar aumentos na concentração de cálcio urinário e redução do citrato na urina, um dos inibidores mais importantes da formação desse urólito. Em outros dois estudos, gatos saudáveis ingerindo dietas com elevada proteína (>50% de PB na MS) tiveram aumento do consumo hídrico e volume de urina, com redução do pH urinário, sem afetar a excreção de Ca urinário (Hashimoto et al., 1996; Funaba et al., 1996). Mais recentemente, estudo de Mendonça et al. (2018) verificou que, com balanço de macronutrientes adequado na dieta, a elevação da proteína não induz acidificação do pH da urina, redução do citrato urinário e aumento na excreção renal de cálcio.

Diversos estudos correlacionam o aumento do consumo da proteína a maior diurese em gatos (Hawthorne e Markwell, 2004; Dibartola, 2012; Pablack et al., 2014a; Mendonça et al., 2018). Estudo de Pablack et al. (2014a) mostrou que gatos alimentados com elevada proteína (57% PB na MS) tiveram maior ingestão hídrica, 35,4 mL/Kg/dia, em comparação aqueles ingerindo 35% de PB na MS (29,8 mL/Kg/dia), isso porque a elevação no teor proteico da dieta vai resultar em maior produção endógena de uréia, visto que esta é produto final do catabolismo dos aminoácidos. Por ser a principal responsável pelo aumento da carga de soluto nos rins (Dibartola, 2012), a uréia, é capaz de promover diurese osmótica (Hashimoto et al., 1995; Lekcharoensuk et al., 2001). Em excesso, a ureia vai precisar de água para

ser excretada, e no filtrado glomerular, vai induzir aumentos na tonicidade, osmolalidade da urina e retenção de água no túbulo renal, ocasionando aumento do volume de urina dos gatos (Hawthorne e Markwell, 2004; Dibartola, 2012; Pablack et al., 2014b). Apesar desta informação já estar disponível, não existem muitos estudos que investigaram as possíveis implicações do aumento no consumo de proteína com relação a composição química da urina, excreção de formadores ou inibidores de cristalização e a supersaturação urinária. São necessários, também, estudos para verificar adequadamente a relação entre o sódio e a proteína na diluição urinária, principalmente estudando a relação destes dois nutrientes com a SSR de gatos alimentados com rações secas.

2.4. Saturação urinária

A supersaturação urinária com substancias calculogênicas, em muitos estudos demonstra estar relacionada como um dos principais fatores de risco para a formação de cristais e sua agregação (Robertson et al., 1968; Werness et al., 1985; Robertson et al., 2002; Hostutler et al., 2005; Houston et al., 2011). A urina é considerada supersaturada quando contém maior concentração de um cristalóide (cistina, fosfato, cálcio, amônio, entre outros) do que o solvente associado (no caso a água) seria capaz de reter normalmente em solução (Osborne et al., 2010).

Devido a sua importância na urolítiase, especialistas desenvolveram *softwares*, inicialmente para seres humanos e, posteriormente, validados e ajustados para cães e gatos. Estes calculam a SSR mediante o abastecimento com parâmetros que influenciam a probabilidade da formação de um ou mais tipos de urólitos, avaliando assim as possíveis interações entre estes (Hurley et al., 2003). No caso da supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio (**SSR OxCa**), são incorporados os valores de pH urinário, concentração de Ca, P, K, Mg, Na, Cl, S, citrato, oxalato e ácido úrico e para SSR para estruvita, além do citado anteriormente acrescenta-se a concentração de amônia da urina (Markweel et al. 1998; Allen e Kruger, 2000; Hurley et al., 2003).

Um exemplo de como um desses fatores é computado pelos *softwares* pode ser obtido com o pH urinário. O pH urinário é determinado pelo perfil de macroelementos da dieta (Ca, P, Mg, K, Na, Cl, S), quando predominam cátions o

pH da urina será alcalino e quando predominam ânions será ácido (Kienzle et al., 1991; Jeremias, 2013). Se o pH urinário é ácido, a SSR para estruvita será baixa, podendo haver a dissolução deste urólito, mas esta condição pode elevar a SSR OxCa, de modo que pH urinário muito baixo pode não ser adequado (Smith et al., 1998).

A avaliação do resultado obtido da SSR é feita pela classificação deste em três zonas pré-estabelecidas: zona de subsaturação, zona metaestável e zona de supersaturação (Hurley et al., 2003; Jeremias, 2013).

1) *Zona de subsaturação*: apresenta baixas concentrações de composto litogênicos na solução, com isso não há formação de urólitos e cristais pré-existentes podem se dissolver, com exceção dos urólitos de oxalato de cálcio que são indissolúveis. Estes, porém, não irão se agregar e crescer. O valor de SSR atribuído a urina subsaturada é menor do que 1,0.

2) *Zona metaestável*: caracterizada por não propiciar a formação de novos urólitos, contudo, cálculos já existentes na solução podem crescer. Nessa zona, a dissolução de cristais não ocorre. Os valores de SSR atribuídos a esta faixa são de 1 a 12 para oxalato de cálcio e entre 1 e 2,5 para estruvita.

3) *Zona de supersaturação*: é a zona de maior importância para urolitíase. É quando a urina está altamente propícia à formação, agregação e crescimento de cristais. Os resultados de SSR correspondente à esta zona são maior do que 12 para oxalato de cálcio e 2,5 para estruvita.

3. HIPÓTESES

O consumo de alimentos com maiores quantidades de amido ou de hidroxiprolina induzirá aumento da concentração de oxalato na urina, resultando em maior SSR OxCa. O maior consumo de proteína ou sódio aumentará a produção de urina, compensada por maior ingestão de água, com conseqüente redução da SSR OxCa. Aumento da ingestão de sódio acarretará maior excreção renal de cálcio, no entanto a maior diluição da urina promoverá redução da SSR OxCa, bem como da SSR para estruvita.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal. Todos os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) desta mesma instituição (Protocolo número 16.042/16).

4.1. Animais

Foram utilizados 56 gatos adultos ($6,3 \pm 5,5$ anos), sendo 28 machos e 28 fêmeas, sem raça definida, castrados, com peso médio de $4,10 \pm 0,55$ kg e escore de condição corporal de $5,04 \pm 0,94$, em escala de 1 a 9 (Laflamme, 1997). Todos os animais estavam clinicamente sadios, desverminados e vacinados, de acordo com os procedimentos sanitários adotados pelo supracitado laboratório. Estes foram aleatoriamente alocados em uma das oito dietas experimentais.

4.2. Delineamento experimental e manejo dos animais

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com tratamentos em esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$ (dois níveis - alto e baixo - de relação proteína:amido, de sódio e de hidroxiprolina), totalizando oito rações (dietas experimentais). Os 56 gatos foram aleatoriamente distribuídos nas 8 rações, totalizando 7 gatos por ração. Os gatos receberam os alimentos experimentais por 21 dias, sendo adaptados às dietas por um período de 10 dias, seguidos de 8 dias de coleta total de fezes e urina. No 19° e 20° dia foi realizada hemogasometria dos animais, para isto sangue foi coletado em jejum (19° dia) e oito horas após expostos aos alimentos (20° dia). No dia 1° e 21°, foi mensurada PAS dos gatos.



Figura 3. Esquema dos procedimentos experimentais durante os 21 dias de estudo

Durante o período de adaptação os gatos foram mantidos por 16h (das 16h às 8h) em gaiolas metabólicas de aço inox, com aparato para a colheita separada de fezes e urina, com dimensões de 65 x 85 x 65 cm. Durante o dia, das 8h às 16h, estes foram soltos em gatil coletivo para exercício e socialização. No período de coleta de fezes e urina, os gatos ficaram restritos permanentemente às gaiolas metabólicas. As gaiolas metabólicas foram lavadas diariamente, enxaguadas com água destilada e secas. Durante esse período, os gatos foram escovados diariamente, de 1 a 2 vezes ao dia, a fim de reduzir possível estresse devido à restrição as gaiolas metabólicas.

O alimento foi disponibilizado apenas quando os animais estavam nas gaiolas individuais. A quantidade de alimento foi estabelecida individualmente, de acordo com a quantidade de energia da ração, determinada com base em sua composição química e necessidade energética de manutenção de cada gato, estipulada como $75 \text{ kcal} \times (\text{PC em kg})^{0,67}$ por dia (FEDIAF, 2016). As sobras, quando houveram, foram pesadas e então calculado o consumo diário de alimento durante todo o estudo. Os animais foram pesados semanalmente, com o propósito de verificar possíveis ganhos ou perdas de peso e se corrigir a quantidade de alimento fornecido, visando manutenção de peso corporal constante. Água destilada foi oferecida *ad libitum* aos gatos durante todo período experimental. O ambiente em que os animais permaneceram apresentava iluminação natural e artificial, mantendo-se um ciclo claro:escuro de 12:12h.

4.3. Dietas Experimentais

Foram formuladas oito rações com teores semelhantes de energia, cujas composições químicas atenderam as recomendações para gatos adultos do FEDIAF

(2016). Cada ração teve diferentes proporções de proteína, amido, sódio e hidroxiprolina (Tabelas 1 e 2):

- 1 - baixa proteína (alto amido), baixa hidroxiprolina e baixo sódio;
- 2 - baixa proteína (alto amido), alta hidroxiprolina e baixo sódio;
- 3 - baixa proteína (alto amido), baixa hidroxiprolina e alto sódio;
- 4 - baixa proteína (alto amido), alta hidroxiprolina e alto sódio;
- 5 - alta proteína (baixo amido), alta hidroxiprolina e baixo sódio;
- 6 - alta proteína (baixo amido), baixa hidroxiprolina e baixo sódio;
- 7 - alta proteína (baixo amido), baixa hidroxiprolina e alto sódio;
- 8 - alta proteína (baixo amido), alta hidroxiprolina e alto sódio.

Foi adotado como baixa proteína a recomendação mínima do FEDIAF (2016) para felinos com baixa necessidade energética. Alta proteína foi considerado aumento de aproximadamente vinte pontos percentuais no nutriente. Baixa hidroxiprolina foi considerada o valor obtido na formulação de baixa proteína e elevada hidroxiprolina valor aproximadamente 4 vezes maior do que este. Baixo sódio foi estabelecido com 0,5%, valor encontrado em muitas dietas comerciais, e alto sódio foi aproximadamente 3 vezes maior.

Tabela 1. Fórmula das dietas experimentais

Ingredientes (%)	Dietas ¹							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Milho Grão	36,54	40,62	33,44	38,04	5,03	5,05	5,00	5,00
Proteína Isolada de Soja	-	-	-	-	2,10	16,00	21,00	8,08
Concentrado Proteico de Soja	15,20	-	15,60	-	32,70	31,10	23,95	24,10
Farinha de Vísceras de Aves	24,00	16,00	24,00	16,00	18,00	24,00	24,00	18,00
Proteína Isolada de Suíno	-	5,00	-	5,00	5,00	-	-	5,00
Colágeno purificado ²	-	12,00	-	12,00	12,00	-	-	12,00
Arroz quirera	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Gordura de Aves	9,10	9,90	9,20	9,90	9,80	9,00	9,00	9,80
Fibra de Cana	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Sal Comum	0,20	0,30	2,80	2,80	-	-	2,20	2,60
Palatabilizante Líquido ³	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Cloreto de Potássio	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
Calcáreo	0,11	0,33	0,11	0,31	0,52	-	-	0,57
Premix mineral e vitamínico ⁴	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de Colina	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Taurina	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Antifúngico ⁵	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante ⁶	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Óleo de Peixe	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Fosfato Bicálcico	-	1,00	-	1,10	-	-	-	-

¹ 1 - baixa proteína (alto amido), baixa hidroxiprolina e baixo sódio; 2 - baixa proteína (alto amido), alta hidroxiprolina e baixo sódio; 3 - baixa proteína (alto amido), baixa hidroxiprolina e alto sódio; 4 - baixa proteína (alto amido), alta hidroxiprolina e alto sódio; 5 - alta proteína (baixo amido), alta hidroxiprolina e baixo sódio; 6 - alta proteína (baixo amido), baixa hidroxiprolina e baixo sódio; 7 - alta proteína (baixo amido), baixa hidroxiprolina e alto sódio; 8 - alta proteína (baixo amido), alta hidroxiprolina e alto sódio.

