

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE DIMETILARGININA SIMÉTRICA (SDMA) EM
CÃES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA SUBMETIDOS A HEMODIÁLISE
INTERMITENTE

ANDRÉ NANNY LE SUEUR VIEIRA

Botucatu - SP

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE DIMETILARGININA SIMÉTRICA (SDMA) EM
CÃES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA SUBMETIDOS A HEMODIÁLISE
INTERMITENTE

ANDRÉ NANNY LE SUEUR VIEIRA

Dissertação apresentada junto ao Programa de
Pós-Graduação em Medicina Veterinária da
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
da Universidade Estadual Paulista para
obtenção do título de Mestre em Medicina
Veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Priscylla Tatiana C. Guimarães Okamoto

Botucatu - SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Vieira, Andre Nanny Le Sueur.

Concentração sérica de Dimetilarginina simétrica (SDMA) em cães com doença renal crônica submetidos a hemodiálise intermitente / Andre Nanny Le Sueur Vieira. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Priscylla Tatiana C. Guimarães Okamoto
Capes: 50501062

1. Aminoácidos. 2. Arginina. 3. Marcadores bioquímicos. 4. Rins - Doenças. 5. Diálise. 6. Taxa de filtração glomerular.

Palavras-chave: SDMA; biomarcadores; diálise; nefropatias; taxa de filtração glomerular.

Nome do autor: André Nanny Le Sueur Vieira

Título: CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE DIMETILARGININA SIMÉTRICA (SDMA) EM CÃES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA SUBMETIDOS A HEMODIÁLISE INTERMITENTE.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Priscylla Tatiana C. Guimarães Okamoto
Presidente e Orientadora
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Pasqual Barretti
Membro
Departamento de Nefrologia
FMB – UNESP – Botucatu

Prof^a. Dr^a. Alessandra Melchert
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ - UNESP – Botucatu

Data da defesa: 23 de Abril de 2018

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Tabela da classificação e estadiamento da DRC pela IRIS de acordo com as concentrações de creatinina sérica, SDMA e a subclassificação como proteinúria e hipertensão.....7

Figura 2. Representação esquemática da metilação da arginina pelas enzimas proteína arginina metiltransferases (PRMTs) e sua atividade catalítica, formando ADMA e SDMA.....11

ABREVIATÓES

ADMA – Dimetilarginina assimétrica

DDAH – dimetilarginina dimetilamonohidrolase

DRC – Doença renal crônica

HDI- Hemodiálise intermitente

IRA – Injúria renal aguda

IRIS – Sociedade Internacional de Interesse Renal

NO – Óxido nítrico

NOs – Óxido nítrico sintase

PRMTs – Enzimas proteína-arginina metiltransferase

sCr – Creatinina sérica

SDMA – Dimetilarginina simétrica

TFG – Taxa de filtração glomerular

TSR – Terapia de substituição renal

URR – Taxa de redução da ureia

SUMÁRIO

RESUMO	01
ABSTRACT	02
CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA	03
1. INTRODUÇÃO	04
2. REVISÃO DE LITERATURA	06
2.1 Doença renal crônica	06
2.2 Hemodiálise intermitente	08
2.3 Biomarcadores e taxa de filtração glomerular	09
2.3.1 Creatinina sérica	10
2.3.2 Dimetilarginina simétrica	11
3. OBJETIVOS	16
3.1 Objetivos gerais	16
3.2 Objetivos específicos	16
CAPÍTULO II – TRABALHO CIENTÍFICO	17
Seção 1. “Symmetric Dimethylarginine Concentrations in Dogs with IRIS Stage 4 Chronic Kidney Disease Undergoing Intermittent Hemodialysis”.	18
CAPÍTULO III – DISCUSSÃO GERAL	54
CONCLUSÕES FINAIS	58
REFERÊNCIAS	60
NORMAS DA REVISTA	70

VIEIRA, A.N.L.S. Concentração sérica de dimetilarginina simétrica (SDMA) em cães com doença renal crônica submetidos a hemodiálise intermitente. Botucatu, 2017. 70p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (Unesp).

RESUMO

A dimetilarginina simétrica (SDMA) é um aminoácido formado da metilação da arginina, liberada na corrente sanguínea durante a degradação proteica e excretada principalmente pela urina. Este aminoácido foi descoberto há 45 anos, presente na urina humana e estudado como possível biomarcador pela sua aparente estrita excreção renal e por suas concentrações serem altamente correlacionadas com a taxa de filtração glomerular (TFG) em animais e seres humanos. Recentemente, este biomarcador foi validado e inserido na Medicina Veterinária pelo seu rico valor no diagnóstico precoce da doença renal crônica (DRC), assim como na sua monitoração ao longo da doença e também como um biomarcador alternativo na avaliação da TFG. Este trabalho visou avaliar o comportamento da SDMA em pacientes com DRC classificados no estágio 4 submetidos à terapia de hemodiálise intermitente e no grupo controle, bem como comparar e correlacionar seus valores com a creatinina sérica (sCr) em ambos os grupos. Foram avaliados 24 animais, todos previamente diagnosticados e classificados no estágio 4. SDMA e sCr foram avaliados antes e após os protocolos terapêuticos. Os resultados obtidos foram a diminuição da concentração sérica de SDMA e sCr após o tratamento dialítico. Já no grupo fluído houve a diminuição dos valores de sCr e inversamente, o aumento das concentrações séricas de SDMA. Assim, apesar do SDMA ser um excelente biomarcador de TFG e de diagnóstico precoce da DRC, este não pode ser utilizado para avaliação e monitoração em pacientes submetidos a hemodiálise intermitente.

Palavras-chave: SDMA, taxa de filtração glomerular, diálise, biomarcadores, nefropatias.

VIEIRA, A.N.L.S. Serum concentration of symmetric dimethylarginine (SDMA) in dogs with chronic kidney disease undergoing intermittent hemodialysis. Botucatu, 2017. 70p. Thesis dissertation (Master degree) - School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, São Paulo State University (Unesp).

ABSTRACT

Symmetrical dimethylarginine (SDMA) is an amino acid formed from the methylation of arginine, released into the bloodstream during protein degradation and excreted primarily by urine. This amino acid was discovered 45 years ago in human urine and studied as a possible biomarker due to be strictly eliminated by renal excretion and its concentrations highly correlates with glomerular filtration rate (GFR) in animals and humans. Recently, this biomarker was validated and inserted in Veterinary Medicine for its rich value in the early diagnosis of chronic kidney disease (CKD) as well as its monitoring throughout the disease and as an alternative biomarker in the evaluation of GFR. This study aimed to evaluate the behavior of SDMA in dogs with CKD in stage 4 submitted to intermittent hemodialysis therapy and in the control group, as well as to compare and correlate their values with serum creatinine (sCr) in both groups. We evaluated 24 animals, all previously diagnosed and classified in stage IV. SDMA and sCr were evaluated before and after the therapeutic protocol. The results obtained were lower serum concentrations of SDMA and sCr after the dialytic treatment. However, in the fluid therapy group, inversely sCr levels lowered while SDMA serum concentrations increased. Thus, despite SDMA is an excellent biomarker of GFR and early diagnostic CKD, we do not recommend its use for diagnosis and follow up in dogs undergoing intermittent hemodialysis.

Key words: SDMA, glomerular filtration rate, dialysis, biomarkers, nephropathies.

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

A Doença Renal Crônica (DRC) é a doença mais comum que afeta os rins de pequenos animais e pode ser definida pela redução da sua taxa de filtração glomerular (TFG) ou na presença de uma anormalidade funcional ou estrutural em ambos os rins, além de apresentar o caráter progressivo e irreversível (POLZIN, 2011).

Baseado na classificação e estadiamento pela Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS), a DRC é dividida em quatro estádios, de acordo com os níveis séricos de creatinina e de dimetilarginina simétrica (SDMA). Esta também deve ser subcategorizada, baseando-se na presença de proteinúria e na pressão arterial do animal (IRIS, 2016).

Animais com DRC também podem sofrer uma injúria renal aguda (IRA) no curso da DRC, piorando sua função renal, requerendo uma terapia suporte de substituição renal (TSR) quando irresponsivos ao tratamento clínico (LANGSTON, 2017; ANCIERNO; LABATO, 2017). Em termos de terapia de substituição renal, a hemodiálise intermitente é a terapia mais eficaz e curta na remoção de substâncias tóxicas e na correção dos distúrbios hidroeletrólíticos e acidobásicos em medicina veterinária (COWGILL; GUILLAUMIN, 2013).

Esta terapia pode ser tanto prescrita em animais com DRC associados à uma lesão renal intrínseca “IRA na DRC”, quanto na melhoria da sintomatologia clínica daqueles que possuem uma TFG comprometida e que subsequentemente acumulam compostos nitrogenados e alguns eletrólitos os quais deveriam ser fisiologicamente eliminados (COWGILL; FRANCEY, 2012).

O SDMA é um aminoácido oriundo da metilação da pós-tradução da arginina por proteínas tipo 2 metiltransferases e primariamente eliminado pela via renal, sem sinais de reabsorção tubular aparente para reutilização futura (NABITY et al., 2015; RELFORD et al., 2016).

Este biomarcador foi descoberto há 47 anos em pesquisas humanas e foi estudado em pacientes com DRC em tratamento dialítico. Ademais, o SDMA também está intimamente correlacionado com a TFG em estudos comparados com o *clearance* de inulina em humanos e nos doadores para transplante de pacientes terminais (KIELSTEIN et al., 2011; HOKAMP; NABITY, 2016).

Diante da introdução e validação deste novo biomarcador como diagnóstico e monitoração da DRC em todos seus estádios, ainda é desconhecido se este aminoácido, derivado de uma metilação proteica, é removido pelos processos e princípios dialíticos ou se o mesmo permanece íntegro, tornando-o um biomarcador útil para aqueles pacientes que fazem uso desta terapia dialítica amplamente prescrita em todo o mundo na prática veterinária. Assim sendo, o presente estudo tem por mérito avaliar o comportamento e a validação deste inovado biomarcador em cães com DRC no estágio quatro, submetidos à terapia de hemodiálise intermitente.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Doença renal crônica

A DRC é a terceira doença relatada como causa de óbito em cães (CHEW *et al.*, 2011). Sua etiopatogenia é multifatorial, responsável por alterações estruturais e funcionais do rim. Seu diagnóstico baseia-se no exame clínico, exames laboratoriais e de imagem e, principalmente, pelo aspecto histopatológico renal (BUENO DE CAMARGO *et al.*, 2006). Entretanto, na maioria das vezes, sua causa de base não é determinada (CHEW *et al.*, 2011). A DRC apresenta uma elevada casuística e pode ser diagnosticada em diferentes faixas etárias, seja ela adquirida por animais de todas as idades ou em animais jovens, pela via congênita ou *familiar* (predisposição genética entre raças) (BARTGES, 2012; KOGIKA *et al.*, 2015).

Os sinais clínicos iniciais incluem poliúria e polidipsia compensatória, resultantes da incapacidade renal de concentrar urina devido a perda da hipertonicidade do interstício medular renal e do alto fluxo de filtrado nos néfrons remanescentes (KOGIKA *et al.*, 2015). Desidratação e hipocalemia são observadas frequentemente, devido a incapacidade total da reabsorção de água e potássio pelos túbulos renais, culminando em poliúria persistente e polidipsia compensatória (POLZIN, 2011).

Cães com DRC são classificados de acordo com a concentração sérica de creatinina em quatro estádios, de acordo com a Sociedade Internacional de Interesse Renal (*Internacional Renal Interest Society* - IRIS), e aceitos pela Sociedade Americana e Europeia de Nefrologia e Urologia Veterinária. Além da concentração sérica de creatinina e do SDMA como critério de classificação para estadiamento, sua subclassificação baseia-se nos valores da razão proteína-creatinina urinária (RPC) e da pressão arterial sistólica (PAS) para o estabelecimento de diagnóstico, tratamento e prognóstico da enfermidade (Figura 1) (IRIS, 2016).

Hipertensão, proteinúria, acidose metabólica, hipocalcemia e hiperfosfatemia são outros achados frequentemente relatados em pacientes com DRC, além de distúrbios gastro-entéricos e alterações neurológicas devido ao

acúmulo de toxinas como ureia, amônia e gastrina, entre outros compostos, quando não adequadamente excretados pelos rins (POLZIN, 2011; BARTAGES, 2012; KOGIKA *et al.*, 2015).

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

Figura 1. Tabela da classificação e estadiamento da DRC pela IRIS de acordo com as concentrações de creatinina sérica, SDMA e a subclassificação como proteinúria e hipertensão (IRIS, 2016).

Nos últimos anos, grandes foram os avanços na conduta terapêutica do paciente nefropata crônico terminal. As terapias de substituição renal são alternativas terapêuticas que envolvem princípios dialíticos e técnicas extracorpóreas, responsáveis pela eliminação de toxinas e metabólitos acumulados na presença de uma lesão renal intrínseca (ANCIERNO, 2011; BLOOM; LABATO, 2011; BARTAGES, 2012).

2.2 Hemodiálise intermitente

A hemodiálise intermitente (HDI) é uma terapia de substituição renal extracorpórea, dividida em sessões dialíticas de curta duração (ANCIERNO, 2011; BLOOM; LABATO, 2011; COWGILL 2011). Esta técnica é indicada principalmente na remoção de fármacos e toxinas, injúria renal aguda (IRA), IRA na DRC e na própria DRC (MELCHERT *et al.*, 2016). Esta técnica dialítica é utilizada na medicina veterinária há 40 anos e classificada como a mais eficiente entre as modalidades de terapias de substituição renal, devido ao seu rápido efeito de remoção das pequenas moléculas (ureia, creatinina, eletrólitos, algumas medicações e toxinas) (COWGILL, 2011).

As sessões podem ser realizadas entre duas a três vezes por semana, de acordo com o estado geral do paciente nefropata, especialmente aqueles que apresentam DRC (BLOOM; LABATO, 2011). A eficácia desta modalidade terapêutica é correlacionada principalmente devido ao período interdialítico, onde as moléculas dialisáveis podem aumentar novamente na corrente sanguínea (COWGILL; FRANCEY, 2012; ANCIERNO; LABATO, 2017).

A duração de cada sessão é baseada no quadro clínico geral do paciente e no volume de remoção desejado dos compostos nitrogenados circulantes calculados previamente por meio da análise da taxa de redução de ureia (URR) (COWGILL, 2011). A HDI é atualmente empregada em universidades, em centros de referência e em unidades de tratamento intensivo de todo o mundo (COWGILL; FRANCEY, 2012).

A HDI é a terapia de substituição renal extracorpórea rotineiramente aplicada em humanos com DRC em fase terminal e principalmente naqueles que aguardam a oportunidade de um transplante renal. No entanto, sua realidade na medicina veterinária, quando indicada em cães com DRC, tem o objetivo de promover melhora da qualidade de vida dos pacientes nefropatas que não respondem adequadamente ao tratamento médico conservativo (COWGILL; GUILLAUMIN, 2013).

2.3 Biomarcadores na prática clínica e taxa de filtração glomerular

Com o avanço e o largo investimento das pesquisas médicas, a comunidade científica visa cada dia mais a necessidade de um diagnóstico precoce, antes mesmo que os sinais clínicos das doenças sejam manifestados em seus pacientes (YERRAMILLI et al., 2016). Para este propósito, a investigação e o emprego de marcadores biológicos ou “biomarcadores” foi desenvolvido, em conjunto com grandes laboratórios de pesquisa, com o objetivo de um tratamento melhor, mais curto e mais barato, de modo a proporcionar uma melhor qualidade de vida para o paciente (RIFAI et al., 2006).

Na medicina veterinária, a utilização de biomarcadores também possui sua participação presente e atuante, principalmente nas especialidades cardiovasculares, gastro-entéricas, oncológicas, endócrinas, reprodutoras e nefro-urológicas (TARNOW et al., 2007; ECKERSALL; BELL 2010; HENRY, 2010). Os principais biomarcadores envolvidos no diagnóstico precoce das doenças renais são aqueles que comprovam e demonstram: uma redução da taxa de filtração glomerular (TFG), a presença de lesões glomerulares, tubulares e em ductos, bem como a presença de doenças autoimunes antecedentes a lesão renal intrínseca (VON HENDYY-WILLSON; PRESSLER, 2011; RELFORD et al., 2016; YERRAMILLI et al., 2016).

A TFG é considerada como o único e mais sensível teste para avaliação da função renal, sendo que, qualquer diminuição observada indica presença ou progressão da doença renal (RULE; ELSHERBINY, 2012; YERRAMILLI et al., 2016). Em medicina veterinária, mais especificamente na clínica médica de pequenos animais, a IRIS propôs um sistema de avaliação baseada nos valores da creatinina sérica e mais recentemente, associada também aos valores do SDMA (IRIS, 2016).

No passado, a avaliação da TFG era considerada impraticável na medicina veterinária diante da grande dificuldade de coleta e mensuração dos elementos biológicos (sangue, urina ou ambos) em um tempo específico. Atualmente, a TFG pode ser realizada por três métodos de *clearance* realizados na rotina clínica de alguns laboratórios e hospitais universitários: O *clearance* plasmático de iohexol, inulina e de creatinina (GLEADHILL; MICHELL, 1996; WATSON et al., 2002; LEFEBVRE et al., 2004; BEXFIELD et al., 2008).

O diagnóstico padrão para a determinação da TFG é por meio do *clearance* plasmático de iohexol e inulina, uma ferramenta simples e valiosa capaz de avaliar a função renal e também colaborar para o seu estadiamento (VON HENDYY-WILLSON; PRESSLER, 2011). Este exame consiste na administração da substância por via intravenosa e da coleta de amostras de sangue 2, 3 e 4 horas após a administração do marcador em acessos diferentes de onde o mesmo foi injetado inicialmente (BEXFIELD et al., 2008).

Devido ao alto custo e acesso limitado da avaliação da TFG através do iohexol e inulina, a creatinina sérica ainda é utilizada como o principal biomarcador substituto para tal em todo o mundo (POLZIN, 2013).

2.3.1 Creatinina sérica

Apesar da creatinina sérica ser o biomarcador mais utilizado mundialmente há mais de 100 anos, este produto do metabolismo muscular é considerado como um marcador limitado e insensível para a avaliação renal, pois além de apresentar 20% de excreção de origem tubular, ela apresenta valores normais até que a TFG seja reduzida aproximadamente em 75% (FINCO et al., 1995; NABITY et al., 2015; HALL et al., 2016a; YERRAMILLI et al., 2015).

Outro fator relevante é que a creatinina pode ser influenciada por fatores de origem extra renais, possuindo uma íntima relação com a massa muscular, raça e idade de cães e gatos, portanto, animais idosos e caquéticos hígidos ou acometidos por demais comorbidades demonstram valores subestimados de creatinina. Ainda, aqueles que apresentarem maiores níveis de massa muscular também colaboram por um falso valor nos valores final da representatividade da creatinina sérica como biomarcador de função renal (HALL et al., 2015).

A creatinina sérica também pode ter suas dosagens influenciadas em casos de animais com histórico pós-prandial; em três estudos em cães foi relatado que os valores de creatinina sérica podem aumentar em até 0,4mg/dL em cães alimentados e estes valores podem perdurar por até 10 horas (EVANS, 1987; MÉDAILLE et al., 2004; PREISS et al., 2007).

Sabe-se também que em felinos com diagnóstico de hipertireoidismo, as concentrações séricas de creatinina são diminuídas, devido a elevada TFG associada a baixa quantidade de massa muscular corpórea (WILLIAMS et al.,

2010). Assim, a verdadeira função renal de felinos com hipertireoidismo só poderá ser avaliada mediante o tratamento prévio da endocrinopatia primária ou pelo SDMA (BOAG et al., 2007; IRIS, 2015).

A creatinina sérica também não é um bom marcador na sinalização de lesão renal aguda, principalmente nos quadros de sepse, devido a sua baixa produção decorrente dos distúrbios hepáticos, térmicos e pressóricos concomitantes, os quais levam a uma subestimação e culminam em disparidade cinética entre a função renal aparente e a real (DOI et al., 2009).

Adicionalmente, a creatinina sérica pode apresentar falsos valores laboratoriais nas condições de amostras hemolisadas, lipêmicas, ictéricas e também pode demonstrar-se aumentada sob a influência de certas medicações (cefalosporinas, aminoglicosídeos, trimetropina e fenacemida), causando um efeito aditivo ao valor basal da creatinina sérica do paciente em tratamento (NANJI et al., 1987; PEAKE; WHITING, 2006).

2.3.2 Dimetilarginina simétrica

A dimetilarginina simétrica é um aminoácido metilado (arginina) de peso molecular similar a creatinina e formada por meio da degradação proteica de proteínas oriundas da alimentação (HOKAMP; NABITY, 2016). Quando degradadas por enzimas catalisadoras, estas proteínas são convertidas em aminoácidos essenciais, àqueles que o corpo é incapaz de produzir (SCHWEDHELM; BÖGER, 2011). A arginina é um aminoácido essencial durante a infância e que após a maturidade dos mamíferos pode ser sintetizada pelos rins e fígado (KEELE, 2008).

Sua metilação é um mecanismo comum pós-traducional da modificação proteica. As enzimas proteína-arginina metiltransferases tipos 1 e 2 (PRMTs) são responsáveis pela atividade catalítica da arginina em dimetilarginina assimétrica (ADMA) e em dimetilarginina simétrica (SDMA), sendo ambas eliminadas pela urina (Figura 2) (FLECK et al., 2003).

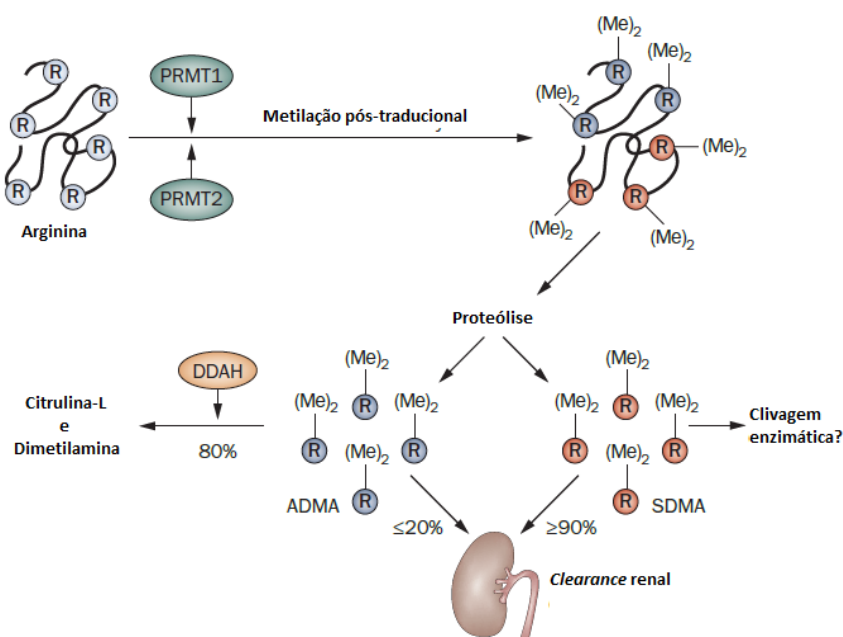


Figura 2. Representação esquemática da metilação da arginina pelas enzimas proteína arginina metiltransferases (PRMTs) e sua atividade catalítica, formando ADMA e SDMA (SCHWEDHELM; BÖGER, 2011).

O ADMA é degradado novamente gerando dimetilamina e L-Citrulina através da enzima dimetilarginina dimetilaminohidrolase (DDAH) (FLECK *et al.*, 2003; SCHWEDHELM; BÖGER, 2011). DDAH também pode ser encontrado em tecidos pancreáticos, renais e vasculares (ITO *et al.*, 1999).

O primeiro relato da ADMA foi feito por Vallance *et al.* (1992), que a descreve como um inibidor endógeno da síntese de óxido nítrico (ON), além de ser um competidor da arginina, substrato utilizado pela enzima óxido nítrico-sintase (ONs). Diferente da ADMA, acreditava-se que a SDMA seja completamente eliminada pela urina. No entanto, novos dados sugerem que a SDMA também possui, até certo ponto, eliminação enzimática (SCHWEDHELM; BÖGER, 2011).

O ON é um potente vasodilatador e possui importantes efeitos como mediador de processos antitrombóticos, inibição do crescimento e inflamação (MONCADA; HIGGS, 2006). Níveis basais de ON são necessários para a manutenção do fluxo sanguíneo renal, particularmente em níveis de artéria aferente, favorecendo a biogênese celular mitocondrial. Porém, NO também é um radical livre e, quando em excesso, é capaz de inibir a cadeia de fosforilação

oxidativa e reduzir o consumo de oxigênio levando a apoptose e necrose tecidual (MOTE, *et al.*, 2008).

A disfunção endotelial é um dos principais mecanismos iniciais do processo fisiopatológico das nefropatias (SCHIFFRIN *et al.*, 2007). Estudos clínicos realizados em humanos, utilizam a ADMA como um importante biomarcador precoce nas doenças cardiovasculares e nas nefropatias (BÖGER; ZOCCALI, 2003). Humanos com DRC apresentam altas concentrações de ADMA e SDMA devido ao dano do parênquima renal, resultando em uma diminuição da atividade da enzima DDAH (DAVIDS *et al.*, 2012; HOV *et al.*, 2015).