²Tovani Benzaquen Ingredientes, São Paulo, Brasil.

³SPF do Brasil, Descalvado - SP, Brasil

⁴Adição por quilograma de produto: Ferro 100mg, Cobre 10mg, Manganês 10mg, Zinco 150mg, Iodo 2mg, Selênio 0,3mg, Vitamina A 18000UI, Vit. D 1200UI, Vit. E 200UI, Tiamina 6mg, Riboflavina 10mg, Ácido pantotênico 40mg, Niacina 60mg, Piroxidina 6mg, Ácido fólico 0,30mg, Vit. B12 0,1mg.

⁵Antifúngico (Mold Zap): propionato de amônio, propanodiol, ácido propiônico, ácido acético, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido fórmico, sorbato de potássio, veículo q.s.p - Alltech do Brasil Agro. Ltda, Curitiba, PR, Brasil.

⁶Antioxidante (Banox): BHA, BHT, galato de propila e carbonato de cálcio - Alltech do Brasil Agro. Ltda, Curitiba, PR, Brasil.

Tabela 2. Composição química analisada das dietas experimentais

Item (%)	Dietas ¹							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Umidade	7.4	7.3	6.5	6.3	7.5	7.9	8.3	9.2
	Valores na MS							
Amido	34.4	32.9	31.1	34.1	13.6	13.9	12.9	16.4
Proteína bruta	32.2	38.1	33.0	35.7	57.0	55.0	56.4	53.3
Aminoácidos								
Lisina	2.0	1.9	2.0	1.8	3.3	3.5	3.6	3.0
Treonina	1.4	1.1	1.3	1.2	2.0	2.0	2.2	1.8
Metionina	0.5	0.5	0.5	0.5	0.7	0.8	0.8	0.7
Metionina + Cistina	0.8	0.6	0.9	0.7	1.4	1.6	1.8	1.3
Arginina	2.4	2.8	2.4	2.7	4.5	4.3	4.4	4.1
Histidina	0.8	0.6	0.7	0.6	1.1	1.3	1.3	1.0
Isoleucina	1.4	1.1	1.4	1.0	2.1	2.5	2.6	1.9
Leucina	2.5	2.2	2.4	2.0	3.5	4.1	4.2	3.3
Fenilalanina	1.5	1.3	1.5	1.2	2.4	2.8	2.9	2.2
Fenilalanina + Tirosina	2.5	2.1	2.5	1.9	3.7	4.5	4.7	3.4
Valina	1.6	1.4	1.6	1.3	2.4	2.8	2.9	2.2
Taurina	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Glicina	2.2	5.3	2.4	5.2	6.2	3.3	3.2	5.8
Serina	1.3	0.9	1.2	1.4	1.9	1.6	1.9	1.7
Hidroxiprolina	0.5	2.0	0.7	2.4	2.1	0.6	0.4	2.1
Extrato etéreo hidrólise ácida	14.5	13.7	13.0	13.9	12.9	12.9	12.9	14.1
Fibra bruta	2.9	2.6	2.9	3.6	3.6	2.6	2.8	2.8
Matéria mineral	7.1	5.6	9.0	8.0	7.1	8.2	9.4	7.8
Ca	1.3	1.1	1.2	1.1	1.1	1.4	1.3	1.0
P	1.1	1.0	1.1	0.9	1.0	1.3	1.2	1.0
K	0.9	0.6	1.0	0.7	1.2	1.2	1.1	1.0
Mg	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1
Na	0.5	0.5	1.4	1.4	0.5	0.5	1.3	1.1
Cl	0.5	0.4	1.8	1.8	0.7	0.5	1.6	1.4
S	0.4	0.3	0.4	0.3	0.5	0.5	0.4	0.4

¹1 - baixa proteína (alto amido), baixa hidroxiprolina e baixo sódio; 2 - baixa proteína (alto amido), alta hidroxiprolina e baixo sódio; 3 - baixa proteína (alto amido), baixa hidroxiprolina e alto sódio; 4 - baixa proteína (alto amido), alta hidroxiprolina e alto sódio; 5 - alta proteína (baixo amido), alta hidroxiprolina e baixo sódio; 6 - alta proteína (baixo amido), baixa hidroxiprolina e baixo sódio; 7 - alta proteína (baixo amido), baixa hidroxiprolina e alto sódio; 8 - alta proteína (baixo amido), alta hidroxiprolina e alto sódio.

Antes do preparo das rações, os ingredientes foram comprados, estocados, amostrados e analisados para MS, matéria mineral, nitrogênio/PB, extrato etéreo hidrólise ácida, amido, Na, K, Ca, Mg, Cl, P e S. As análises foram realizadas de acordo com AOAC (2010) para MS, com secagem da amostra em estufa a 105°C (934.01), convertendo em matéria mineral por incineração em forno mufla (942.05) e análise de extrato etéreo com hidrólise-ácida prévia (954.02). O nitrogênio foi mensurado pelo equipamento Leco analisador de nitrogênio/proteína (FP-528, LECO Corporation, St. Joseph, MI, USA), que quantifica o nitrogênio com base no método de combustão de Dumas, segundo AOAC (2010; método 990.03) e o amido foi determinado de acordo com Hendrix (1993). Todas as amostras foram analisadas em duplicatas e repetidas quando a variação entre as replicatas foi superior a 5%. Para análise dos minerais, após preparação dos extratos por digestão úmida em solução nitroperclórica, Ca, Mg, Cl, Na e K foram analisados em espectrofotômetro de absorção atômica (modelo GBC-932 AA, Scientific Equipment PTY LTD, Melbourne-Austrália) segundo metodologia da AOAC (2010). A análise do fósforo foi realizada pelo método vanadato-molibdato (colorimetria), segundo metodologia da AOAC (2010). O enxofre determinado pelo método turbidimétrico (AOAC, 2010) seguido de leitura em espectrofotômetro (modelo B442, Micronal, cidade, estado). O extrato para análise de cloro foi obtido pela digestão das amostras por via seca (AOAC, 2010). Estas análises foram realizadas no Laboratório de Química Analítica do Departamento de Tecnologia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal. Com base nestas análises, as fórmulas foram ajustadas de modo a se obter as composições nutricionais desejadas.

Os ingredientes foram então misturados, moídos em moinho de martelos com peneira de 0,8 mm e as rações extrusadas em extrusora de rosca simples (MEX 250, Manzoni, Campinas, Brasil), com capacidade de processamento de 250kg/h, na Fábrica de Rações da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal. Durante o processo de extrusão a amperagem do motor da extrusora foi constantemente monitorada e registrada a cada 20 minutos. A densidade dos extrusados (g/L) foi determinada apenas quando o sistema atingiu a estabilidade, sendo, a partir deste momento,

registrada a cada 20 minutos. A temperatura do pré-condicionador da extrusora foi mantida por meio da injeção de vapor direto acima de 90°C. Água, vapor, velocidade da rosca e fluxo de matérias-primas foram ajustados de acordo com a formulação da dieta. Após a extrusão, os extrusados foram secos em secador de duas passagens, com ar forçado, aquecidos a 105°C e, posteriormente, cobertos com óleos e palatilizantes.

Após sua produção, os alimentos experimentais foram moídos em moinho tipo faca (Modelo MOD 340, ART LAB, São Paulo-SP), com peneira de 1mm, para realização das análises laboratoriais quanto a sua composição química (MS, matéria mineral, N/PB, extrato etéreo hidrólise ácida, amido, Na, K, Ca, Mg, Cl, P e S), como descrito anteriormente. O perfil de aminoácidos das dietas experimentais foram avaliados pelo método modificado 994.12 em hidrólise ácida (AOAC, 2005), com exceção dos aminoácidos metionina e cistina, que foram avaliados pelo método modificado 994.12, em oxidação de ácido performico com hidrólise ácida - método de ácido bromídrico (AOAC, 2005) e o triptofano pelo método modificado 988.15 (AOAC, 2005). Todos os aminoácidos foram analisados no Amino Acid Laboratory da School of Veterinary Medicine, UC Davis, California, EUA, equipamento Biochrom 30 Amino Acid Analyser (Biochrom, Cambridge, UK).

4.4. Digestibilidade, balanço de nitrogênio e amônia urinária

Foi realizada coleta total de fezes durante 8 dias consecutivos para permitir o cálculo do balanço hídrico e digestibilidades da proteína, extrato etéreo e amido. A digestibilidade destes nutrientes foi realizada a fim de se calcular a água metabólica produzida após ingestão das dietas experimentais. Fezes foram recolhidas quantitativamente, pesadas e congeladas para armazenamento, segundo recomendações de FEDIAF (2016). Ao final do período de coleta, as fezes foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se uma amostra única por animal. Em seguida, estas foram pesadas e secas em estufa de ventilação forçada (Modelo 320-SE, FANEM, São Paulo-SP) a 55°C, durante 72 horas. As fezes pré-secas foram moídas em moinho tipo faca (Modelo MOD 340, ART LAB, São Paulo-SP), com peneira de 1mm, para realização das análises laboratoriais. Nas fezes foram determinados MS, N/PB, extrato etéreo hidrólise ácida e amido, segundo

metodologias anteriormente descritas. A digestibilidade foi calculada pelo método de coleta total segundo procedimentos descritos por FEDIAF (2016).

Para determinação do balanço de nitrogênio (**BN**) e da amônia urinária, durante os primeiros 3 dias de coleta total de urina (11° ao 13° dia), esta foi recolhida em recipientes plásticos colocados sob o funil coletor da gaiola metabólica, contendo 1 mL de H₂SO₄ (1N) como conservante a fim de evitar a volatilização do nitrogênio. A coleta foi feita no mínimo três vezes ao dia e a urina armazenada em garrafas plásticas identificadas, mantidas refrigeradas (4°C). A urina produzida no período de 24 horas foi homogeneizada e teve aferido seu volume. Foram feitas duas alíquotas com um *pool* da urina dos 3 dias de coleta: a primeira foi armazenada (-20°C) como coletada e utilizada posteriormente para análise do BN; e a segunda alíquota foi diluída em ácido fórmico em relação 1:4 (1 mL de urina :4 mL de ácido fórmico) para permitir a análise de amônia urinária, também armazenada a -20°C para posterior análise.

O teor de nitrogênio amoniacal foi determinado pelo método de Kjeldhal (AOAC, 2010), com titulação em ácido bórico 2%. Para o BN o teor de nitrogênio na urina foi determinado pela mesma metodologia descrita anteriormente para as dietas e fezes. O BN foi calculado pela diferença entre o nitrogênio ingerido e excretado nas fezes e urina.

4.5. Parâmetros urinários e supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio e estruvita

Estas análises foram feitas nas amostras de urina colhidas do 14° ao 18° dia, totalizando 5 dias consecutivos. As urinas foram recolhidas em recipientes plásticos colocados sob o funil coletor da gaiola metabólica, contendo 100 mg de Timol (Synth, LABSYNTH, Diadema – SP, Brasil) como conservante. A coleta foi feita no mínimo três vezes ao dia e a urina armazenada em garrafas plásticas identificadas, mantidas refrigeradas (4°C). A urina produzida no período de 24 horas foi homogeneizada e teve aferido seu volume, densidade em refratômetro digital (PAL-USG (CAT), ATAGO, Japão) e pH em pHmetro (Digimed DM-22, Digicrom Analítica, São Paulo, Brasil). Na sequência a urina foi separada em duas alíquotas: à primeira foi adicionado 1mL de HCl 6N para cada 50mL de urina, sendo imediatamente

congelada (-20°C); a segunda foi congelada somente com o conservante Timol. Antes das análises as amostras de urina foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se uma amostra por gato. Na amostra de urina acidificada foram analisadas as concentrações de cálcio, fósforo, magnésio, ureia e oxalato e na amostra não acidificada sódio, potássio, cloreto, enxofre, citrato e ácido úrico.