A SDMA é a segunda variante da dimetilação da arginina, a qual também participa na inibição da produção de ON (FLECK *et al.*, 2003). Além de ser objeto de estudos em doenças cardiovasculares, a SDMA é o biomarcador mais utilizado nas doenças renais por apresentar uma exclusiva eliminação pela urina (KIELSTEIN *et al.*, 2011; SCHWEDHELM; BÖGER, 2011; NABITY *et al.*, 2015).

NABITY *et al.* (2015) relataram em seu estudo, o qual validou o emprego do SDMA em cães de nefropatia hereditária ligada ao cromossomo X, que este novo biomarcador detectou perdas inferiores a 30% da função renal em cães com doença renal crônica de origem familiar, enquanto a creatinina sérica, nestes mesmos animais, detectou apenas perdas entre 50% a 60% da função renal após uma perda de 75% de massa de néfron, comprovando a eficácia da SDMA como um melhor biomarcador precoce. Concentrações sanguíneas, séricas ou plasmáticas, acima de 14µg/dl sugerem uma redução da função renal, a considerar cães e gatos com valores de creatinina <1.4 ou <1.6mg/dl, respectivamente, estadiando-se estes pacientes em DRC estágio 1 (IRIS, 2015).

Para a comunidade científica da IRIS, concluiu-se também que valores de SDMA $\geq 25\mu\text{g/dl}$ em pacientes com baixo escore corporal estadiados em DRC II baseado nos valores da sCr, podem indicar um nível de disfunção renal subestimada, recomendando assim que nestes pacientes, o tratamento seja o mesmo que àqueles estadiados em DRC 3. Da mesma maneira, os valores de SDMA $\geq 45\mu\text{g/dl}$ de cães em sobrepeso estadiados em DRC III baseado nos valores da sCr, podem também indicar um nível de disfunção renal subestimada, recomendando assim o tratamento destes animais como cães com DRC estágio 4 (IRIS, 2015).

Na medicina veterinária e na medicina humana, diversos estudos controlados e randomizados comprovaram que a SDMA está fortemente correlacionada à TFG em felinos, canídeos e humanos, quando comparada com demais exames “padrão ouro” para avaliação de TFG. Além disso, quando avaliada concomitantemente com a creatinina sérica, concluiu-se que a creatinina é um pobre e tardio biomarcador na avaliação da função renal (KIELSTEIN *et al.*, 2006; KIELSTEIN *et al.*, 2011; DIXON *et al.*, 2013; HALL *et al.*, 2015; ; NABITY *et al.*, 2015; HALL *et al.*, 2016a). O SDMA em felinos aumentou constantemente de meses a anos mais cedo que a creatinina sérica, comprovando um estadiamento precoce da DRC, em até quatro anos antes do aumento da creatinina sérica (HALL *et al.*, 2014a).

HALL *et al.* (2014b) relataram que além da SDMA estar correlacionada com a TFG, este biomarcador também apresentou valores crescentes e progressivos quando comparado à creatinina sérica em felinos em fase de perda muscular. Adicionalmente, os valores da SDMA aumentaram durante o envelhecimento dos felinos, sendo o oposto da creatinina sérica, que diminuiu durante a mesma fase.

Para NABITY *et al.* (2015) e HALL *et al.* (2016a), a SDMA avaliada em cães com DRC progressiva também está intimamente correlacionada com a TFG. A TFG do grupo de cães nefropatas apresentavam resultados similares entre si por meio do *clearance* de iohexol, enquanto a SDMA apresentou valores maiores neste mesmo grupo, considerando-se um marcador mais confiável e de diagnóstico precoce na avaliação da TFG.

Também já foi comprovado que o SDMA não se altera em cães e gatos que apresentaram baixos índices de massa muscular (HALL *et al.*, 2014b; HALL *et al.*, 2015; HALL *et al.*, 2016a). Em contrapartida, devido a sua extrema dependência correlacionada à massa muscular, a creatinina sérica torna-se um biomarcador limitado e insensível para a monitoração da função renal em cães idosos e/ou com baixo escore corporal (NABITY *et al.*, 2015).

Fleck *et al.* (2003) realizaram um estudo em humanos comparando a dosagem sérica de ADMA, SDMA, arginina, creatinina, ureia, albumina e colesterol em 3 grupos de pacientes nefropatas divididos em: DRC, DRC em hemodiálise e pacientes transplantados. Os autores relataram que os valores da SDMA avaliados nos diferentes grupos apresentaram um aumento 4 vezes

superior no grupo DRC e 5,5 vezes superior no grupo em hemodiálise, comprovando sua sensibilidade na avaliação da função renal. Neste mesmo artigo, concluiu-se também que a severidade da lesão renal é mais influenciada pela relação entre SDMA e arginina do que pela relação ADMA e arginina.

Hall *et al.* (2016b) relataram um estudo prospectivo nutricional em cães nefropatas e geriatrias sem azotemia, com concentrações séricas elevadas de SDMA. A pesquisa de seis meses demonstrou que quando alimentados pela ração terapêutica teste do estudo, estes apresentaram uma melhora da função renal, redução dos valores elevados de SDMA e normais de creatinina, enquanto o grupo alimentado pelas rações comerciais apresentou aumento das concentrações de SDMA (já aumentadas), não havendo interferência na concentração de creatinina sérica. Todavia, ainda não existem estudos veterinários que avaliem este marcador em pacientes em desnutrição clínica ou em efeito catabólico patológico.

Relford *et al.* (2016) reforçaram que tal biomarcador pode ser utilizado em três diferentes formas: como marcador de diagnóstico precoce, como marcador endógeno de TFG e como marcador de monitoração da DRC. Por ser específico às nefropatias primárias e diferentemente da creatinina sérica, este marcador não se encontra aumentado nas doenças hepáticas, no hiperadrenocorticismismo e nas cardiopatias, a não ser que haja uma nefropatia concomitante (YERRAMILLI *et al.*, 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Avaliação do efeito da hemodiálise intermitente no biomarcador SDMA em cães com doença renal crônica em estágio terminal (Estádio 4).

3.2 Objetivos específicos

Avaliar a estabilidade da SDMA no grupo de hemodiálise intermitente em cães com doença renal crônica no estágio 4, bem como no grupo controle

Avaliar a aplicabilidade do emprego deste biomarcador em cães com doença renal crônica no estágio 4 e submetidos à terapia dialítica.

Avaliar e correlacionar as concentrações séricas entre a SDMA, Creatinina em ambos grupos estudados.

CAPÍTULO II
ARTIGO CIENTÍFICO

ARTIGO CIENTÍFICO

Normas da Revista: Journal of Veterinary Internal Medicine

[http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/\(ISSN\)1939-](http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/(ISSN)1939-)

[1676/asset/homepages/NewAuthorGuidelines.pdf?v=1&s=e92401745b009eb58aa66628c8c](http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/(ISSN)1939-1676/asset/homepages/NewAuthorGuidelines.pdf?v=1&s=e92401745b009eb58aa66628c8c)

[9dd83d695e9e7&isAguDoi=false](http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/(ISSN)1939-1676/asset/homepages/NewAuthorGuidelines.pdf?v=1&s=e92401745b009eb58aa66628c8c)

Title: Symmetric Dimethylarginine Concentrations in Dogs with IRIS Stage 4 Chronic

Kidney Disease Undergoing Intermittent Hemodialysis

Authors:

1) André Nanny Vieira Le Sueur, DVM, MSc - Department of Veterinary Clinics, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University - UNESP, São Paulo, Brazil. E-mail: andre.nlsv@gmail.com

2) Silvano Salgueiro Geraldês, DVM - Department of Veterinary Clinics, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University - UNESP, São Paulo, Brazil. E-mail: silvano@fmvz.unesp.br

3) Alessandra Melchert, DVM, PhD - Department of Veterinary Clinics, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University - UNESP, São Paulo, Brazil. E-mail: alessandra@fmvz.unesp.br

- 4) Regina Kiomi Takahira, DVM, PhD - Department of Veterinary Clinics, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University - UNESP, São Paulo, Brazil. E-mail: takahira@fmvz.unesp.br
- 5) Michael Coyne, VMD, PhD - IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA. E-mail: michael-coyne@idexx.com
- 6) Rachel Murphy - IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA. E-mail: rachel-murphy@idexx.com
- 7) Donald Szlosek, MSc– IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA. Email: donald-szlosek@idexx.com
- 8) Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães-Okamoto, DVM, PhD - Department of Veterinary Clinics, School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University - UNESP, São Paulo, Brazil. E-mail: tatiana@fmvz.unesp.br

Running Head: SDMA in Dogs Undergoing Hemodialysis.

Keywords: canine, SDMA renal biomarker, hemodialysis, glomerular filtration rate

Complete list of abbreviations:

ADMA – asymmetric dimethylarginine

AKI – acute kidney injury

CKD – chronic kidney disease

48 DDS – dialysis disequilibrium syndrome
49 GFR –glomerular filtration rate
50 IF – intravenous fluid therapy
51 IH – intermittent hemodialysis
52 IRIS – International Renal Interest Society
53 RRT – renal replacement therapy
54 sCr – serum creatinine
55 SBP – systolic blood pressure
56 SDMA – symmetric dimethylarginine
57 UPC – urine protein:creatinine ratio
58 URR – urea reduction ratio

59

60 ***Corresponding author:** Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães Okamoto - Veterinary
61 Clinic Department, School of Veterinary Medicine and Animal Science. Rua Prof. Doutor
62 Walter Mauricio Correa, s/n, Unesp Campus de Botucatu. CEP: 18618-681, Botucatu, São
63 Paulo, Brazil. E-mail: tatiana@fmvz.unesp.br

64

65 This study is a collaborative project between IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME
66 and the School of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo State University –
67 UNESP, Campus of Botucatu, SP.

68

69 **Abstract**

70

Background: Symmetric dimethylarginine (SDMA) primarily eliminated by renal excretion, and its concentration highly correlates with glomerular filtration rate (GFR) in animals and humans. This biomarker can be an earlier indicator of kidney dysfunction than serum creatinine (sCr).

Objectives: The objective of the prospective study was to evaluate and quantify the effects of intravenous fluid therapy (IF) or intermittent hemodialysis (IH) on renal function in a randomized group of dogs previously diagnosed with International Renal Interest Society (IRIS) stage 4 Chronic Kidney Disease (CKD).

Animals: Twenty-four client-owned dogs with naturally occurring CKD

Methods: Serum from 14 dogs treated with IH and 10 dogs treated with IF was submitted for measurement of sCr and IDEXX SDMA[®]. Dogs in each treatment group received up to 5 treatment sessions, administered 48 hours apart.

Results: Significant differences were seen between treatment groups. Hemodialysis had the greatest effect on the clearance of SDMA ($P < .001$), sCr ($P < 0.001$), and blood urea ($P < 0.001$). A significant association was also found between the urea reduction ratio (URR) and SDMA. For each 10% increase in URR there was a 6.2 µg/dL decrease in SDMA ($P = 0.002$).

Conclusions and Clinical Importance: IH proved to be a better and highly effective therapeutic modality on the management of dogs with IRIS CKD Stage 4. Although SDMA is dialyzable methylarginine compound, this biomarker has a complex interplay in such patients, and with limited extraction. IH may not be an effective long-term therapeutic modality for SDMA removal.

Renal diseases are highly prevalent in companion animal clinical practice and can be associated with poor prognosis, especially when they are diagnosed late in the course of the disease.¹ Chronic kidney disease (CKD) can be a combination of single or multiple insults to the nephron that when incompletely repaired, leads to irreversible damage to the structure and function of the renal parenchyma in one or both kidneys.²

Recently, the International Renal Interest Society (IRIS) recommends using sCr to diagnose and stage CKD, acknowledging SDMA as an adjunct for both diagnosis and staging.³ SDMA is an amino acid originating from protein degradation through arginine methylation and it is a biomarker that is freely filtered by the kidneys.^{1,2,4,5} This biomarker is similar in size to sCr and its serum concentrations correlate well with glomerular filtration rate (GFR) and with sCr in humans, dogs, cats, rats, and mice.⁴ In animals, SDMA has been shown to have a greater sensitivity, and concentrations increase with an average of 40% decrease in GFR as compared to sCr levels that only increase when approximately 75% of kidney function is impaired.^{5,6,7}

Intermittent hemodialysis (IH) is a renal replacement therapy (RRT) widely prescribed throughout veterinary practice. Dialysis is indicated for animals undergoing severe uremic crisis due to kidney impairment, acute kidney injury (AKI), CKD, animals with fluid overload or in refractory cardiogenic pulmonary edema by diuretic therapy, acid-base and electrolyte imbalances, and for the removal of certain drugs and toxins.⁸ IH in animals with CKD is prescribed to correct comorbidities generated by the high levels of uremia and to improve the quality of life for those not responding to conservative clinical treatment.⁹

Studies in people have shown that SDMA is a dialyzable molecule similar to sCr, and its concentrations were not influenced by different types of dialyzers.^{10,11,12} Likewise, other

studies suggest that serum SDMA concentrations progressively increase according to the stages of CKD and especially in those that are receiving RRT.^{13,14,15} Thus, the main objective of this study was to evaluate the effects of IH on the serum concentrations of SDMA in dogs previously diagnosed with IRIS stage 4 CKD.

Materials and Methods

This study was approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA) of the School of Veterinary Medicine and Animal Science - São Paulo State University - UNESP, Botucatu - SP protocol nº 15/2016 - CEUA.

Animals and Study design

Twenty-four (24) client-owned dogs of both genders, and various ages and breeds were prospectively selected from the patient population of the Nephrology and Urology Small Animal Service of the Teaching Hospital of the School of Veterinary Medicine and Animal Science – São Paulo State University. All dogs were previously diagnosed with CKD stage 4 according to the IRIS reference.³

Dogs were evaluated during the 30-day period prior to inclusion into the study. Full laboratory evaluation including complete blood count, urinalysis, urine protein creatinine ratio (UPC), venous blood gas, vector-borne disease PCR's (if needed), and serum chemistry were performed weekly. All patients also received thoracic radiography and full abdominal ultrasound. Dogs that developed AKI, shock, sepsis or were on treatment for pancreatitis, autoimmune diseases, congestive heart failure, neoplasia, coagulation disorders, infectious diseases, nephrolithiasis or had a previous diagnostic of a familial or congenital renal disease were excluded from this study.

Dogs were divided into two groups: the IH group (n=14) and the intravenous fluid therapy (IF) group (n=10). Patient selection was based on pet owner's time availability, and location of residence. Following randomization, any dog assigned to the IH group whose pet owner subsequently refused IH due to religious and/or personal beliefs was moved to the IF group. Dogs in the IH group underwent up to five treatment sessions two to three times a week at a 48-hour minimum interval. Dogs in the IF group received treatment as needed for CKD either at the teaching hospital or at home by pet owners. Dogs in both groups were evaluated every 48 hours during the 2-week study.

CKD Clinical treatment

Intravenous Fluid Therapy

Dogs received an isotonic polyionic replacement crystalloid such as lactate ringer solution. The fluid rate was applied based on the estimation of hydration of the patient (body weight x estimated dehydration deficit %) plus maintenance rate (2-6 mL/kg/hr) and ongoing losses (polyuria, vomiting, and diarrhea) if present.¹⁶ During hospital operation (12 hours) a CRI rate was utilized; however, most of the patients also received subcutaneous fluids from pet owners at home on days absent from the study. Systolic blood pressure (SBP) was monitored at each visit by Doppler (Doppler Vascular Parks[®]) throughout the study period.

All pharmacological treatments were also administered at recommended dosages^{17,18}. Proton pump inhibitors and antiemetics such as omeprazole (Omeprazol, EMS S.A.; 0.5-1 mg/Kg PO q12/24h), ondansetron (Vonau[®], BIOLABFARMA; 0.1 mg/Kg PO q8h), and maropitant citrate (Cerenia[®], Zoetis; 1 mg/Kg SC q24h for 5 days), were prescribed for gastroprotection and to control nausea and vomiting if needed. Human recombinant erythropoietin (Eritromax[®], Blau Farmacêutica S.A.; 100 UI/Kg SC q48h) was used for

controlling the non-regenerative anemia when hematocrit levels were $\leq 15\%$ and iron supplementation was administered as an adjuvant therapy alongside the erythropoietin therapy. All hypertensive and proteinuric dogs received an angiotensin-converting-enzyme inhibitor as monotherapy or combined with a calcium channel blocker if needed. In this prospective study, all dogs were proteinuric. Lastly, hyperphosphatemia was managed by the prescription of aluminum hydroxide (Hidróxido de Alumínio, Sanofi, 90 mg/Kg PO q24h) and commercial renal diet (Royal Canin Renal Diet®)¹⁹

Intermittent Hemodialysis

All dialysis sessions were performed with a 4008S Fresenius machine (Fresenius Medical Care®). The selected dogs were catheterized with an 11 French double-lumen catheter (VetMedical®) in the right jugular vein subcutaneously by the Seldinger technique²⁰; subsequently, a radiographic exam was performed to ensure correct location of the catheter in the patient. For dialysis prescription and adequacy, an algorithm based on the urea reduction ratio (URR) was used only afterwards treatment and hemodialyzers (Hemoflow, Fresenius Medical Care®) were chosen according to the patient's body weight.^{8,21} All lines and dialyzers received a priming solution of sterile saline.

IH prescriptions were set with a blood flow (Qb) between 2 to 5 mL/kg/min, ultrafiltration (UF) rates were steady between 5 to 10 mL/kg/h due to the priming solution of 120 mL, and to subsequently boluses of crystalloids from poor catheter performance in three dogs. Isolate UF was not performed. Treatment time for IH in this study was prescribed between 60 to 180 minutes. A bicarbonate solution (BiBag, Fresenius Medical Care®) was added to the dialysate solution and kept in a constant flow rate (Qd) of 500 mL/min in all sessions. Anticoagulation was achieved by fractionated heparin (Liquemine, Roche®) with

an initial dose of 50 UI/kg/IV. An activated clotting time machine (MCA 2000 - Fundação Adib Jatene) was used to measure the anticoagulant effect hourly and extra boluses of heparin were applied if necessary.²² SBP was also monitored by Doppler (Parks Medical Electronics - Ultrasonic Doppler Flow Detector 811-B) every 30 minutes throughout the dialysis treatment.²³

Sample Collection and Analytical Methods

In the IF group, blood was drawn via jugular venipuncture at baseline (Pre-IF) and 30 minutes after fluid therapy treatment (Post-IF) for each in-hospital session. In the IH group baseline samples were collected from the double-lumen catheter (Pre-IH), and 60 minutes after the dialytic therapy (Post-IH) to avoid recirculation effect. After collection, blood was transferred into serum tubes and centrifuged at 3,000 g for 10 minutes. Serum was then decanted and stored in sealed aliquots, frozen and stored at – 80°C for subsequent chemical analysis. Since SDMA was only available in the United States during this study, kidney function was measured only by sCr levels at baseline and compared to SDMA concentrations at the end of the study when samples were sent as a batch to the laboratory in the USA.

SDMA and sCr were measured for each sample, in duplicate, at a commercial laboratory. SDMA was determined using a commercially available high-throughput immunoassay (IDEXX SDMA[®] Test; IDEXX Laboratories Inc., One IDEXX Drive, Westbrook, Maine 04092, USA). SCr were determined by a colorimetric method, Jaffe's reaction using picrate at alkaline pH²⁴ (Beckman Coulter, Inc, Brea CA). Both assays were performed according to the manufacturers' recommendations. The dynamic range of the 2 assays were 0–100 µg/dL and 0.045–50 mg/dL for SDMA and sCr, respectively.

Statistical Analysis

Although some animals had more than 5 treatment sessions, for this prospective study analysis only results up to and including 5 treatment sessions were included as per the study protocol. A Wilcoxon Sign Rank Sum test was used to determine if treatment groups were similar. A linear mixed effect model was used to evaluate the differences between IH and IF on measures of SDMA, sCr, phosphorus, blood urea and serum protein. The model accounted for the random effects of patient, and the fixed effects of age, breed, sex, body weight, neuter status, and sample time (pre/post). Differences in treatment groups were evaluated and reported as maximum likelihood estimates.

To evaluate how SDMA and sCr behave in combination with urea as a response to hemodialysis and fluid therapy, an interaction term for treatment and urea was added to their respective models. Likewise, a linear mixed model was performed accounting for the random effects of patient and fixed effects to test if a difference in SDMA is associated with a difference in SBP. Values were taken pre/post-treatment by day and compared.

Finally, a linear mixed model was performed accounting for the random effects of patient and the fixed effects to test if a change in SDMA or sCr concentrations is associated with URR. The difference in SDMA and sCr concentrations were taken pre/post-treatment and compared to URR and reported as maximum likelihood estimates. All linear mixed models were tested by comparing the values of the likelihood functions of the reference model (the full model) against the reduced model (the nested model without the reduced variables) using the likelihood ratio test. All statistical analysis was done using R version 3.3.3 and the linear mixed models were done using the `lme4` package²⁵ that included the random effects of “dog,” “sample,” and “duplicates.” For all tests, $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

The demographic and clinical characteristics of the study population is listed in Table 1. Among the 63 hemodialysis sessions that were performed in this study, one dog developed dialysis disequilibrium syndrome (DDS) and intradialytic hypotension (IDH) occurred in two dogs. Furthermore, increased flow resistance occurred in three dogs from the IH group due to poor catheter performance.

Pre- and post-treatment sCr and SDMA concentrations are listed for each treatment group in the appendix tables (Table A1 – Intermittent Hemodialysis; Table A2 – Intravenous Fluid Therapy; online appendix). Prior to the start of treatment, both groups were observed to have similar blood chemistries and body weight (Table 2). The change in median values for each analyte listed above over time are shown in Figure 1.

Serum values of the linear mixed effect model accounting for pre- and post-treatment and day of session was used to evaluate the differences in the maximum likelihood estimates between both therapies are found in Table 3. Significant differences in the maximum likelihood estimate of the mixed effect models ($P < 0.001$) were seen between treatment groups for SDMA, sCr, blood urea, serum albumin and phosphorus values, with lower values in the hemodialysis group. To test how SDMA and sCr behave in combination with urea as a response to hemodialysis and fluid therapy, an interaction term for treatment and urea was added to their respective models. The interaction of urea and treatment in the SDMA model was not observed to be significant (Table 3). The interaction term in the sCr model was statistically significant (Table 3).

SDMA was demonstrated to be a dialyzable molecule by its significant association between URR and SDMA, as a result of each 10% increase in URR there was a 6.2 µg/dL

decrease in SDMA ($P = 0.002$) (Table 3). While a significant association between URR and SDMA was shown, testing the difference between SDMA and sCr pre/post treatment by URR only showed a weak association (Table 3). SDMA weakly affects increasing URR by 0.347 ± 0.0546 ($r^2 = 0.229$, $P < 0.001$) and sCr affects URR increasing it by 4.582 ± 0.422 ($r^2 = 0.270$, $P < 0.001$). Additionally, no significant association was observed between SBP and SDMA concentrations in either therapy ($r^2 = 0.04$, $p = 0.255$).

Discussion

In this study, we confirmed the effectiveness of IH in the removal of serum urea, sCr, and phosphorus. IH was effective in clearing SDMA but limited as a long-term treatment modality in dogs with IRIS CKD Stage 4, similar to what was found in human patients undergoing IH for end-stage renal disease.^{10-13,26-29} Previous work comparing the dialytic clearance between SDMA and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in human patients during dialysis sessions demonstrated an extraction of 40% and 28% respectively for both markers; almost a two-fold higher difference between both markers that present the same molecular weight.^{27,30} Conversely, in another study that evaluated SDMA extraction in human patients with AKI undergoing continuous RRT, SDMA had a lower clearance of 9% during a 12-hour interdialytic interval.³¹ This prospective study demonstrated that SDMA concentrations had a clearance of 28% and a reduction of $6.2 \mu\text{g} / \text{dL}$ for each 10% increase in URR per session. Despite SDMA and sCr having a small association with URR (Table 3), we suggest that SDMA extraction is limited by IH due to its different molecular weight and body distribution volume when compared to blood urea.¹³ Therefore, urea kinetics are not representative for the removal of other uremic solutes such as methylarginines, and

consequently, hemodialysis is not suitable for a long-lasting removal of methylarginines from the bloodstream.³²⁻³⁴

The IF group had higher concentrations of serum SDMA throughout the study; whereas, in the IH group, serum SDMA concentrations progressively increased (27% compared to a 13.6% increase of the IF group). The increase of SDMA in dogs which underwent IH could be related to a number of different factors: the different molecular weight and body distribution of methylarginines and their distinct extraction by dialysis as described above; to the protein catabolism which may also have a positive impact on SDMA concentrations; to the progressive worsening of kidney function of these dogs; or to the presence of an intrinsic AKI on CKD. IH was demonstrated to be a better and more efficient therapeutic modality in sCr extraction ($P < 0.001$) (Table 3), as described previously.⁸⁻¹⁰ In this study, IH achieved a 9% reduction of sCr concentrations, whereas, in the IF group, sCr concentrations had an increase of 31%. Since SDMA is better correlated with GFR³⁵⁻³⁹, and is less affected by IH^{12-14,24,28,30,31}, it can give a better clinical representation of kidney function than sCr in IH treated dogs. The main advantages of the IH are for the reduction of the water-soluble uremic toxins, and as a superior therapy for the control of CKD comorbidities, such as fluid, electrolyte, and acid-base imbalances that are corrected more effectively than with IF.^{8,9} Despite the serum phosphorus levels, being statistically significantly changed by the dialysis group (Figure 1.D and Table 3), the lowering of phosphorus to recommended levels ($< 6.0\text{mg/dL}$)¹⁹ was not fully achieved due to the short evaluation period, the slow rates of phosphate transfer from the intracellular pool to the extracellular pool or to the rapid phosphorus rebound effect that occurs right after the dialytic therapy.⁴⁰ The interdialytic rebound effect was not only described for phosphorus concentrations but for all solutes (SDMA, serum urea, sCr) which are both markers

commonly utilized to evaluate the reduction rate efficacy of the dialytic therapy²¹. All dogs in this prospective study were at the end-stage of CKD with an advanced and a markedly decreased GFR; therefore, an interdialytic rebound effect was also observed as “peaks” in serum levels of SDMA, sCr, serum urea, and phosphorus (Figures 1.A to 1.D), as described previously.^{14,27,35-37,39,40}.