A quantificação do cálcio da urina foi feita por reação cromogênica com cresolftaleína complexona (Cálcio Liquiform Ref. 90). O fósforo urinário foi determinado pelo método fosfomolibdato (Fósforo UV Liquiform Ref. 12), em reação de ponto final. A concentração de magnésio foi analisada pelo método de azul de metiltimol (Magnésio Ref. 50). O cloreto foi determinado pela reação com tiocianato de mercúrio (Cloreto Liquiform Ref. 115) e a concentração urinária de ácido úrico pelo método da uricase (Ácido Úrico Liquiform Ref. 140), todos da empresa Labtest Diagnóstica S.A (Lagoa Santa, MG, Brasil). As leituras das análises bioquímicas foram feitas em espectrofotômetro (Labquest, Labtest Diagnóstica S.A, Lagoa Santa, MG, Brasil). As concentrações urinárias de sódio e potássio foram determinadas pelo método de eletrodo íon-seletivo (Roche Diagnostics, 9180, Indianápolis, USA). O enxofre foi mensurado pelo método turbidimétrico (AOAC, 2010) seguido de leitura em espectrofotômetro (modelo B442, Micronal, São Paulo, SP, Brasil), após preparação dos extratos por digestão úmida. Os teores de citrato e oxalato da urina foram dosados por método enzimático colorimétrico (Citric Acid and Oxalic Acid, LTA, Bussero, Milan, Italy) em espectrofotômetro semiautomático (Labquest, Labtest Diagnóstica S.A, Lagoa Santa, MG, Brasil).

Com base nos resultados de análise, o índice de saturação urinária para oxalato de cálcio e estruvita foi calculado utilizando os *softwares* EQUIL-93 (Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Florida, USA) e SUPERSAT (RSS calculator for pets, Mars, Incorporated and its Affiliates, versão atualizada do programa desenvolvido por Robertson, 1969). As concentrações de cálcio, fósforo, cloreto, sódio, potássio, magnésio, enxofre, ácido úrico, citrato, oxalato e pH da urina foram integradas ao *software* EQUIL-93 calculando a SRR OxCa. Para o cálculo da SSR de estruvita e SSR OxCa pelo *software* SUPERSAT foram utilizados os mesmos valores, acrescentando apenas o valor de amônia e retirando o de cloreto.

4.6. Balanço hídrico

O balanço hídrico foi determinado mediante registro do consumo de água, alimento e coleta total de fezes e urina. As quantidades oferecidas e as sobras de água foram pesadas calculando-se o consumo hídrico diário. Para se quantificar a perda de água por evaporação do bebedouro foi feito um controle que consistiu em colocar-se bebedouro idêntico ao fornecido aos gatos, com o mesmo volume de água e pelo mesmo tempo de exposição ao ambiente. A diferença de peso do início e final representou a água evaporada, que foi descontada do consumo diário de cada gato para cálculo da ingestão hídrica total. A ingestão de água via alimento foi estabelecida a partir dos dados de consumo dos alimentos e teor de água destes. A água metabólica produzida pelos animais foi calculada multiplicando-se a quantidade de proteína digestível consumida por 0,396, os hidratos de carbono digestíveis consumidos por 0,566 e a gordura digerível consumida por 1,071 (Schmidt-Nielsen, 1964; Gross et al., 2010; DiBartola, 2012). A soma da ingestão de água via bebedouro, água consumida via alimento e água metabólica produzida representou o consumo total de água. A excreção de água via fezes foi calculada a partir das informações de produção diária de fezes e teor de MS das excretas. A excreção urinária de água foi estabelecida como a produção de urina dos gatos no período de coleta. A diferença entre o consumo total de água menos as excreções de água pelas fezes e urina foi empregada para se estimar as perdas insensíveis, correspondes à soma das perdas por respiração, cutânea e salivar (Carciofi et al., 2005).

4.7. Hemogasometria

A análise hemogasométrica de sangue venoso foi realizada em dois momentos: às 16hs, após período de jejum de 8 horas (19° dia) e às 8h da manhã (20° dia), após exposição dos animais ao alimento fornecido no dia anterior. Os gatos foram contidos manualmente e foi colhido 2 mL de sangue por venopunção da veia jugular, empregando-se seringa específica para hemogasometria contendo heparina lítica. Antes de cada coleta foi aferida a temperatura dos animais para correção no hemogasômetro (Omini C Blood Gas 226 Analyzer, Roche Diagnostics,

Indianapolis, USA). O sangue foi analisado imediatamente após a coleta para pH, iCa, Na, K, Cl, PO₂, PCO₂, bicarbonato, excesso de bases e osmolalidade.

4.8. Pressão Arterial Sistólica

Para mensuração da PAS dos gatos foi utilizado o método *Doppler*. Os animais passaram por tricotomia na região palmar metacarpal (acima dos coxins) no dia anterior às mensurações. As medições foram realizadas utilizando *Doppler* vascular (Doppler Flow Detector 812, Oregon, USA) no membro torácico esquerdo, com manguito número 2 acoplado ao esfigmomanômetro (Bokang, CE, Wenzhou, Zhejiang province, China). Gel foi aplicado na superfície da probe (Doppler Flow Detector 812, Oregon, USA) e esta foi posicionada sobre a área com tricotomia para realização das mensurações. As três primeiras medidas de pressão arterial foram descartadas e a média foi feita com pelo menos 3 valores obtidos, com variação menor do que 10%. A fim de evitar interferências relacionadas ao estresse, as medidas foram realizadas com os animais em posições confortáveis, em períodos do dia considerados tranquilos para esses animais e pelo mesmo examinador, conforme recomendado por Brown et al. (2007) e Mucha e Camacho, (2007).

4.9. Análise estatística

Antes das comparações de médias foram verificadas as pressuposições de homogeneidade de variâncias, pela transformação do Box-Cox, usando o procedimento TRANSREG e normalidade dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram submetidos à análise de variância, em um delineamento inteiramente casualizado, com 7 gatos (unidade experimental) por ração. A soma dos quadrados do modelo foi separada nos efeitos de dieta, animal e suas interações duplas (proteína *versus* sódio, proteína *versus* hidroxiprolina e sódio *versus* hidroxiprolina) e tripla (proteína *versus* sódio *versus* hidroxiprolina), analisadas pelo procedimento SLICE. Quando significâncias foram obtidas no Teste F, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. O valor de $P < 0,05$ foi considerado significativo. Todas as análises foram efetuadas pelo procedimento MIXED do *software* SAS (versão 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). Em algumas situações verificaram-se interações duplas, estas no entanto não foram exploradas por não terem

significado biológico e refletiram, em realidade, pequenas variações não esperadas na composição química das dietas e consumo dos nutrientes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se verificar que as dietas apresentaram composições próximas ao esperado, para baixo e alto amido ($14 \pm 1,5$ versus $33 \pm 1,5$ %), PB ($35 \pm 2,7$ versus $55 \pm 1,7$ %), hidroxiprolina ($0,6 \pm 0,13$ versus $2,2 \pm 0,17$ %) e sódio ($0,5 \pm 0,00$ versus $1,3 \pm 0,14$ %). Apesar de terem apresentado variações, as dietas atenderam aos objetivos propostos. Os valores baixos e altos de proteína e sódio estão dentro das recomendações mínimas e máximas para gatos maduros (NRC, 2006; FEDIAF, 2016).

Em função da elevada diferença na ingestão de sódio, foi aferida a PAS. Esta não diferiu entre as dietas experimentais ($P=0,294$) e em relação aos momentos basal versus final ($P=0,114$), com média geral de PAS para baixo e alto sódio de 121 ± 13 e 127 ± 11 mmHg, respectivamente. Os valores encontrados estiveram dentro da faixa de normalidade para gatos (Brown et al., 2007) e nenhum animal apresentou hipertensão (>160 mmHg) durante as aferições (Taylor et al., 2017). Estes achados confirmam que a ingestão de sódio por curtos períodos, em teores até o aqui proposto, não aumenta a pressão sanguínea de gatos saudáveis (Luchschander et al., 2004; Xu et al., 2009).

Todos os valores de eletrólitos sanguíneos e hemogasometria estiveram dentro dos limites fisiológicos de gatos adultos saudáveis (Bachmann et al., 2017). Não houve diferença entre as dietas experimentais quanto aos eletrólitos sanguíneos e parâmetros hemogasométricos ($P>0,05$). As diferenças observadas foram apenas com relação ao tempo, sendo no período de jejum os valores menores que os obtidos no período pós-prandial ($P<0,05$) para Ca ionizado ($1,37 \pm 0,05$ versus $1,39 \pm 0,06$ mmol/L), Na ($153 \pm 2,56$ versus $154 \pm 2,28$ mmol/L), Cl ($117 \pm 1,65$ versus $117 \pm 1,99$ mmol/L), PO_2 ($38,8 \pm 3,27$ versus $40,5 \pm 3,33$ mmHg), PCO_2 ($39,3 \pm 3,86$ versus $45,1 \pm 5,57$ mmHg), $CHCO_3$ ($20,6 \pm 1,35$ versus $22,0 \pm 1,49$ mmol/L) e osmolalidade ($305 \pm 5,34$ versus $306 \pm 5,07$ mOsm/kg). Estas diferenças representam a fase absorptiva do processo digestivo. Para pH, houve redução após o consumo

dos alimentos ($7,34 \pm 0,04$ versus $7,31 \pm 0,05$) devido, provavelmente, à maior produção de ácidos no metabolismo intermediário e/ou maior absorção pelo intestino, não compensada pelo aumento do bicarbonato (Dibartola, 2012). Valores de excesso de bases ($-4,53 \pm 1,61$ mmol/L) e K ($4,43 \pm 0,45$ mmol/L) não se alteraram após o consumo das dietas experimentais ($P > 0,05$).

Os pesos corporais dos gatos e o consumo de alimentos na MS ($12,7 \pm 1,93$ g/kg/dia) não diferiram entre as dietas experimentais ($P > 0,05$; Tabela 3). As ingestões dos nutrientes de interesse variaram dentro do esperado ($P < 0,05$), com consumos baixos e altos de amido ($1,89 \pm 0,06$ versus $4,14 \pm 0,11$ g de amido/kg/dia), proteína ($4,85 \pm 0,20$ versus $6,96 \pm 0,21$ g de proteína/kg/dia), hidroxiprolina ($0,07 \pm 0,00$ versus $0,28 \pm 0,01$ g de hidroxiprolina/kg/dia) e sódio ($0,07 \pm 0,00$ versus $0,16 \pm 0,01$ g de sódio/kg/dia). Algumas diferenças não esperadas foram verificadas, como maiores ingestões de proteína e amido nas dietas alta hidroxiprolina e menor consumo de sódio nas dietas alta proteína ($P < 0,05$). Estas decorreram das pequenas diferenças não propositais observadas na composição das dietas, no entanto, seu significado biológico é pequeno pois, em geral, essas diferenças foram menores que 20%.

O consumo de N aumentou com o consumo das dietas com elevada proteína, conforme esperado, bem como a excreção urinária deste composto, devido a urina ser a principal via de excreção de N em gatos ($P < 0,001$; Russell et al., 2000). O BN foi menor nas dietas de elevado sódio ($P = 0,013$), explicado pelo consumo proteico dos gatos nessas dietas ter sido numericamente menor ($6,19 \pm 0,21$ e $5,62 \pm 0,21$, para baixo e alto sódio; $P = 0,0595$). Contudo, todos os balanços foram positivos, indicando que não houve deficiência de ingestão de proteína mesmo nas dietas com menores quantidades deste nutriente (Laflamme et al., 2013).