DDS is induced by quick changes in blood composition and osmolality as a consequence of an intense and fast dialysis clearance, resulting in a lower osmotic gradient, and causing cerebral edema.⁸ Signs may include agitation, disorientation, seizures, coma, or death.^{9,21} In the present study we observed only agitation and vocalization in one dog which was treated with supportive therapy including mannitol (500 mg/kg/IV) and increased dialysate sodium modulation by the dialysis machine. Intradialytic hypotension (IDH) was seen in two dogs and both were treated with an intravenous colloid fluid administration, lowering the dialysate temperature levels and with the deactivation of UF; all recommended techniques.^{8,21} Interestingly, IDH occurred in both dogs that were treated with ACEi in association with CCB for proteinuria and hypertension. Three dogs that experienced poor catheter performance by cause of its short length demonstrated a decrease in both sensors of transmembrane pressure (TP), and venous pressure (VP) respectively. Therefore, all dogs received boluses of crystalloid solution within the sessions in association with UF to avoid fluid overload until catheter replacement.

During the conduct of this study, kidney function was evaluated during both treatments only by sCr concentrations. Subsequently, when serum SDMA concentrations were analyzed, disease progression seemed clear, something that sCr alone could not determine. This was especially true for the IH group where sCr was unreliable due to its extraction. SDMA was demonstrated to be a better and more sensitive renal biomarker than

sCr in both groups. These results were also seen in human patients with end-stage renal disease undergoing RRT.^{12,14,27,28}

This study has some limitations. The first one is the inadequacy of assessment of body mass and muscle mass condition scores. In our clinical evaluation, our nutrition scoring system was divided into visual categories and body weight, neither ultrasound or computed tomography was utilized to measure muscle mass in these animals. Additionally, while there is the correlation between sCr and lean body mass in dogs⁴² serum concentrations of SDMA may also have been impacted with malnourishment, as previously determined in human patients undergoing IH.¹² An objective assessment of body condition score and muscle condition score would bring a better estimation for both markers affected by protein catabolism. Secondly, only SDMA was measured, and the relationship between its concentrations in a relationship with nitrous oxide, L-arginine and its methylated forms (ADMA, dimethylarginine dimethylaminohydrolase and NG-monomethyl-L-arginine) were not evaluated. In human patients, these compounds are potentially involved in the pathophysiology of endothelial dysfunction, oxidative stress, nutrition, apoptosis, atherosclerosis, uremia, autophagy, inflammation and impaired immunological function which can worsen kidney function.^{28-30,33-36,43-46} Additionally, we could not correlate SDMA with a gold standard GFR evaluation (inulin or iothexol clearance) due to the limited funding and lack of test availability in Brazil. Lastly, we were unable to determine if a silent and sustained acute renal injury process could be present and undetectable by routine conventional biochemical laboratory assays. Implementation of novel active AKI markers may facilitate early recognition, monitoring and be a better prognostic indicator in dogs with CKD, especially those on RRT.

In conclusion, although SDMA is a dialyzable biomarker like sCr, SDMA was found to be a better biomarker for monitoring dogs with CKD undergoing intermittent hemodialysis. This biomarker was able to detect progression of CKD especially in those animals having their serum markers extracted by the dialytic therapy. IH has proved to be a superior and highly effective therapeutic modality when compared to IF in the removal of uremic solutes concentrations and in the correction of fluid and electrolyte imbalances in dogs with IRIS stage 4 CKD. In contrast IH may not an effective long-term therapeutic modality for SDMA removal.

Acknowledgments

We are grateful to Dr. Mary B. Nabity for connecting our team with IDEXX Laboratories and to Mr. Nicholas Gioioso for language translation and believing in this project.

Grant Support: IDEXX Laboratories Inc. has provided SDMA and sCr analysis at no charge as support for the study. Dr. Le Sueur also has received travel and conference sponsorship from IDEXX Laboratories.

Conflict of Interest Declaration: Michael Coyne, Rachel Murphy and Donald Szlosek are currently employed by IDEXX Laboratories, Inc. IDEXX Laboratories, Inc., holds a patent on the ELISA methodology for measuring SDMA concentration (<https://www.idexx.com/en/about-idexx/patents/>) United States Patent No. US 481,690 B2; Date: July 9, 2013 Murthy et al., Methods for Detecting Symmetrical Dimethylarginine. IDEXX Laboratories, Inc., manufactures the IDEXX SDMA® Test evaluated in this study. Andre Nanny Vieira Le Sueur, Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães Okamoto, Alessandra Melchert, Regina Kiomi Takahira and Silvano Salgueiro Geraldes are currently researchers

of the São Paulo State University; Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães Okamoto, Alessandra Melchert and Regina Kiomi Takahira are also professor employees in the same institution.

Off-label Antimicrobial Declaration: Authors declare no off-label use of antimicrobials.

References

1. Polzin DJ. Chronic Kidney Disease in Small Animals. Vet Clin North Am - Small Anim Pract. 2011;41(1):15–30.

2. Cowgill LD, Polzin DJ, Elliott J, Nabity MB, Segev G, Grauer GF, et al. Is Progressive Chronic Kidney Disease a Slow Acute Kidney Injury? Vet Clin North Am - Small Anim Pract. 2016;46(6):995–1013.

3. International Renal Interest Society. IRIS Staging of CKD (modified 2016). Available from: <http://www.iris-kidney.com>. Accessed Jan 14, 2017.

4. Relford R, Robertson J, Clements C. Symmetric Dimethylarginine: Improving the Diagnosis and Staging of Chronic Kidney Disease in Small Animal Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2016;46(6):941–60. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195561616300468>.

5. Yerramilli M, Farace G, Quinn J, Yerramilli M. Kidney Disease and the Nexus of Chronic Kidney Disease and Acute Kidney Injury. Vet Clin North Am Small Anim Pract [Internet].

- 403 2016;46(6):1–33. Available at:
404 <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S019556161630047X>.
405
- 406 6. Hokamp JA, Nabity MB. Renal biomarkers in domestic species. *Vet Clin Pathol*
407 2016;45:28–56.
408
- 409 7. Nabity MB, Lees GE, Boggess MM, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, et al.
410 Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the
411 early detection of chronic kidney disease in dogs. *J Vet Intern Med*. 2015;29(4):1036–44.
412
- 413 8. Cowgill LD, Francey T. Hemodialysis and Extracorporeal Blood Purification. 4^o ed. Fluid,
414 Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice. Elsevier Inc.; 2012. 680-
415 713p. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4377-0654-3.00036-6>.
416
- 417 9. Cowgill LD, Guillaumin J. Extracorporeal renal replacement therapy and blood
418 purification in critical care. *J Vet Emerg Crit Care*. 2013;23(2):194–204.
419
- 420 10. Hewitson CL, Whiting MJ, Barbara JA, Mangoni AA. Acute effects of haemodialysis on
421 biochemical modulators of endothelial function. *J Intern Med*. 2007;262(5):571–80.
422
- 423 11. Grooteman MPC, Wauters IMPMJ, Teerlink T, Twisk JWR, Nubé MJ. Plasma
424 dimethylarginine levels in chronic hemodialysis patients are independent of the type of
425 dialyzer applied. *Blood Purif*. 2007;25(3):281–9.
426

- 427 12. Cupisti A, Saba A, D'Alessandro C, Meola M, Panicucci E, Panichi V, et al.
428 Dimethylarginine levels and nutritional status in hemodialysis patients. *J Nephrol.*
429 2009;22(5):623–9.
430
- 431 13. Fleck C, Schweitzer F, Karge E, Busch M, Stein G. Serum concentrations of asymmetric
432 (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney diseases.
433 *Clin Chim Acta.* 2003;336(1–2):1–12.
434
- 435 14. Oner-Iyidogan Y, Oner P, Kocak H, Gurdol F, Bekpinar S, Unlucerci Y, et al.
436 Dimethylarginines and inflammation markers in patients with chronic kidney disease
437 undergoing dialysis. *Clin Exp Med.* 2009;9(3):235–41.
438
- 439 15. Schepers E, Barreto DV., Liabeuf S, Glorieux G, Eloot S, Barreto FC, et al. Symmetric
440 dimethylarginine as a proinflammatory agent in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc*
441 *Nephrol.* 2011;6(10):2374–83.
442
- 443 16. Davis H, Jensen T, Johnson A, Knowles P, Meyer R, Rucinsky R, et al. 2013
444 AAHA/AAFP Fluid Therapy Guidelines for Dogs and Cats*. *J Am Anim Hosp Assoc*
445 2013;49:149–59. doi:10.5326/JAAHA-MS-5868.
446
- 447 17. Quimby JM. Update on Medical Management of Clinical Manifestations of Chronic
448 Kidney Disease. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract* 2016;46:1163–81.
449

- 450 18. Vaden SL, Elliott J. Management of Proteinuria in Dogs and Cats with Chronic Kidney
451 Disease. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract* 2016;46:1115–30.
452 doi:10.1016/j.cvsm.2016.06.009.
453
- 454 19. Foster JD. Update on Mineral and Bone Disorders in Chronic Kidney Disease. *Vet Clin*
455 *North Am - Small Anim Pract* 2016;46:1131–49. doi:10.1016/j.cvsm.2016.06.003.
456
- 457 20 Seldinger SI. Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography. *Acta*
458 *Radiol* 1953; 39:368 –376.
459
- 460 21. Cowgill LD. Urea Kinetics and Intermittent Dialysis Prescription in Small Animals. *Vet*
461 *Clin North Am - Small Anim Pract* 2011;41:193–225. doi:10.1016/j.cvsm.2010.12.002.
462
- 463 22. Ross S. Anticoagulation in Intermittent Hemodialysis: Pathways, Protocols, and Pitfalls.
464 *Vet Clin North Am - Small Anim Pract* 2011;41:163–175.
465
- 466 23. Acierno MJ, Brown S, Coleman AE, Jepson RE, Papich M, Stepien RL, et al. ACVIM
467 consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of
468 systemic hypertension in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2018;1–20.
469 doi:10.1111/jvim.15331.
470
- 471 24 Braun JP, Lefebvre HP, Watson ADJ. Creatinine in the dog: A review. *Vet Clin Path.*
472 2003; 32(4):162-79.
473

- 474 25. Douglas Bates, Martin Maechler, Ben Bolker, Steven Walker (2018), lme4: Linear
 475 Mixed-Effects Models using 'Eigen' and S4 (R Package v1.1).
 476
- 477 26. Mangoni AA, Hewitson CL, Woodman RJ, Whiting MJ, McAteer-Carr B, Barbara JA.
 478 Symmetric dimethylarginine is an independent predictor of intradialytic hypotension. Am J
 479 Hypertens. 2008;21(8):955–9. Available at:
 480 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20354898>.
 481
- 482 27. Shafi T, Hostetter TH, Meyer TW, Hwang S, Hai X, Melamed ML, et al. Serum
 483 Asymmetric and Symmetric Dimethylarginine and Morbidity and Mortality in Hemodialysis
 484 Patients. Am J Kidney Dis 2017;70:48–58. doi:10.1053/j.ajkd.2016.10.033.
 485
- 486 28. Bouteldja N, Woodman RJ, Hewitson CL, Domingo E, Barbara JA, Mangoni AA.
 487 Methylated arginines and nitric oxide in end-stage renal disease: impact of inflammation,
 488 oxidative stress and haemodialysis. Biomarkers 2013;18:357–64.
 489
- 490 29. Schwedhelm E, Böger RH. The role of asymmetric and symmetric dimethylarginines in
 491 renal disease. Nat Rev Nephrol. 2011;7(5):275–85.
 492
- 493 30. Andrestam B, Katzarski K, Bergstrom J. Serum levels of NG, NG-dimethyl-L-arginine,
 494 a potential endogenous nitric oxide inhibitor in dialysis patients. J Am Soc Nephrol.
 495 1997;8:1437-42.
 496

31. Schepers E, Speer T, Bode-Böger SM, Fliser D, Kielstein JT. Dimethylarginines ADMA and SDMA: The Real Water-Soluble Small Toxins? *Semin Nephrol.* 2014;34(2):97–105.