O principal efeito verificado no pH da urina dos gatos, foi quanto ao teor de proteína da dieta (Tabela 4; $P < 0,001$), que foi mais alcalino nos gatos alimentados com as rações alta proteína. Isso mostra que elevação da proteína, por si só, não resulta em urinas ácidas se a composição de macronutrientes for balanceada (Kienzle et al., 1991; Wagner et al., 2006; Jeremias et al., 2013). O conceito de que alta proteína resulta sempre em acidificação da urina é errôneo, decorre de um erro de observação, visto que a elevação da proteína resulta em aumento concomitante

do enxofre, um ânion forte presente nos aminoácidos sulfurados metionina e cistina, cujo catabolismo resulta na eliminação de ácido sulfúrico pelos rins (Lemann et al., 1959; Brosnan e Brosnan, 2006; Forrester et al., 2010). No presente estudo as dietas com elevada proteína tiveram elevado potássio, um cátion abundante na soja e seus derivados, explicando assim a alcalinização do pH da urina dos gatos (Jeremias et al., 2013). As dietas com elevado sódio ou elevada hidroxiprolina não interferiram no pH da urina ($P>0,05$).

O consumo das dietas alta proteína e alto sódio alterou a densidade da urina dos gatos, interferindo de modo oposto neste parâmetro, pois elevação da proteína aumentou a densidade aparente ($P=0,003$), enquanto elevação do sódio reduziu a densidade urinária ($P<0.001$). Estas diferenças devem-se a diversos fatores, incluindo o mecanismo pelo qual proteína e sódio induzem diurese. O aumento da tonicidade do filtrado glomerular promovido pelo aumento da excreção de ureia, resulta em retenção de água, com maior volume de urina, mas também com elevação da densidade específica, justificando seu aumento no presente estudo (Hawthorne e Markwell, 2004; Dibartola, 2012; Pablack et al., 2014b). Já o sódio induz marcado aumento da osmolalidade plasmática, promovendo maior excreção de água livre pelos rins, com redução da osmolalidade urinária (Kirk et al., 2006; Morais e Dibartola, 2008).

Tabela 3. Peso corporal, ingestão de matéria seca e balanço de nitrogênio de gatos alimentados com as dietas experimentais

Item	Na	Baixa proteína		Alta proteína		Média Proteína ²	Média Hidx ²	Média Na ²	P valor
		Baixa Hidx ¹	Alta Hidx	Baixa Hidx	Alta Hidx				
Peso corporal (kg)									
	Baixo	4,15	4,21	4,51	3,76	4,13±0,10	4,19±0,10	4,16±0,10	0,0826
	Alto	4,25	4,00	3,86	4,12	4,06±0,09	3,99±0,09	4,03±0,10	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,6374	0,1573	0,3579	
Ingestão de MS (g/kg/dia)									
	Baixo	13,2	13,4	11,8	13,6	12,9±0,34	12,3±0,40	13,0±0,35	0,4776
	Alto	12,6	12,4	11,7	13,0	12,5±0,39	13,1±0,34	12,4±0,39	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,5178	0,1510	0,2883	
Balanço de nitrogênio (mg/kg/dia)									
	Baixo	53,5	151,8	153,1	190,1	72,3±24,3	83,5±24,5	137,2±26,0	0,0084
	Alto	56,3	27,6	71,0	67,6	120,5±20,3	109,3±20,1	55,6±18,0	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,1351	0,4198	0,0133	

¹ Hidx = hidroxiprolina² Média ± Desvio Padrão**Tabela 4.** pH e densidade aparente da urina de gatos alimentados com as dietas experimentais

Item	Na	Baixa proteína		Alta proteína		Média Proteína ²	Média Hidx ²	Média Na ²	P valor
		Baixa Hidx ¹	Alta Hidx	Baixa Hidx	Alta Hidx				
pH									
	Baixo	6,99	6,92	7,37	7,32	6,95±0,04	7,11±0,03	7,15±0,03	<,0001
	Alto	6,96	6,94	7,11	7,33	7,28±0,03	7,13±0,04	7,09±0,04	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	<,0001	0,6714	0,1919	
Densidade (g/L)									
	Baixo	1,054	1,057	1,054	1,050	1,048±0,00	1,050±0,00	1,054±0,00	<,0001
	Alto	1,037	1,046	1,053	1,055	1,053±0,00	1,052±0,00	1,048±0,00	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,0030	0,1329	0,0002	

¹ Hidx = hidroxiprolina² Média ± Desvio Padrão

Nos parâmetros de balanço hídrico, verificou-se que a excreção urinária de água foi maior nos gatos alimentados com as rações alta proteína e alto sódio ($P < 0,05$; Tabela 5). Diversos estudos corroboraram estes achados (Hashimoto et al., 1995; Funaba et al., 1996; Hawthorne e Markwell, 2004; Pablack et al., 2014a; Pablack et al., 2014b; Nguyen et al., 2017). A ureia é produto final do catabolismo dos aminoácidos, ou seja, a elevada ingestão de proteína resulta em aumento da excreção renal de uréia. Por ser a principal responsável pelo aumento da carga de soluto nos rins (Dibartola, 2012), a uréia é capaz de promover diurese osmótica (Hashimoto et al., 1995; Lekcharoensuk et al., 2001).

O sódio é um dos principais responsáveis pela regulação da osmolalidade plasmática, além de ser o principal cátion do fluido extracelular (Morais e Dibartola, 2008; Dibartola, 2012). Aumento da ingestão deste macroelemento resulta em elevação do volume do fluido extracelular que, por sua vez, eleva a pressão arterial. O aumento na pressão arterial reduz a secreção de renina, enzima responsável por ativar o sistema renina-angiotensina, levando à diminuição da retenção renal de sódio e água, o que resulta em maior excreção destes e em maior consumo de água, com consequente redução da densidade urinária. Este mecanismo fisiológico restaura o volume e a osmolalidade do líquido extracelular e a pressão arterial a valores normais (Hawthorne e Markwell, 2004; Luchschander et al., 2004; Kirk et al., 2006; Xu et al., 2006; Xu et al., 2009; Hall, 2011a, b; Pablack et al., 2014b; Pedreira, 2015).

Contudo, a ingestão hídrica via bebedouro apresentou apenas tendência de aumento com o consumo das dietas alta proteína e alto sódio ($P = 0,0533$ e $P = 0,0818$; Tabela 5). Assim, é possível que a maior perda renal tenha sido compensada por redução das perdas insensíveis, redução da perda fecal (estas foram numéricas, mas não estatística; $P > 0,05$) ou mesmo não tenha sido completamente compensada pelos animais, o que não pôde ser verificado no presente estudo, pois o contingente de água corporal dos gatos não foi medido.

Tabela 5. Balanço hídrico de gatos alimentados com as dietas experimentais

Item	Na	Baixa proteína		Alta proteína		Média Proteína ²	Média Hidx ²	Média Na ²	P valor
		Baixa Hidx ¹	Alta Hidx	Baixa Hidx	Alta Hidx				
Ingestão de água via bebedouro (mL/kg/dia)									
	Baixo	20,0	20,3	23,5	30,0	23,3±1,15	24,6±1,12	23,4±1,00	0,0123
	Alto	29,9	22,9	25,1	27,0	26,4±1,06	25,0±1,09	26,2±1,20	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,0533	0,7950	0,0818	
Ingestão de água via alimento (mL/kg/dia)									
	Baixo	1,05	1,05	1,01	1,10	0,95±0,03	1,00±0,03	1,05±0,03	<,0001
	Alto	0,88	0,84	1,06	1,32	1,12±0,03	1,08±0,03	1,02±0,03	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,0003	0,0809	0,5124	
Água metabólica (mL/kg/dia)									
	Baixo	5,82	6,25	4,98	5,78	5,77±0,16	5,25±0,17	5,71±0,15	0,0180
	Alto	5,30	5,72	4,92	5,98	5,41±0,17	5,93±0,15	5,48±0,17	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,1233	0,0046	0,3239	
Total de água ingerida (mL/kg/dia)									
	Baixo	26,8	27,6	29,5	36,9	30,0±1,27	30,9±1,26	30,2±1,10	0,0443
	Alto	36,1	29,4	31,1	34,3	32,9±1,19	32,0±1,20	32,7±1,35	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,1013	0,5074	0,1533	
Excreção urinária (mL/kg/dia)									
	Baixo	12,9	12,0	15,8	19,8	15,5±0,63	16,7±0,71	15,1±0,50	<,0001
	Alto	20,5	16,5	17,8	20,6	18,5±0,66	17,2±0,57	18,9±0,76	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,0017	0,6103	0,0001	
Excreção fecal de água (mL/kg/dia)									
	Baixo	6,59	5,28	4,98	6,56	5,62±0,43	5,59±0,37	5,85±0,44	0,2646
	Alto	6,04	4,56	4,76	6,04	5,59±0,33	5,61±0,40	5,35±0,32	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,9551	0,9750	0,3598	
Perdas insensíveis (mL/kg/dia)									
	Baixo	7,34	10,39	8,70	10,53	8,92±0,55	8,54±0,48	9,24±0,45	0,1354
	Alto	9,63	8,33	8,50	7,63	8,84±0,48	9,22±0,56	8,52±0,58	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,9120	0,3618	0,3317	

¹ Hidx = hidroxiprolina; ² Média ± Desvio Padrão

Outros efeitos no balanço hídrico dos gatos incluíram maior ingestão de água via alimento nos gatos alimentados com as rações com elevada proteína ($P < 0,001$; Tabela 5), explicada pelo maior teor de umidade destas dietas. A produção de água metabólica estimada para os gatos alimentados com as rações com alta hidroxiprolina ($P = 0,005$) foi maior, decorrente do maior consumo de amido e proteína nestas dietas, que contribuem com 0,566 e 0,396 gramas de água metabólica por grama de nutriente, respectivamente (Schmidt-Nielsen, 1964; Gross et al., 2010; DiBartola, 2012).

Em seres humanos, aumento de proteína na dieta causa aumentos no Ca e redução da concentração de citrato na urina, devido a carga ácida advinda do metabolismo dos aminoácidos, principalmente os sulfurados, metionina e cistina (Barzel e Massey, 1998; Remer, 2000). Estudos com gatos divergem em seus resultados. Gatos saudáveis alimentados com dietas com alta proteína ($> 50\%$ de PB na MS) tiveram aumento da ingestão hídrica e volume de urina, com redução do pH urinário, sem aumento na excreção de Ca urinário (Hashimoto et al., 1996; Funaba et al., 1996). Contudo, estudo de Pablack et al. (2014a) mostrou aumento de 29% na concentração de Ca e 124% em sua excreção renal, com redução de 45% do citrato urinário em gatos alimentados com elevada proteína (35 a 57% de PB na MS). O presente estudo corrobora com os achados de Hashimoto et al. (1996), visto que não houve diferenças no Ca urinário ou excreção renal de Ca mediante consumo das rações com elevada proteína, porém, o pH urinário se mostrou contrário ao observado nesse estudo ($P > 0,05$; Tabela 6 e 7), uma vez que foi mais alcalino nas dietas com elevada proteína. A concentração e excreção renal de citrato, diferente dos achados em humanos e Pablack et al. (2014a), também não reduziu nos gatos alimentados com dietas com alta proteína no presente estudo ($P > 0,05$). A explicação para as diferenças de resultado, provavelmente devem-se ao efeito das dietas no pH da urina. Enquanto em Pablack et al., (2014a) houve redução, no presente estudo houve aumento do pH, o que determinou, em realidade, o efeito das dietas sobre a excreção renal de citrato, pois quando o pH urinário reduz, o citrato diminui na urina uma vez que os prótons podem se associar ao citrato no intestino e nos rins (Dussol et al., 2008; Dijcker et al. 2011).