32. Schepers E, Glorieux G, Dhondt A, Leybaert L, Vanholder R. Role of symmetric dimethylarginine in vascular damage by increasing ROS via store-operated calcium influx in monocytes. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:1429–35. doi:10.1093/ndt/gfn670.

33. Fleck C, Janz A, Schweitzer F, Karge E, Schwertfeger M, Stein G. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in renal failure patients. *Kidney Int Suppl.* 2001; 78:S14-8. doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.59780014.x

34. Tain YL, Hsu CN. Toxic dimethylarginines: Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and symmetric dimethylarginine (SDMA). *Toxins (Basel)* 2017;9. doi:10.3390/toxins9030092.

35. Dixon JJ, Lane K, Dalton RN, MacPhee IA, Philips BJ. Symmetrical dimethylarginine is a more sensitive biomarker of renal dysfunction than creatinine. *Crit Care* 2013; 17(Suppl. 2):423.

36. El-Sadek AE, Behery EG, Azab AA, Kamal NM, Salama MA, Abdulghany, et al. Arginine dimethylation products in pediatric patients with chronic kidney disease. *Ann Med Surg.* 2016;9:22–7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.amsu.2016.05.017>

- 519 37. Kielstein JT, Veldink H, Martens-Lobenhoffer J, Haller H, Burg M, Lorenzen JM, et al.
520 SDMA is an early marker of change in GFR after living-related kidney donation. *Nephrol*
521 *Dial Transplant*. 2011;26(1):324–8.
522
- 523 38 El-Khoury JM, Bunch DR, Hu B, Payto D, Reineks EZ, Wang S. Comparison of
524 symmetric dimethylarginine with creatinine, cystatin C and their eGFR equations as markers
525 of kidney function. *Clinical Biochemistry* 2016;49:1140–3.
526 doi:10.1016/j.clinbiochem.2016.07.009.
527
- 528 39. Kielstein JT, Fliser D, Veldink H. Asymmetric dimethylarginine and symmetric
529 dimethylarginine: Axis of evil or useful alliance? *Semin Dial* 2009;22:346–50.
530 doi:10.1111/j.1525-139X.2009.00578.x.
531
- 532 40. Shaman AM, Kowalski SR. Hyperphosphatemia Management in Patients with Chronic
533 Kidney Disease. *Saudi Pharm J* 2016;24(4):494-505. doi:10.1016/j.jsps.2015.01.009.
534
- 535 41. Orvalho JS, Cowgill LD. Cardiorenal syndrome, diagnosis and management. *Vet Clin*
536 *North Am - Small Anim Pract* 2017;41:1–20.
537
- 538 42. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Melendez LD, Jewell DE. Relationship
539 between lean body mass and serum renal biomarkers in healthy dogs. *J Vet Intern Med*.
540 2015;29(3):808–14.
541

- 542 43. Kielstein JT, Salpeter SR, Bode-Boeger SM, Cooke JP, Fliser D. Symmetric
543 dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function - A meta-analysis.
544 Nephrol Dial Transplant. 2006;21(9):2446–51.
545
- 546 44. Aucella F, Maas R, Vigilante M, Tripepi G, Schwedhelm E, Margaglione M, et al.
547 Methylarginines and mortality in patients with end stage renal disease: A prospective cohort
548 study. Atherosclerosis. 2009;207(2):541–5.
549
- 550 45. Emrich IE, Zawada AM, Martens-Lobenhoffer J, Fliser D, Wagenpfeil S, Heine GH, et
551 al. Symmetric dimethylarginine (SDMA) outperforms asymmetric dimethylarginine
552 (ADMA) and other methylarginines as predictor of renal and cardiovascular outcome in non-
553 dialysis chronic kidney disease. Clin Res Cardiol 2018;107:201–13.
554
- 555 46. Pontón-Vázquez C, Vázquez-Garibay EM, Hurtado-López EF, de la Torre Serrano A,
556 Garcia GP, Romero-Velarde E. Dietary Intake, Nutritional Status, and Body Composition
557 in Children With End-Stage Kidney Disease on Hemodialysis or Peritoneal Dialysis. J Ren
558 Nutr 2017;27(3):207–215.

559 **Tables**

560

561 Table A1.A– Online appendix: Serum creatinine (mg/dL) Pre- and Post-Values; number (*N*), mean, median and standard deviation
 562 (SD) of dogs undergoing intermittent hemodialysis
 563

<i>Dogs</i>	<i>Sessions</i>													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
<i>1H</i>	10.1	5.4	9.7	3.0										
<i>2H</i>	9.8	5.7	7.4	2.9										
<i>3H</i>	12.2	2.9	5.8	2.4	7.3	2.4								
<i>4H</i>	6.5	5.0	5	3.7	4.2	2.8	3.6	2.7						
<i>5H</i>	10.4	7.0	12.2	5.8	9.9	5.7	9.5	5.2						
<i>6H</i>	7.3	5.0	7.2	3.1	7.2	4.6	8.3	4.1						
<i>7H</i>	6.1	3.7	7.8	5.8	8.6	2.7	7	4.4	7.6	3.0				
<i>8H</i>	7.7	4.1	5.8	2.4	5.3	2.8	5.8	2.7	4.9	1.9				
<i>9H</i>	6.8	4.9	6.9	4.5	8.5	4.8	6.1	3.4	7.3	5.6				
<i>10H</i>	17.6	7.4	12.3	4.5	10.4	4.5	12.1	5.8	11	3.6				
<i>11H</i>	11.5	4.6	10.3	7.0	7.6	3.0	7.5	0.9	7.3	3.8	7.8	5.9		
<i>12H</i>	23.9	17.5	21.4	9.0	17.8	6.8	16.1	6.5	14.8	14.4	13.3	5.2	10.7	3.3
<i>13H</i>	8.9	4.7	8.7	3.9	11.3	5.2	10.1	5.7	14.1	6.6	11	5.4		
<i>14H</i>	10.7	6.4	11.9	8.6	8.9	8.0	8.6	3.5	7.8	5.5	8	5.5	10.2	8.6
<i>N</i>	14	14	14	14	12	12	11	11	8	8	4	4	2	2
<i>Mean</i>	10.2	6.0	9.4	4.7	8.9	4.4	8.6	4.1	9.3	5.5	10.0	5.5	10.5	6.0
<i>Median</i>	10.4	5.0	8.3	4.2	8.5	4.5	8.3	4.1	7.7	4.6	9.5	5.5	10.5	6.0
<i>SD</i>	3.55	3.52	4.22	2.19	3.43	1.77	3.38	1.65	3.56	3.90	2.66	0.29	0.35	3.75

564

Table A1.B – Online appendix: SDMA ($\mu\text{g} / \text{dL}$) Pre- and Post-Values; number (N), mean, median and standard deviation (SD) of dogs undergoing intermittent hemodialysis

<i>Dogs</i>	<i>Sessions</i>													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
1H	89	74	82	36										
2H	74	52	68	56										
3H	96	40	48	33	68	40								
4H	25	17	30	25	28	20	26	22						
5H	63	58	93	61	80	63	81	63						
6H	57	60	65	44	58	47	78	52						
7H	67	47	50	41	71	46	87	67	69	53				
8H	100	100	90	61	100	69	92	54	100	77				
9H	70	51	61	47	63	56	62	47	81	56				
10H	60	45	55	42	54	50	91	65	84	58				
11H	75	51	83	61	79	39	86	16	98	67	100	83		
12H	30	36	48	27	51	35	47	30	58	55	56	46	69	50
13H	26	21	27	22	43	30	50	36	69	41	65	47		
14H	75	50	93	73	86	69	86	56	100	94	100	97	100	100
<i>N</i>	14	14	14	14	12	12	11	11	8	8	4	4	2	2
<i>Mean</i>	64.6	49.9	63.6	44.6	64.9	46.8	71.2	45.8	82.3	62.4	80.1	68.0	84.3	74.8
<i>Median</i>	68.3	50.0	62.5	42.8	65.0	46.5	80.5	52.0	82.5	56.8	82.3	64.8	84.3	74.8
<i>SD</i>	24.04	20.71	22.07	15.68	19.84	15.45	22.04	17.58	16.19	16.45	23.21	25.71	22.27	35.71

Table A2.A – Online appendix: Serum creatinine (mg/dL) Pre- and Post-Values; number (*N*), mean, median and standard deviation (SD) of dogs submitted to intravenous fluid therapy.

<i>Dogs</i>	<i>Sessions</i>															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
1F	10.2	8.2	13.7	*												
2F	12.9	12.5	12.2	11.9	13.1	12.6										
3F	6.8	8.3	9.4	9.9	9.9	10.0	9.7	9.9								
4F	7.2	6.6	11.3	10.4	10.7	9.7	9.0	9.1	9.3	10.6						
5F	11.3	10.9	15.0	11.2	13.2	14.8	19.6	18.9	23.8	19.5						
6F	6.6	6.8	6.4	6.0	7.1	9.1	6.4	5.6	5.3	6.0	6.4	5.8	8.4	10.9	9.0	8.5
7F	10.6	10.2	11.0	10.2	10.0	8.7	10.4	11.0	14.5	13.3	10.9	12.6				
8F	15.8	13.1	16.6	15.4	17.1	15.8	22.6	17.8	20.8	23.8	24.2	26.2				
9F	6.0	5.5	5.9	6.5	6.2	6.2	6.3	6.3	6.4	6.5	7.1	8.1				
10F	15.0	15.1	16.0	16.2	16.2	14.6	13.8	15.0	13.6	13.8	12.0	11.6				
<i>N</i>	10	10	10	9	9	9	8	8	7	7	5	5	1	1	1	1
<i>Mean</i>	10.2	9.7	11.7	10.8	11.5	11.3	12.2	11.7	13.4	13.3	12.1	12.9	8.4	10.9	9.0	8.5
<i>Median</i>	10.4	9.2	11.7	10.4	10.7	10.0	10.0	10.5	13.6	13.3	10.9	11.6	8.4	10.9	9.0	8.5
<i>SD</i>	3.55	3.15	3.73	3.44	3.74	3.29	6.04	5.02	7.01	6.51	7.15	7.95				

* Second sample from Case 1F post treatment did not have sufficient volume for analysis

Table A2.B – Online appendix: SDMA ($\mu\text{g /dL}$) Pre- and Post-Values; number (N), mean, median and standard deviation (SD) of dogs submitted to intravenous fluid therapy.

<i>Dogs</i>	<i>Sessions</i>															
	1	2	3	4	5	6	7	8	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
1F	87	74	100	*												
2F	100	100	100	100	100	100										
3F	51	79	61	72	61	66	87	90								
4F	72	73	97	100	94	83	81	95	60	85						
5F	53	57	90	68	81	100	100	100	100	95						
6F	75	71	52	59	73	69	69	52	75	63	70	71	73	75	64	47
7F	95	96	100	99	74	84	66	83	87	82	53	74				
8F	49	54	74	68	63	84	100	98	100	100	100	100				
9F	80	60	47	53	61	72	64	54	76	83	70	78				
10F	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100				
<i>N</i>	10	10	10	9	9	9	8	8	7	7	5	5	1	1	1	1
<i>Mean</i>	76.0	76.3	81.9	79.6	78.2	84.0	83.2	83.8	85.2	86.6	78.5	84.4	73.0	75.0	64.0	47.0
<i>Median</i>	77.3	73.0	93.3	71.5	73.5	83.5	83.5	92.3	86.5	85.0	70.0	77.5	73.0	75.0	64.0	47.0
<i>SD</i>	19.98	17.33	21.69	19.74	16.25	13.67	15.81	20.00	15.91	13.21	20.89	14.45				

* Second sample from Case 1F post treatment did not have sufficient volume for analysis

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the study population

		Group HD (n=14)	Group FT (n=10)
<i>Age (Years)</i>		8 ± 3	11 ± 4
<i>Sex:</i>	<i>Male Intact</i>	5	5
	<i>Male Neuter</i>	3	3
	<i>Female Intact</i>	2	0
	<i>Female Neuter</i>	4	2
<i>History of Hypertension (Yes/No)</i>		5/9	8/2
<i>Mean Systolic Blood Pressure (mmHg)</i>		150.9 ± 16.6	157.0 ± 57.66
<i>History of Proteinuria (Yes/No)</i>		14/0	10/0
<i>Median UPC [IQR]</i>		1.8 [1.5 – 2.5]	2.4 [1.9 – 3.2]
<i>Median WBC [IQR]</i>		8.8 [7.05 – 10.58]	7.9 [6.75 – 10.53]
<i>History of use of ACEi's / CCB</i>		2/3	4/4
<i>History of use of combined therapy (ACEi + CCB) (Yes/No)</i>		5/9	2/8
<i>History of use of Phosphate Binders (Yes/No)</i>		14/0	10/0
<i>History of use of EPO (Yes/No)</i>		4/10	1/9
<i>History of use of Gastroprotectants (Yes/No)</i>		14/0	10/0

Table 2. Blood Chemistry and Body Weight measures prior to first treatment by treatment group

	Hemodialysis Mean (95% CI)	Fluid Therapy Mean (95% CI)	P-Value*
<i>SDMA (µg/dL)</i>	68.3 (24.4-90.1)	77.3 (36.0-112.0)	0.305
<i>Creatinine (mg/dL)</i>	10.4 (1.6-12.2)	10.4 (4.2-16.2)	0.977
<i>Albumin (g/dL)</i>	2.2 (1.8-2.6)	2.6 (2.0-3.2)	0.183
<i>Urea (mg/dL)</i>	225.6 (97.4-353.8)	232.3 (124.8-339.7)	0.266
<i>Phosphorus (mg/dL)</i>	10.4 (2.1-18.7)	14.6 (9.0-20.2)	0.828
<i>Body Weight (kg)</i>	19.0 (7.6-30.5)	22.2 (8.8-35.6)	0.772

*Wilcoxon Signed Rank Sum Test

Table 3. Linear mixed model with Biomarkers as dependent variables*

<i>Reclused Variable</i>	Dependent Variable	Shift in Dep var	STD error	P-value
<i>Treatment (Fluid/ Hemo)</i>	SDMA	-26.13	5.087	<0.001
<i>Treatment (Fluid/ Hemo)</i>	Creatinine	-3.75	0.667	<0.001
<i>Treatment (Fluid/ Hemo)</i>	Urea	-116.50	16.712	<0.001
<i>Treatment (Fluid/ Hemo)</i>	Albumin	-0.25	0.060	0.1026
<i>Treatment (Fluid/ Hemo)</i>	Phosphorous	-1.300	2.442	< 0.001
<i>Treatment (Fluid/ Hemo)**</i>	ΔSDMA	0.347	0.0546	< 0.001
<i>Treatment (Fluid/ Hemo)**</i>	ΔCreatinine	4.582	0.422	< 0.001
<i>Treatment (Fluid/ Hemo) * Urea</i>	SDMA	0.024	0.046	0.650
<i>Treatment (Fluid/ Hemo) * Urea</i>	Creatinine	0.017	0.005	<0.001
<i>URR (%)</i>	SDMA	-0.621	0.01	0.002

*Fixed effects: sample time (pre/post), treatment session, breed, age, sex, body weight, neuter status

Random Effects: Patient_ID

** The difference in SDMA and creatinine values were taken pre/post treatment and compared to URR.

Figures

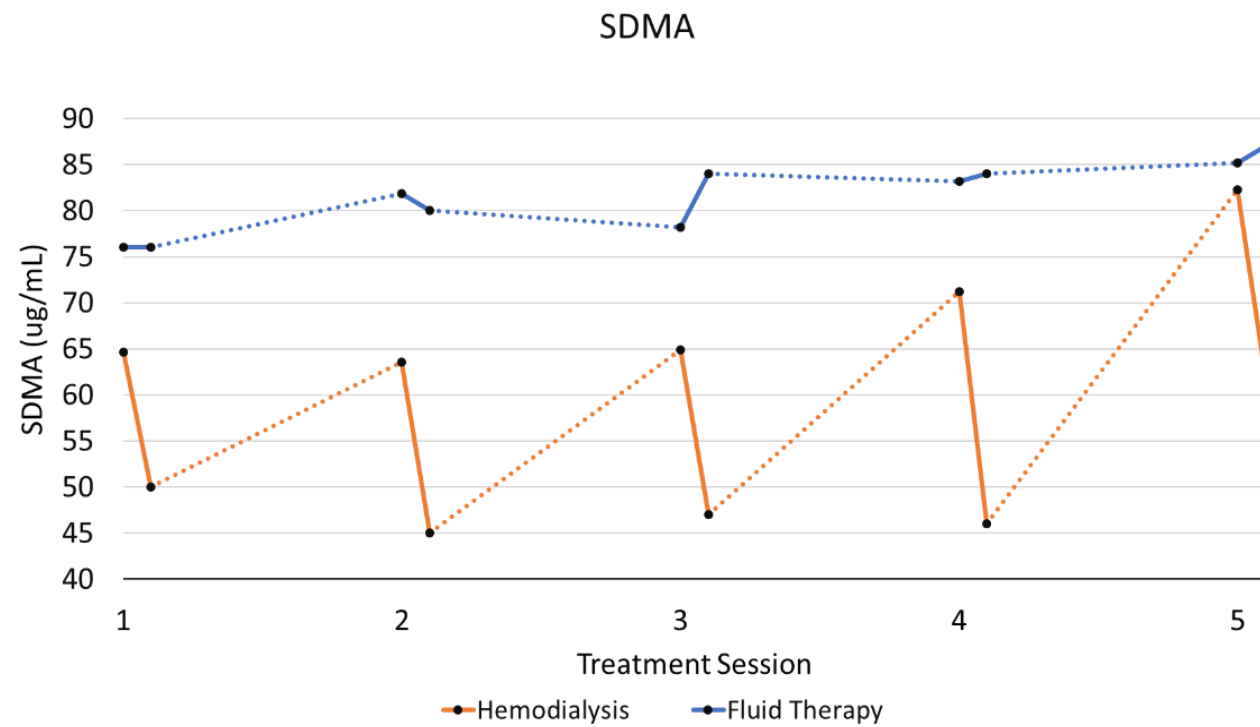


Figure 1. Mean analyte measures pre- and post-treatment of SDMA by treatment session.

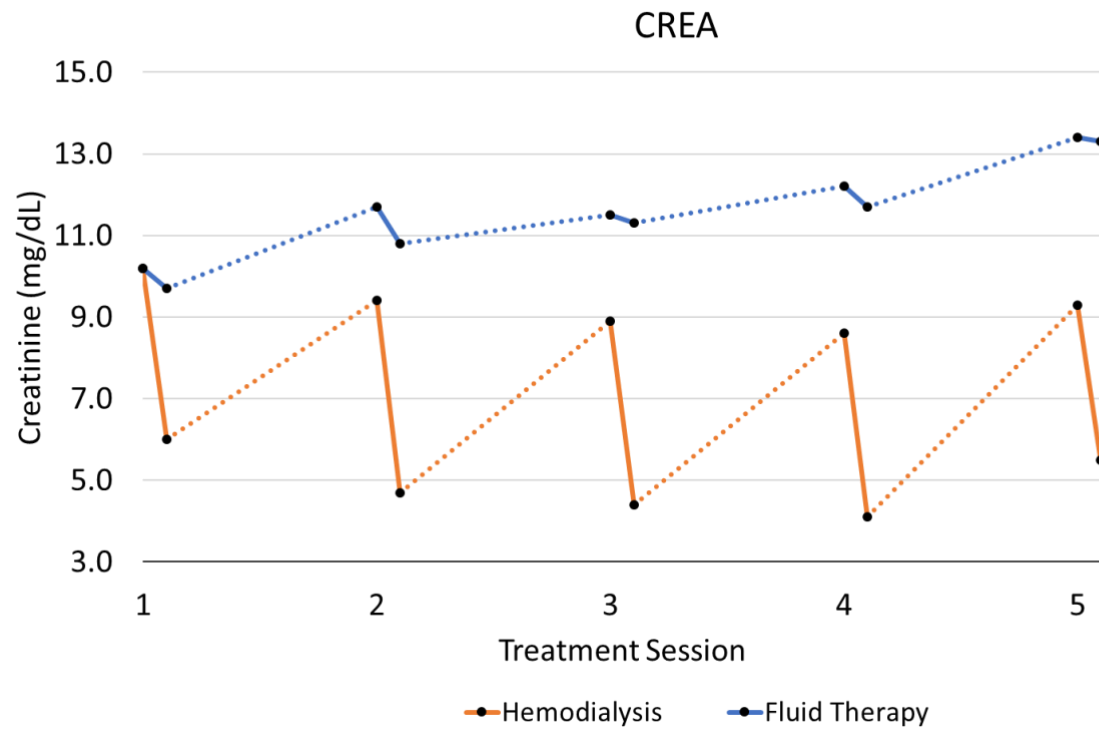
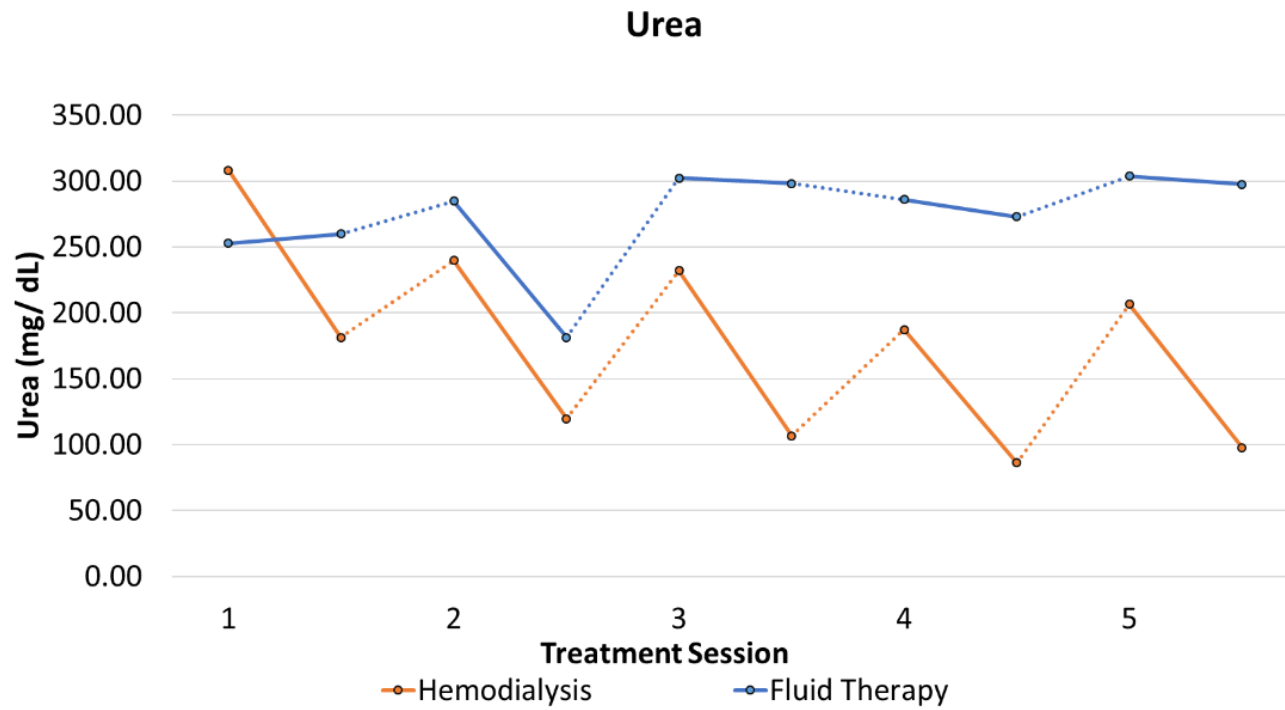


Figure 2. Mean analyte measures pre- and post-treatment by serum creatinine treatment session