Tabela 6. Supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio e estruvita e concentração de cálcio, sódio, oxalato, citrato e uréia na urina de gatos alimentados com as dietas experimentais

Item	Na	Baixa proteína		Alta proteína		Média Proteína ²	Média Hidx ²	Média Na ²	P valor
		Baixa Hidx ¹	Alta Hidx	Baixa Hidx	Alta Hidx				
SSR OxCa EQUIL-93 ³									
	Baixo	0,29	0,59	0,21	0,46	0,58±0,06	0,36±0,05	0,39±0,04	0,0008
	Alto	0,67	0,76	0,29	0,25	0,30±0,04	0,51±0,05	0,49±0,06	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,0004	0,0447	0,1552	
SSR OxCa SUPERSAT ⁴									
	Baixo	0,14	0,31	0,09	0,19	0,28±0,04	0,18±0,02	0,18±0,02	0,0033
	Alto	0,30	0,36	0,18	0,15	0,15±0,02	0,25±0,04	0,25±0,04	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,0063	0,0833	0,1291	
SSR Estruvita SUPERSAT ⁴									
	Baixo	2,16	1,62	2,36	1,66	1,37±0,18	1,69±0,18	1,95±0,20	0,0002
	Alto	0,78	0,92	1,44	2,29	1,94±0,19	1,62±0,19	1,36±0,17	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,0335	0,8061	0,0272	
Cálcio (mg/dL)									
	Baixo	2,56	2,10	2,25	2,40	2,62±0,15	2,57±0,16	2,33±0,16	0,2486
	Alto	3,06	2,74	2,40	2,19	2,31±0,14	2,36±0,12	2,60±0,13	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,1412	0,3103	0,1906	
Sódio (mg/dL)									
	Baixo	280	290	180	173	510±12,7	438±12,5	231±5,13	<,0001
	Alto	656	814	636	657	411±8,89	483±9,08	691±14,6	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	<,0001	0,0051	<,0001	
Oxalato (mg/dL)									
	Baixo	1,39	2,65	0,89	1,67	2,12±0,17	1,31±0,11	1,65±0,13	<,0001
	Alto	1,77	2,68	1,18	1,05	1,20±0,12	2,01±0,18	1,67±0,16	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	<,0001	0,0014	0,9151	
Citrato (mg/dL)									
	Baixo	39,7	42,7	29,3	42,0	33,1±6,77	30,0±4,02	38,4±6,90	0,0080
	Alto	24,7	25,1	26,5	14,7	28,1±4,33	31,1±6,96	22,8±4,13	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,5408	0,8945	0,0573	
Uréia (mg/dL)									
	Baixo	8310	9810	9663	9489	7334±166	7938±221	9318±221	<,0001
	Alto	4799	6418	8981	9033	9291±238	8687±188	7308±189	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	<,0001	0,0129	<,0001	

¹ Hidx = hidroxiprolina

² Média ± Desvio Padrão

³ *Software* EQUIL-93 (Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Florida, USA), abastecido com os valores de Ca, P, Cl-, Na, K, Mg, S, ácido úrico, citrato, oxalato e pH da urina, calculando a SSR OxCa.

⁴ *Software* SUPERSAT (RSS calculator for pets, Mars, Incorporated and its Affiliates, versão atualizada do programa desenvolvido por Robertson, 1969), abastecido com os valores de Ca, P, Na, K, Mg, S, ácido úrico, citrato, oxalato, amônia e pH da urina, calculando-se a SSR OxCa e SSR para estruvita.

Tabela 7. Excreção renal de cálcio, sódio, oxalato, citrato e uréia de gatos alimentados com as dietas experimentais

Item	Na	Baixa proteína		Alta proteína		Média Proteína ²	Média Hidx ²	Média Na ²	P valor
		Baixa Hidx ¹	Alta Hidx	Baixa Hidx	Alta Hidx				
Cálcio (mg/kg/dia)									
	Baixo	0,35	0,27	0,38	0,49	0,40±0,03	0,41±0,03	0,37±0,03	0,0020
	Alto	0,50	0,46	0,42	0,46	0,44±0,03	0,42±0,03	0,46±0,03	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,3254	0,8460	0,0412	
Sódio (mg/kg/dia)									
	Baixo	38,7	37,2	29,0	34,9	84,2±3,61	76,0±3,69	35,0±1,46	<,0001
	Alto	126,1	134,9	110,3	139,0	78,3±3,28	86,5±3,19	127,6±4,66	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,2337	0,0368	<,0001	
Oxalato (mg/kg/dia)									
	Baixo	0,18	0,34	0,15	0,35	0,32±0,02	0,22±0,02	0,25±0,02	<,0001
	Alto	0,36	0,43	0,19	0,22	0,23±0,02	0,33±0,03	0,30±0,02	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,0059	0,0015	0,2034	
Citrato (mg/kg/dia)									
	Baixo	2,93	3,11	1,86	2,24	2,24±0,46	1,99±0,33	2,54±0,47	0,0009
	Alto	1,43	1,49	1,74	0,70	1,63±0,30	1,89±0,44	1,34±0,29	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	0,2777	0,8526	0,0349	
Uréia (mg/kg/dia)									
	Baixo	1159	1252	1565	1902	1102±47	1306±69	1470±58	<,0001
	Alto	931	1065	1567	1910	1736±70	1532±48	1368±61	
	<i>P Valor</i>	-	-	-	-	<,0001	0,0094	0,2339	

¹ Hidx = hidroxiprolina

² Média ± Desvio Padrão

Elevado consumo de sódio, promovido pela adição de NaCl nos alimentos, também está associado ao aumento do Ca urinário em seres humanos (King et al., 1964; Castenmiller et al., 1985, Massey e Whiting, 1996). Supõe-se que a alta ingestão de sódio possa estimular, em seres humanos, transportadores específicos de cálcio no túbulo distal do néfron (Lee et al., 2012). No presente estudo, apesar dos gatos alimentados com as rações com sódio elevado não terem apresentado maior concentração do elemento na urina (P=0,191), a excreção renal de cálcio foi maior nestes animais (P=0,041), concordando com os dados em seres humanos e com o verificado em felinos por Pablack et al. (2014b). Este aumento, de aproximadamente 25%, pode ser considerado fator indesejável em relação ao emprego de sódio na prevenção de urólitos de oxalato de cálcio. Outro efeito não desejado, foi a redução na excreção renal de citrato (P=0,035) nos gatos alimentados com as rações com elevado sódio. A maior parte do citrato urinário vem de sua eliminação celular, uma vez que este ácido orgânico é abundante nas

células, integrante do ciclo do ácido cítrico (Dibartola, 2012). O citrato é protetor para formação de oxalato de cálcio, por se ligar ao cálcio deixando este indisponível para se ligar ao oxalato (Pak, 1991; Osborne et al., 1996; Dijcker et al., 2011). Sua concentração geralmente é elevada com a alcalinização do pH da urina e diminui com sua acidificação, sendo este um dos fatores de risco das dietas que acidificam a urina em relação à formação de oxalato de cálcio (Rattan et al., 1994; Bonny et al., 2008; Dijcker et al., 2011; Bartges e Kirk, 2012; Jeremias et al., 2013). Contudo, os autores do presente estudo não encontraram explicação fisiológica para a redução da excreção de citrato mediante consumo das rações com elevado sódio, visto que o pH nessas dietas foi considerado alcalino.

Animais que ingeriram as rações com baixa proteína, ou elevado amido, bem como as rações com alta hidroxiprolina apresentaram, respectivamente, aumento de aproximadamente 76% e 54% na concentração urinária de oxalato ($P < 0,001$). Em relação à excreção renal do composto, aumentos de 40% e 50%, respectivamente, foram verificados ($P < 0,01$) corroborando as hipóteses estabelecidas no presente estudo. Em elevadas concentrações no alimento, a glicose resultante da assimilação do amido, e a hidroxiprolina podem ser convertidas pela enzima GR/HPR a glicolato no hepatócito dos felinos, sendo posteriormente transformado em glioxilato. Com a ação da L-LDH, o glioxilato formado no citoplasma do hepatócito será convertido em oxalato que, não possuindo função específica no organismo, este será excretado na urina (Takayama et al., 2003; Dijcker et al., 2012; Jiang et al., 2012). Estudos anteriores com gatos já haviam demonstrado relação entre consumo de amido e excreção de oxalato (Zentek e Shulz; Mendonça, et al., 2018) e ingestão de hidroxiprolina, ou colágeno e excreção de oxalato (Zentek e Shulz, 2004; Dijcker et al., 2011; Dijcker et al., 2012; Mendonça, et al., 2018).

Efeito do consumo das rações experimentais foram verificados nos teores de sódio da urina, que foi maior nas rações com elevado sódio ($P < 0,001$), de acordo com a maior ingestão do composto, e foi menor com consumo das rações com maior proteína ($P < 0,001$), explicado pelo aumento da diurese e diluição urinária verificados nessas dietas. Tanto é que a excreção renal de sódio foi maior nos gatos alimentados com alto sódio ($P < 0,001$), mas semelhante ao se comparar alta e baixa proteína ($P = 0,234$). Já as diferenças verificadas entre os gatos alimentados com as

rações alta e baixa hidroxiprolina ($P=0,005$) decorreram de diferenças não intencionais no consumo desse macroelemento, pois a concentração de sódio foi, não intencionalmente, maior nas dietas contendo elevada hidroxiprolina.

A concentração de ureia na urina, bem como sua excreção renal foram maiores nos gatos alimentados com as dietas com alta proteína ($P<0,001$), como já era esperado (Russell et al., 2000; Bihuniak et al., 2013). A ureia urinária foi menor nos gatos alimentados com as dietas com maior sódio ($P<0,001$), sem alteração em sua excreção renal ($P>0,05$), o que pode ser explicado pela diluição da urina nos gatos alimentados com as rações com alto sódio. A elevação da ureia da urina, bem como de sua excreção renal nos gatos alimentados com as rações com elevada hidroxiprolina ($P<0,01$) podem ser explicadas pelo maior consumo de proteína observado pelos gatos que receberam estas rações, e por este ser um aminoácido não essencial, catabolizado no fígado e excreto pelos rins como ureia (Hashimoto, et al., 1995).

Não houve diferença na concentração de ácido úrico na urina, com média de $10,5\pm 3,43$ mg/dL ($P=0,071$). A excreção renal de ácido úrico acompanhou a ingestão proteica, sendo maior nos gatos que receberam as rações com alta proteína $2,04\pm 0,74$ mg/kg/dia comparado aos gatos que receberam as rações com baixa proteína $1,53\pm 0,49$ mg/kg/dia ($P=0,004$). Isto pode ser explicado por este metabólito ser composto final de eliminação de produtos do catabolismo de purinas, presente em maior quantidade nos tecidos proteicos (Forrester, et al., 2010). A concentração de amônia reduziu com a ingestão das dietas de elevada proteína ($167\pm 6,45$ mg/dL), comparada as dietas de baixa proteína ($194\pm 5,43$ mg/dL; $P=0,0028$), devido a maior diluição urinária promovida pela ação diurética desta. Não foram observadas diferenças na excreção renal de amônia ($30,1\pm 8,11$ mg/dL; $P=0,1885$).

A SSR OxCa aumentou com a elevação do consumo de amido nos gatos que receberam as rações baixa proteína, o que pode ser verificado pelos resultados obtidos nos dois *softwares* ($P<0,001$ EQUIL-93 e $P=0,006$ SUPERSAT). O consumo das rações com elevada hidroxiprolina também aumentou a SSR OxCa, mas esta só foi significativa com o *software* EQUIL-93 ($P=0,045$). Já a comparação das rações alto e baixo sódio não revelou diferenças na SSR OxCa, com valores inclusive numericamente maiores para gatos alimentados com rações com alto sódio. Essa

diferença entre os *softwares* nos valores estimados de SSR se devem às diferenças nos modelos matemáticos utilizados em cada programa, bem como aos metabólitos e minerais utilizados nos cálculos. O EQUIL-93 não leva em consideração o valor de amônia e o SUPERSAT não inclui as concentrações de cloro no balanceamento de minerais, metabólitos e pH que influenciam a saturação. Contudo, ambos são considerados acurados na mensuração da SSR de OxCa (Robertson et al., 2002). O aumento da SSR OxCa se deve, provavelmente, à maior formação de oxalato endógeno promovida pelas ingestões de elevado amido e hidroxiprolina, com consequente aumento de sua excreção renal e concentração urinária (Mendonça et al., 2018). Em adição ao aumento na excreção e concentração de oxalato e menor volume da urina, houve uma pequena diminuição do pH nas dietas com baixa proteína, o que poderia colaborar para o aumento a SSR OxCa nestas dietas, no entanto, este valor está muito próximo ao neutro, zona considerada de baixo impacto na saturação de oxalato. Outro fator relevante na formação deste urólito, a calciúria, não foi diferente quando se comparou os gatos alimentados com as rações alta e baixa proteína, ou alta e baixa hidroxiprolina, parecendo assim não ter influenciado o resultado obtido. A excreção renal de Ca se elevou, por outro lado, nos gatos alimentados com as rações com alto sódio, o que pode explicar por que mesmo tendo induzido diurese, o consumo deste elemento não reduziu a SSR OxCa, questão a ser melhor esclarecida quando se considera seu emprego para prevenção dos urólitos de oxalato de cálcio. Adicionalmente, a excreção renal de citrato reduziu com dietas de alto sódio, também contribuindo para não redução da SSR OxCa.

Como os urólitos de estruvita e oxalato de cálcio parecem estar distribuídos equilibradamente, foi avaliada a SSR para estruvita. Esta apresentou aumento nos gatos alimentados com as dietas com elevada proteína ($P=0,033$) e redução nos gatos alimentados com as rações com elevado sódio ($P=0,027$). Em relação ao consumo das rações com elevada proteína, estas resultaram em menor concentração urinária de elementos formadores deste urólito ($P<0,05$), como o Mg ($9,14\pm 0,41$ versus $7,64\pm 0,40$ mg/dL), o P ($218\pm 4,31$ versus $193\pm 3,83$ mg/dL) e a amônia ($192\pm 46,5$ versus $168\pm 34,9$ mg/dL). Desta forma, não está na eliminação destes compostos a explicação para o aumento da SSR para estruvita, mas sim devido ao aumento do pH urinário dos gatos alimentados com as rações com alta

proteína, o que evidencia a importância do pH urinário na formação deste urólito (Taton et al, 1984; Buffington et al, 1990; Finke e Litzemberger, 1992). Em pH alcalino, independentemente das concentrações urinárias de P, Mg e amônia, maior proporção do P se apresentará na forma divalente, conferindo-lhe elevada reatividade e capacidade de se ligar ao Mg e a amônia precipitando-se na forma de cristais de estruvita (Seaman e Bartges, 2001). Assim, não se pode generalizar estes resultados aqui obtidos, pois é possível que a elevação da diurese propiciada por elevado consumo de proteína, associada à produção de pH urinário ácido, possa, em realidade, reduzir a SSR para estruvita, o que mereceria a condução de estudos para sua avaliação e confirmação. Isto é reforçado pela amônia ter apresentado excreção constante independente do consumo proteico, de modo que as rações alta proteína induziram menor concentração de amônia na urina, o que também pode impactar em redução da SSR para estruvita. Por muitos anos foi sugerido evitar o uso de elevada proteína para gatos formadores de estruvita, visto que estes iriam excretar mais amônia na urina e deixar está disponível para se ligar aos outros compostos deste cálculo, contudo, estes achados desmistificam essa ideia e sugerem possíveis benefícios com o uso da proteína, em condições específicas, na prevenção do urólito de estruvita em gatos.

A redução da SSR de estruvita nos gatos alimentados com as rações alto sódio deve-se, provavelmente, à maior excreção urinária, com diluição da urina e redução de sua densidade aparente (Forrester e Roudebush, 2007). Gatos alimentados com as rações alto sódio apresentaram menores concentrações urinárias ($P < 0,0001$) de fósforo ($223 \pm 4,49$ versus $188 \pm 3,61$ mg/dL). Como o pH da urina foi semelhante, a redução desse componente do urólito pode ter contribuído para a menor SSR para estruvita.

Quanto as implicações práticas dos resultados obtidos na presente pesquisa, os valores de SSR OxCa encontraram-se todos na zona de subsaturação, que corresponde a valores < 1 (Bartges et al., 1999; Hurley et al., 2003; Buckley et al., 2011). Assim, as condições alimentares estudadas não foram capazes de expor os gatos participantes do estudo ao risco de aumento de formação de oxalato de cálcio. Estes achados devem ser interpretados, no entanto, considerando-se algumas limitações, como o estudo ter sido conduzido em gatos sem histórico de formação de

urólitos e por curto período de tempo. Em períodos mais prolongados de consumo dos alimentos teste, em gatos formadores de urólitos, em situações alimentares que resultassem na produção de urina ácida ou em gatos com consumo limitado de água, os achados poderiam vir a serem diferentes, o que deve ser considerado com cautela.

É razoável supor que gatos formadores de oxalato de cálcio, que já apresentam maiores eliminações renais de oxalato ou de cálcio, sob condições alimentares que incluam elevado amido, hidroxiprolina ou sódio possam ter aumentadas as chances de eliminação quantitativa de oxalato ou de cálcio, elevando-se os riscos destes desenvolverem urolitíase. Esta hipótese mereceria estudos desenvolvidos em populações de felinos suscetíveis à esta condição mórbida. Adicionalmente, destaca-se a necessidade de se explorar em estudos futuros os consumos de amido, hidroxiprolina e sódio em alimentos que induzam acidificação urinária, quando a redução na eliminação renal de citrato e aumento na de Ca poderiam vir a influenciar os achados de SSR OxCa.

Em relação aos urólitos de estruvita, mesmo com a média geral permanecendo na zona metaestável, alguns gatos tiveram valores de SSR para estruvita maiores de 2,5, considerado de risco na formação deste tipo de urólito (Bartges et al., 1999; Hurley et al., 2003; Buckley et al., 2011). Isto, associado à forte associação deste urólito com o pH da urina, reforça a importância do correto balanceamento dos macroeletmentos da dieta de alimentos para felinos (Jeremias, et al., 2013). Contudo, os gatos participantes do estudo se mantiveram saudáveis, sem incidência de formação de urólitos, visto que estes animais não eram predispostos a esta condição e ingeriram as dietas por curto período (21 dias).

6. CONCLUSÕES

O consumo de dietas com proteína e sódio elevados promoveu diurese em gatos. A ingestão de alimentos com elevado amido e hidroxiprolina induziu aumento da formação de oxalato endógeno, verificado pelo aumento da excreção renal e da concentração urinária de oxalato pelos gatos, fatores que resultaram em maior saturação urinária para oxalato de cálcio. O consumo de dietas com sódio elevado

aumentou a excreção renal de Ca e reduziu a de citrato, assim, mesmo tendo induzido diurese não reduziu a saturação urinária para oxalato de cálcio. Elevação do sódio do alimento reduziu, por outro lado, a saturação urinária para estruvita, em função da diurese com redução do teor P da urina.

7. REFERÊNCIAS

Allen TA, Kruger JM (2000) Enfermedad Felina De Las Vias Urinarias. In: Hand MS, Thatcher CD, Remillard RL, Roudebush P (4th ed.) **Nutrición clínica en pequeños animals**. Bogotá: Panamericana, p. 811-845.

Anderson RS (1982) Water balance in the dog and cat. **Journal of Small Animal Practice** 23:588-598.

AOAC: Association of Official Analytical Chemistry (2005) Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. 18th ed.

AOAC: Association of Official Analytical Chemistry (2010) Official Methods of Analysis of AOAC International, Washington, DC, USA. 18th ed.

Bachmann K, Kutter AP, Schefer RJ, Marly-Voquer C, Sigrist N (2017) Determination of reference intervals and comparison of venous blood gas parameters using standard and non-standard collection methods in 24 cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery** 19:831-840.

Baller MA, Pacheco PD, Peres FM, Monti M, Carciofi AC (2018) The effects of in-barrel moisture on extrusion parameters, kibble macrostructure, starch gelatinization, and palatability of a cat food. **Animal feed science and technology** 246:82-90.

Bartges JW, Callens AJ (2015) Urolithiasis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** 45:747-768.

Bartges JW, Kirk C (2012) Nutritional management of Lower urinary tract disease. In Fascetti, A.J. and Delaney, S. J. (1rs ed.). **Applied Veterinary Clinical Nutrition**. Davis, California, Capítulo 16, p. 269.

Bartges JW, Osborne CA, Lulich JP, Kirk C, Allen TA, Brown C (1999) Methods for evaluating treatment of uroliths. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice** 29:45–57.

Barzel US, Massey LK (1998). Excess dietary protein can adversely affect bone. **The Journal of Nutrition** 128:1051-1053.

Bazolli RS, Vasconcellos RS, De-Oliveira LD, Sá FC, Pereira GT, Carciofi AC (2015) Effect of the particle size of maize, rice, and sorghum in extruded diets for dogs on starch gelatinization, digestibility, and the fecal concentration of fermentation products. **Journal of Animal Science** 93:2956.

Behnam JT, Williams EL, Brink S, Rumsby G, Danpure CJ (2006) Reconstruction of human hepatocyte glyoxylate metabolic pathways in stably transformed Chinese-hamster ovary cells. **Biochemical Journal** 394:409–416.

Bihuniak JD, Simpson CA, Sullivan RR, Caseria DM, Kerstetter JE, Insogna KL (2013) Dietary protein-induced increases in urinary calcium are accompanied by similar increases in urinary nitrogen and urinary urea: a controlled clinical trial. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics** 113:447-451.

Bonny O, Rubin A, Huang CL, Frawley WH, Pak CY, Moe OW (2008) Mechanism of urinary calcium regulation by urinary magnesium and pH. **Journal of the American Society of Nephrology** 19:1530–1537.

Brosnan JT, Brosnan ME (2006) The sulfur-containing amino acids: an overview. **The Journal of Nutrition** 136:1636S-1640S.

Brown S, Atkins C, Bagley R, Carr A, Cowgill L, Egnor B, Elliott J, Henik R, Labato M, Littman M, Polzin D, Ross L, Snyder P, Stepien R (2007) Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 21:542-558.

Buckley CMF, Hawthorne A, Colyer A, Stevenson AE (2011) Effect of dietary water intake on urinary output, specific gravity and relative supersaturation for calcium oxalate and struvite in the cat. **British Journal of Nutrition** 106:S128-S130.

Buffington CA, Rogers QR, Morris JG. (1990) Effect of diet on struvite activity product in feline urine. **American Journal of Veterinary Research** 51:2025-2030.

Cannon AB, Westropp JL, Ruby AL, Kass PH (2007) Evaluation of trends in urolith composition in cats: 5,230 cases (1985-2004). **Journal of the American Veterinary Medical Association** 237:570-576.

Carciofi AC, Bazolli RS, Zanni A, Kihara LRL, Prada F (2005) Influence of water content and the digestibility of pet foods on the water balance of cats. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science** 42:429-434.

Castenmiller JJ, Mensink RP, Van Der Heijden L, Kouwenhoven T, Hautvast JG, de Leeuw PW, Schaafsma G (1985) The effect of dietary sodium on urinary calcium and potassium excretion in normotensive men with different calcium intakes. **The American Journal of Clinical Nutrition** 41:52-60.

de Oliveira LD, Carciofi AC, Oliveira MCC, Vasconcellos RS, Bazolli RS, Pereira GT, Prada F (2008) Effects of six carbohydrate sources on diet digestibility and postprandial glucose and insulin responses in cats. **Journal of Animal Science** 86:2237–2246.

de Wilde R, Huysentruyt P (1983) Digestion of carbohydrates in cats. **Tijdschrift Voor Diergeneeskunde** 108:187–190.

Dibartola SP (2012) Applied physiology. In: DiBartola, S.P. (4th eds), Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders In: Small Animal Practice. Saunders Elsevier, Saint Louis, MO, Capítulo 1, p. 7-20.

Dierenfeld ES, Alcorn HL, Jacobsen KL (2002) Nutrient composition of whole vertebrate prey (excluding fish) fed in zoos. <http://www.nal.usda.gov/awic/zoo/WholePreyFinal02May29.pdf>.

Dijcker JC, Hagen-Plantinga EA, Hendriks WH (2012) Changes in dietary profile do not appear to affect endogenous urinary oxalate excretion in healthy adult cats. **The Veterinary Journal** 194:235-239.

Dijcker JC, Plantinga EA, Van Baal J, Hendriks WH (2011) Influence of nutrition on feline calcium oxalate urolithiasis with emphasis on endogenous oxalate synthesis. **Nutrition Research Reviews** 24:96–110.

Dussol B, Iovanna C, Rotily M, Morange S, Leonetti F, Dupuy P, Vazi A, Saveanu A, Loundou A, Berland Y (2008) A randomized trial of low-animal-protein or high-fiber diets for secondary prevention of calcium nephrolithiasis. **Nephron Clinical Practice** 110:185–194.

FEDIAF: Nutritional guidelines for complete and complimentary pet food for cats and dogs (2016) FEDIAF - European Pet Food Industry Federation, Brussels, Belgium.

Finke MD, Litzenberger BA (1992) Effect of food intake on urine pH in cats. **Journal of Small Animal Practice** 33:261-265

Forrester SD, Kruger JM, Allen TA (2010) Feline lower urinary tract diseases. In: Hand MS, Thatcher CD, Remillard RL, Roudebush P, Novotny BJ (5th ed.) **Small Animal Clinical Nutrition**. Missouri: Mark Morris Institute, Capítulo 46, p. 925-976.

Funaba M, Hashimoto M, Yamanaka C, Shimogori Y, Iriki T, Ohshima S, Abe M (1996) Effects of a high-protein diet on mineral metabolism and struvite activity product in clinically normal cats. **American Journal of Veterinary Research** 57:1726-1732.

Gerber B, Boretti FS, Kley S, Lалуha P, Müller C, Sieber N, Unterer S, Wenger M, Flückiger M, Glaus T, Reusch CE (2005) Evaluation of clinical signs and causes of lower urinary tract disease in European cats. **Journal of Small Animal Practice** 46:571-577.

Grauer GF (2015) Feline Struvite & Calcium Oxalate Urolithiasis. **Today's Veterinary Practice** 5:14–20.

Gross KL, Yamka RM, Khoo C, Friesen KG, Jewell DE, Schoenherr WD, Debraekeleer J, Zicker SC (2010) Macronutrients. In: Hand MS, Thatcher CD,

Remillard RL, Roudebush P, Novotny BJ (5th ed.) **Small Animal Clinical Nutrition**. Missouri: Mark Morris Institute, Capítulo 5, p. 52.

Ha SK (2014) Dietary salt intake and hypertension. **Electrolytes & Blood Pressure** 12:7-18.

Hall JE (2011a) Urine Concentration and Dilution: Regulation of Extracellular Fluid Osmolarity and Sodium Concentration. **Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology**. Saunders Elsevier, Philadelphia p. 345–360.

Hall JE (2011b) Renal Regulation of Potassium, Calcium, Phosphate, and Magnesium; Integration of Renal Mechanisms for Control of Blood Volume and Extracellular Fluid Volume. **Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology**. Saunders Elsevier, Philadelphia p. 361–378.

Hashimoto M, Funaba M, Abe M, Ohshima S (1995) Dietary protein levels affect water intake and urinary excretion of magnesium and phosphorus in laboratory cats. **Experimental animals** 44:29-35.

Hashimoto M, Funaba M, Abe M, Ohshima S (1996) Effect of chronic high protein intake on magnesium, calcium, and phosphorus balance in growing cats. **Experimental animals** 45:63-70.

Hawthorne AJ, Markwell PJ (2004) Dietary sodium promotes increased water intake and urine volume in cats. **The Journal of Nutrition** 134:2128-2129.

Hawthorne AJ, Markwell PJ (2004) Dietary sodium promotes increased water intake and urine volume in cats. **The Journal of Nutrition** 134:2128S–2129S.

Holmes RP, Ambrosius WT, Assimos DG (2005) Dietary oxalate loads and renal oxalate handling. **Journal of Urology** 174:943–947.

Holmes RP, Assimos DG (1998) Glyoxylate synthesis, and its modulation and influence on oxalate synthesis. **The Journal of urology** 160:1617-1624.

Hostutler RA, Chew DJ, Dibartola SP (2005) Recent concepts in feline lower urinary tract disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** 35:147–170.

Houston DM, Moore AE (2009) Canine and feline urolithiasis: examination of over 50 000 urolith submissions to the Canadian veterinary urolith centre from 1998 to 2008. **Canadian Veterinary Journal** 50:1263–1268

Houston DM, Moore AE, Favrin MG, Hoff B (2003) Feline urethral plugs and bladder uroliths: A review of 5484 submissions 1998-2003. **Canadian Veterinary Journal** 44:974-977.

Houston DM, Weese HE, Evason MD, Biourge V, Van Hoek I (2011) A diet with a struvite relative supersaturation less than 1 is effective in dissolving struvite stones in vivo. **The British Journal of Nutrition** 106:S90-92.

Hunprasit V, Pusoonthornthum P, Koehler L, Lulich JP (2019) Epidemiologic evaluation of feline urolithiasis in Thailand from 2010 to 2017. **The Thai Journal of Veterinary Medicine** 49:101-105.

Hurley KJ, Stevenson A, Watson H (2003) Managing struvite and calcium oxalate risk – what does Relative Super Saturation (RSS) evaluation mean in practical terms? **Waltham Focus** 13:30-33.

Jeremias JG, Nogueira SP, Brunetto MA, Pereira GT, Loureiro BA, Ferreira CS, Gomes MOS, Carciofi AC (2013) Predictive formulas for food base excess and urine pH estimation of cats. **Animal Feed Science and Technology** 182:82-92.

Jeremias, J. T. **Balanço de macromelementos da dieta e supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio, equilíbrio ácido-básico e metabolismo ósseo de gatos adultos** (2013) 107f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) Unesp, Jaboticabal.

Jiang J, Johnson LC, Knight J, Callahan MF, Riedel TJ, Holmes RP, Lowther WT (2012) Metabolism of [¹³C₅] hydroxyproline in vitro and in vivo: Implications for primary hyperoxaluria. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology** 302:637-643.

Kawasaki T, Delea CS, Bartter FC, & Smith H (1978) The effect of high-sodium and low-sodium intakes on blood pressure and other related variables in human subjects with idiopathic hypertension. **The American journal of medicine**, 64:193-198.

Kienzle E (1993) Carbohydrate-metabolism of the cat 2. Digestion of starch¹. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 69: 102–114.

Kienzle E, Schuknecht A, Meyer H (1991) Influence of food composition on the urine pH in cats. **The Journal of Nutrition** 121:87-88.

King JS Jr, Jackson R, Asbe B (1964) Relationship of sodium intake to urinary calcium excretion. **Investigative Urology** 1555-560.

Kirk CA, Jewell DE, Lowry SR (2006) Effects of sodium chloride on selected parameters in cats. **Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine** 7:333-346.

Kirk CA, Ling GV, Franti CE, Scarlett JM (1995) Evaluation of factors associated with development of calcium oxalate urolithiasis in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 207:1429-1434.

Knight J, Holmes RP, Assimios DG (2007) Intestinal and renal handling of oxalate loads in normal individuals and stone formers. **Urological Research** 35:111–117.

Laflamme DP (1997) Development and validation of a body condition score system for cats: A clinical tool. **Feline Practice** 25:13-17.

Laflamme DP, Hannah SS (2013) Discrepancy between use of lean body mass or nitrogen balance to determine protein requirements for adult cats. **Journal of feline medicine and surgery** 15:691-697.

Lee CT, Lien YH, Lai LW, Ng HY, Chiou TT, Chen HC (2012) Variations of dietary salt and fluid modulate calcium and magnesium transport in the renal distal tubule. **Nephron Physiology** 122:19–27.

Lekcharoensuk C, Lulich JP, Osborne CA, Koehler LA, Ulrich LK, Carpenter KA, Swanson LL (2000) Association between patient-related factors and risk of calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate urolithiasis in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 217:520-525.

Lekcharoensuk C, Osborne CA, Lulich JP, Pusoonthornthum R, Kirk CA, Ulrich LK, Koehler LA, Carpenter KA, Swanson LL (2001) Association between dietary factors and calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate urolithiasis in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 219:1228–1237.

Lemann J, Relman AS (1959) The relation of sulfur metabolism to acid-base balance and electrolyte excretion: the effects of DL-methionine in normal man. **The Journal of clinical investigation** 38:2215-2223.

Li X, Rezaei R, Li P, Wu, G (2011) Composition of amino acids in feed ingredients for animal diets. **Amino Acids** 40:1159-1168.

Luckschander N, Iben C, Hosgood G, Glaber C, Biourge V (2004) Dietary NaCl does not affect blood pressure in healthy cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 18:463-467.

Lulich JP, Osborne CA, Nwaokorie E (2012) Feline urolith epidemiology update: 1981 to 2011. Tracking the trends of mineral composition in cats with urolithiasis. **DVM360 MAGAZINE**. <http://veterinarynews.dvm360.com/feline-urolith-epidemiology-update-1981-2011>

Lumb MJ, Purdue PE, Danpure CJ (1994) Molecular evolution of alanine/glyoxylate aminotransferase 1 intracellular targeting. Analysis of the feline gene. **European Journal of Biochemistry** 221:53-62.

Markwell PJ, Buffington CT, Smith BH (1998) The effect of diet on lower urinary tract diseases in cats. **The Journal of Nutrition** 128:2753-2757.

Massey LK, Whiting SJ (1996) Dietary salt, urinary calcium, and bone loss. **Journal of bone and mineral research** 11:731-736.

Mendonça FS, Pedreira RS, Loureiro BA, Putarov TC, Monti M, Carciofi AC (2018) Hydroxyproline and starch consumption and urinary supersaturation with calcium oxalate in cats. **Animal feed science and technology** 246:72-81.

Morais HA, Dibartola SP (2008) Advances in Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders 38:503-510.

Morris JG, Trudell J, Pencovic T (1977) Carbohydrate digestion by domestic cat (*Felis Catus*). **British Journal of Nutrition** 37:365–373.

Mucha CJ, Camacho AA (2007) Determinación de la presión. In: Bellereinan G, Mucha CJ, Camacho AA, Grau JM (2 eds) **Afecciones Cardiovasculares em Pequenos Animales** Buenos Aires: Inter-médica p. 179-183.

Nguyen NU, Dumoulin G, Henriët MT, Regnard J (1995) Increase in urinary calcium and oxalate after fructose infusion. **Hormone and Metabolic Research** 27:155–158.

Nguyen P, Reynolds B, Zentek J, Pablack N, Leray V (2017) Sodium in feline nutrition. **Journal of animal physiology and animal nutrition** 101: 403-420.

NRC: Nutrient requirements of dogs and cats (2006) Washington, D.C.: National Academies Press.

Osborne CA, Lulich JP, Thumchai R, Bartges JW, Sanderson SL, Ulrich LK, Koehler LA, Bird KA, Swanson LL (1996). Diagnosis, medical treatment, and prognosis of feline urolithiasis. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice** 26:589-627.

Osborne CA, Lulich JP, Ulrich LK (2010) Canine Urolithiasis: Definitions, Pathophysiology and Clinical Manifestations. In: Hand MS, Thatcher CD, Remillard RL, Roudebush P, Novotny BJ (5th ed.) **Small Animal Clinical Nutrition**. Missouri: Mark Morris Institute, Capítulo 46, p. 813-832.

Pablack N, Burmeier H, Brenten T, Zentek J (2014a) Relevance of the dietary protein concentration and quality as risk factors for the formation of calcium oxalate stones in cats. **Journal of Nutritional Science** 3:51

Pablack N, Burmeier H, Brenten T, Zentek J (2014b) Short term effects of increasing dietary salt concentration on urine composition in healthy cats. **The veterinary journal**, 201:401-405.

Pak CY (1991) Etiology and treatment of urolithiasis. **American Journal of Kidney Diseases** 18:624–637.

Pedreira RS (2015) **Consumo de amido e proteína, excreção de oxalato e características da urina de gatos alimentados com ração seca**. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) – Unesp, Jaboticabal.

Picavet P, Detilleux J, Verschuren S, Sparkes A, Lulich J, Osborne C, Istasse L, Diez M (2007) Analysis of 4495 canine and feline uroliths in the Benelux. A retrospective study: 1994-2004. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 91: 247-251.

Rattan V, Sidhu H, Vaidyanathan S, Thind SK, Nath R (1994) Effect of combined supplementation of magnesium oxide and pyridoxine in calcium-oxalate stone formers. **Urological Research** 22:161–165.

- Remer T (2000) ACID-BASE IN RENAL FAILURE: influence of diet on acid-base balance. In: **Seminars in dialysis**. Boston, MA, USA: Blackwell Science Inc. p. 221-226.
- Ribaya-Mercado JD, Gershoff SN (1984) Effects of sugars and vitamin B-6 deficiency on oxalate synthesis in rats. **The Journal of Nutrition** 114:1447–1453.
- Robertson WG (1969) Measurement of ionized calcium in biological fluids. **Clinica Chimica Acta** 24:149–157.
- Robertson WG, Jones JS, Heaton MA, Stevenson AE, Markwell PJ (2002) Predicting the crystallization potential of urine from cats and dogs with respect to calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate (struvite). **The Journal of nutrition** 132:1637S-1641S.
- Robertson WG, Peacock M, Nordin BEC (1968) Activity products in stone-forming and non-stone-forming urine. **Clinical Science** 34:579–594.
- Rodríguez MDT, Bachs MP (2012) Doença do Trato Urinário Inferior Felino. In: Cortadellas Ó (ed) **Manual de Nefrologia e Urologia Clínica Canina e Felina**. MedVet Ltda, São Paulo, p. 223-38
- Russell K, Lobley GE, Rawlings J, Millward J, Harper EJ (2000) Urea kinetics of a carnivore, *Felis silvestris catus*. **British Journal of Nutrition** 84:597-604.
- Schmidt-Nielsen K (1964) **Desert animals: Physiological Problems of Heat and Water**. New York, NY: Oxford University Press p. 237.
- Seaman R, Bartges, JW (2001) Canine struvite urolithiasis. **Compendium on continuing education for the practising veterinarian-north american edition** 23:407-422.
- Smith BH, Stevenson AE, Markwell PJ (1998) Urinary relative supersaturations of calcium oxalate and struvite in cats are influenced by diet. **Journal of Nutrition** 128:2763–2764.
- Spears JK, Fahey Jr GC (2004) Resistant starch as related to companion animal nutrition. **Journal of AOAC INTERNATIONAL** 87:787–791.
- Takayama T, Fujita K, Suzuki K, Sakaguchi M, Fujie M, Nagai E, Watanabe S, Ichiyama A, Ogawa Y (2003) Control of Oxalate Formation from L-Hydroxyproline in Liver Mitochondria. **Journal of the American Society of Nephrology** 14:939-946.
- Takayama T, Fujita K, Suzuki K, Sakaguchi M, Fujie M, Nagai E, Watanabe S, Ichiyama A, Ogawa Y (2003) Control of Oxalate Formation from L-Hydroxyproline in Liver Mitochondria. **Journal of the American Society of Nephrology** 14:939-946.
- Taton DF, Hamar D, Lewis LD (1984) Evaluation of ammonium chloride as a urinary acidifier in the cat. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 184:433-436.

Taylor SS, Sparkes AH, Briscoe K, Carter J, Sala SC, Jepson RE, Reynolds BS, Scansen BA (2017) ISFM consensus guidelines on the diagnosis and management of hypertension in cats. **Journal of feline medicine and surgery** 19:288-303.

Thumchai R, Lulich JP, Osborne CA, King VL, Lund EM, Marsh WE, Ulrich LK, Koehler LA, Bird KA (1996) Epizootiologic evaluation of urolithiasis in cats: 3,498 cases (1982-1992). **Journal of the American Veterinary Medical Association** 208:547-551.

Tion MT, Dvorska J, Saganuwa SA (2015) A review on urolithiasis in dogs and cats. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine** 18:1-18.

Tran QD, Hendriks WH, van der Poel AF (2008) Effects of extrusion processing on nutrients in dry pet food. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 88:1487–1493.

Verbrugghe A, Hesta M, Daminet S, Janssens GP (2012) Nutritional modulation of insulin resistance in the true carnivorous cat: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 52:172-182.

Wagner E, Keusch C, Iben C (2006) Influence of the feed base excess on urine parameters in cats. **Journal of animal physiology and animal nutrition** 90:19-24.

Werness, P. G., Brown, C. M., Smith, L. H. & Finlayson, B. (1985) EQUIL 2: a basic computer program for the calculation of urinary saturation. **Journal of Urology** 134:1242–1244.

Willeberg P (1975) A case-control study of some fundamental determinants in the epidemiology of the feline urological syndrome. **Nordisk Veterinaermedicin** 27:1-14.

Xu H, Laflamme DP, Bartges JW, Long GL (2006) Effect of dietary sodium on urine characteristics in healthy adult cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 20:738-739.

Xu H, Laflamme DPL, Long GL (2009) Effects of dietary sodium chloride on health parameters in mature cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery** 11:435-441.

Zentek J, Schulz, A (2004) Urinary composition of cats affected by the source of dietary protein. *Journal of Nutrition* 134:2162-2165.

Zoran DL (2002) The carnivore connection to nutrition in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 221:1559–1567.

Zoran DL, Buffington CAT (2011) Effects of nutrition choices and lifestyle changes on the well-being of cats, a carnivore that has moved indoors. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 239:596-606.

APÊNDICE

Tabela 1. Pressão arterial sistólica de gatos alimentados com rações com diferentes teores de amido, proteína, sódio e hidroxiprolina

Item	Na	Baixa proteína		Alta proteína		EPM ²	P valor TR ³	P valor Tempo ⁴
		Baixa Hidx ¹	Alta Hidx	Baixa Hidx	Alta Hidx			
PAS Basal								
	Baixo	120	120	121	115	1,005	0,2940	0,1144
	Alto	131	135	121	118			
PAS Final								
	Baixo	117	130	119	128			
	Alto	131	127	125	126			

¹ Hidx = hidroxiprolina;

² Erro Padrão da Média (n =7 gatos por ração);

³ TR = comparação de médias entre os tratamentos (1 a 8);

⁴ Tempo= comparação da média inicial *versus* final dentro de cada tratamento.

Tabela 2. Concentração de eletrólitos sanguíneo de gatos alimentados com rações com diferentes teores de amido, proteína, sódio e hidroxiprolina

Item	Na	Baixa proteína		Alta proteína		EPM ²	P valor TR ³	P valor Tempo ⁴
		Baixa Hidx ¹	Alta Hidx	Baixa Hidx	Alta Hidx			
Cálcio Jejum (mmol/L)								
	Baixo	1,37	1,38	1,39	1,39	1,006	0,9517	0,0070
	Alta	1,35	1,37	1,37	1,38			
Cálcio Pós-prandial (mmol/L)								
	Baixo	1,40	1,41	1,40	1,40	1,002	0,9918	0,0003
	Alta	1,36	1,38	1,39	1,39			
Sódio Jejum (mmol/L)								
	Baixo	152	153	152	152	1,002	0,9918	0,0003
	Alta	152	153	152	152			
Sódio Pós-prandial (mmol/L)								
	Baixo	154	154	155	153	1,004	0,9734	0,1129
	Alta	154	152	155	154			
Potássio Jejum (mmol/L)								
	Baixo	4,29	4,42	4,46	4,24	1,004	0,9734	0,1129
	Alta	4,31	4,36	4,33	4,50			
Potássio Pós-prandial (mmol/L)								
	Baixo	4,39	4,63	4,30	4,44	1,004	0,8818	0,0163
	Alta	4,49	4,61	4,62	4,51			
Cloro Jejum (mmol/L)								
	Baixo	117	117	117	116	1,004	0,8818	0,0163
	Alta	116	117	117	117			
Cloro Pós-prandial (mmol/L)								
	Baixo	118	118	118	117	1,004	0,8818	0,0163
	Alta	117	117	118	117			

¹ Hidx = hidroxiprolina;

² Erro Padrão da Média (n =7 gatos por ração);

³ TR = comparação de médias entre os tratamentos (1 a 8);

⁴ Tempo = comparação da média inicial *versus* final dentro de cada tratamento.

Tabela 3. Equilíbrio ácido-básico sanguíneo de gatos alimentados com rações com diferentes teores de amido, proteína, sódio e hidroxiprolina

Item	Na	Baixa proteína		Alta proteína		EPM ²	P valor TR ³	P valor Tempo ⁴
		Baixa Hidx ¹	Alta Hidx	Baixa Hidx	Alta Hidx			
pH Jejum								
	Baixo	7,34	7,35	7,34	7,34			
	Alta	7,35	7,31	7,34	7,35			
pH Pós-prandial								
	Baixo	7,30	7,30	7,34	7,31			
	Alta	7,31	7,31	7,30	7,31	1,004	0,9048	<,0001
PO2 Jejum								
	Baixo	38,9	38,6	39,6	39,9			
	Alta	39,2	39,4	37,2	37,7	1,005	0,6727	0,0014
PO2 Pós-prandial								
	Baixo	41,4	43,2	41,3	39,6			
	Alta	40,5	39,9	38,2	40,2			
PCO2 Jejum								
	Baixo	39,5	38,4	38,7	39,5			
	Alta	38,8	41,7	39,0	39,0	1,004	0,9085	<,0001
PCO2 Pós-prandial								
	Baixo	44,2	43,9	42,3	45,5			
	Alta	45,6	45,0	48,9	44,6			
cHCO3 Jejum								
	Baixo	20,9	20,5	20,6	20,8			
	Alta	20,9	20,2	20,3	20,9	1,005	0,8601	<,0001
cHCO3 Pós-prandial								
	Baixo	21,0	20,9	22,4	22,0			
	Alta	22,5	22,0	23,1	21,8			
Excesso de Bases Jejum								
	Baixo	-4,42	-4,65	-4,66	-4,62			
	Alta	-4,28	-5,75	-5,05	-4,23	1,005	0,8377	0,0819
Excesso de Bases Pós-prandial								
	Baixo	-5,38	-5,43	-3,30	-4,40			
	Alta	-3,85	-4,28	-3,67	-4,33			
Osmolaridade Jejum								
	Baixo	305	305	305	304			
	Alta	305	306	304	303	1,006	0,9934	0,0167
Osmolaridade Pós-prandial								
	Baixo	307	306	309	305			
	Alta	307	304	308	306			

¹ Hidx = hidroxiprolina;

² Erro Padrão da Média (n =7 gatos por ração);

³ TR = comparação de médias entre os tratamentos (1 a 8);

⁴ Tempo = comparação da média inicial versus final dentro de cada tratamento.