645

646 Figure 3. Mean analyte measures pre- and post-treatment by urea treatment session

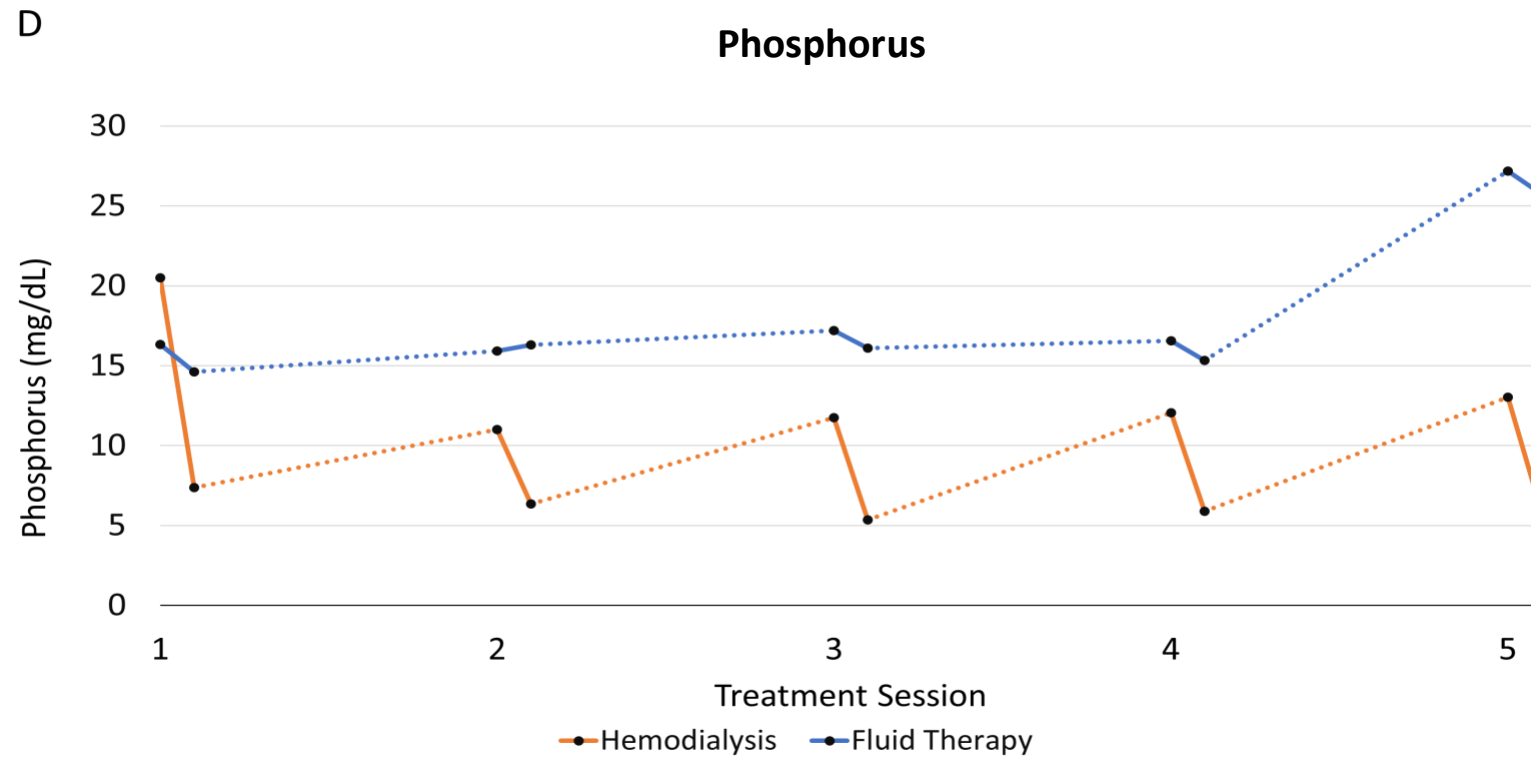


Figure 4. Mean analyte measures pre- and post-treatment by phosphorus treatment session

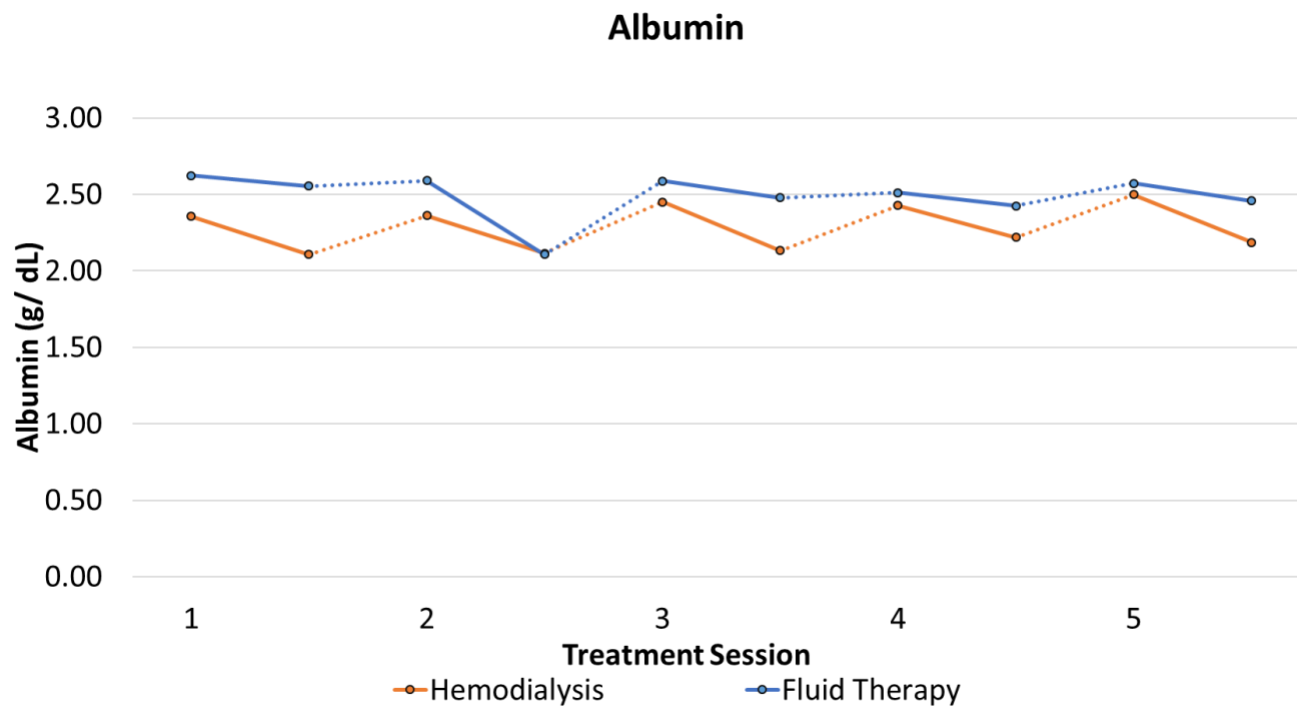


Figure 5. Mean analyte measures pre- and post-treatment by albumin treatment session

CAPÍTULO III

DISCUSSÃO GERAL

No presente estudo constatou-se que a HDI é uma modalidade de TSR altamente eficaz na remoção dos compostos nitrogenados assim como na correção dos distúrbios eletrolíticos e acidobásicos em cães com DRC no estadio 4. Foi observado também que pelo SDMA ser oriundo de uma metilação proteica da arginina, este aminoácido e biomarcador também é depurado pelos princípios dialíticos da HDI, no entanto, neste estudo prospectivo, o SDMA apresentou um *clearance* de 28% e uma redução de 6.2 µg / dL para cada aumento de 10% da URR.

O SDMA é um biomarcador já estudado há quase 50 anos pela medicina em pacientes com DRC e também naqueles que realizam HDI, sendo que, todos os autores relataram o aumento de suas concentrações séricas ao longo da progressividade da doença renal e um evidente aumento quando submetidos em TRS por sua correlacionar-se também a processos inflamatórios (ONER-IYIDOGAN *et al.*, 2009; SCHEPERS *et al.*, 2011; YERRAMILLI *et al.*, 2016).

Em outro estudo apresentado por Kalousová *et al.* (2006), onde avaliaram a porcentagem de *clearance* do SDMA em uma única sessão em pacientes com DRC em estágio terminal foi de 44% e 48% nas terapias de HDI e hemodiafiltração respectivamente, diferente do nosso estudo prospectivo onde foram avaliadas o *clearance* do SDMA em 5 sessões.

Apesar do peso molecular da sCr e do SDMA não serem tão distintos (113 e 202 g/mol respectivamente), acredita-se que a extração do SDMA pela terapia de HDI seja limitada tanto pela divergência entre pesos moleculares dos marcadores removidos pela terapia (ureia, sCr e SDMA), quanto pelo volume de sua distribuição corporal (FLECK *et al.*, 2003). Desta forma, o cálculo da cinética da ureia empregado em referências veterinárias não é aplicável para a remoção de outros solutos uremicos como as dimetilargininas e consequentemente a HDI não é uma terapia adequada para a remoção crônica deste marcador caso o SDMA seja considerado como uma toxina (COWGILL, 2011; TAIN; HSU, 2017).

Quanto aos valores da sCr no grupo HDI foi evidente a eficácia da sua remoção pela terapia. A HDI continua sendo a melhor opção das TRS nos cenários de azotemia severa, no entanto, critérios como a taxa de redução da ureia (URR) devem ser respeitados principalmente em cães com DRC para que não haja distúrbios pressóricos ou o desencadeamento da síndrome do desequilíbrio dialítico (COWGILL; FRANCEY, 2012).

Já no grupo FSC, ambos os biomarcadores apresentaram valores inversos no momento “pós” terapia. O SDMA é um biomarcador validado tanto na medicina quanto na veterinária com alta correlação da TFG do indivíduo quando avaliado em conjunto por técnicas de *clearance* ou por cálculos algorítmicos (SCHWEDHELM; BÖGER, 2011; NABITY *et al.*, 2015; YERRAMILLI *et al.*, 2016). Baseado nos resultados deste estudo prospectivo, o grupo FSC apresentou maiores concentrações de SDMA sérico ao longo do estudo, enquanto no grupo HDI, as concentrações séricas de SDMA aumentaram progressivamente (27% em comparação com um aumento de 13,6% do grupo FT).

Muitos estudos em humanos com DRC concluíram que as concentrações de SDMA foram marcadamente aumentadas ao longo dos estágios da DRC e, ainda assim, um marcador preditivo para DRC5D, conseqüentemente devido ao comprometimento renal da excreção de SDMA (SCHEPERS *et al.*, 2011; SCHWEDHELM; BÖGER, 2011). No entanto, se for avaliado apenas os valores da sCr, observa-se que os valores de sCr diminuíram em quase todas as 51 sessões realizadas.

Em nosso estudo, a estimativa, o monitoramento e o prognóstico da TFG durante o tratamento foram medidos apenas pelos níveis de sCr. Posteriormente, quando as concentrações séricas de SDMA foram analisadas, a progressão da doença parecia clara, algo que a sCr por si só não pôde determinar devido à sua extração, especialmente no grupo em diálise. Portanto, em nosso estudo, determinamos que o SDMA demonstrou ser um biomarcador renal melhor e mais sensível que o sCr em ambos os grupos. Esses resultados também foram relatados anteriormente em cães com IRA, insuficiência cardíaca e DRC (YERRAMILLI *et al.*, 2016) e em pacientes humanos com insuficiência renal terminal submetidos a TRS (ONER-IYIDOGAN *et al.*, 2009). No entanto, são necessários outros estudos com o emprego de novos biomarcadores de IRA para uma melhor definição e correlação entre uma IRA episódica e uma IRA sustentada na DRC em cães submetidos a HDI.

Este resultado leva a uma falsa suposição de melhora do *clearance* renal dos indivíduos, um tipo de interpretação errônea na rotina clínica. No entanto, inúmeras evidências alegam que a creatinina é um biomarcador instável principalmente nos quadros de hipovolemia e hiperhidratação (HOKAMP;

NABITY, 2016). Além disso, este estudo não estabeleceu o escore de massa corpórea destes pacientes e tão pouco monitorou se houve perda ou ganho de massa muscular ao longo do estudo contribuindo para a subestimação dos valores de sCr (HALL, 2015).

Somente com o auxílio do SDMA pudemos perceber que os fatores exógenos como hemoconcentração, hemodiluição, a prescrição de inibidores da enzima conversora de angiotensina, caquexia e desnutrição podem influenciar negativamente nos valores de sCr quando empregada como marcador de TFG. Ademais, ainda não existem estudos a respeito das correlações do SDMA e desnutrição em animais com DRC.

Nosso estudo tem algumas limitações. O primeiro é a ausência de uma avaliação dos escores de massa corporal e condição de massa muscular. Em nossa avaliação clínica, nosso sistema de pontuação nutricional foi dividido em categorias visuais, e nem a ultrassonografia ou a tomografia computadorizada foram utilizadas para medir a massa muscular nesses animais.

Além disso, embora haja correlação positiva entre sCr e massa corporal magra em cães, as concentrações séricas de SDMA também podem ter uma correlação positiva com desnutrição, como previamente determinado em pacientes humanos submetidos a IH (CUSPITI *et al.*, 2009) Uma avaliação objetiva do escore de condição corporal e escore de condição muscular traria uma estimativa melhor para ambos os marcadores que podem diminuir ou aumentar pelo catabolismo protéico.

Outra limitação foi a possibilidade de determinar um processo de lesão aguda silenciosa e sustentada a qual poderia estar presente e, ao mesmo tempo, indetectável pelos ensaios laboratoriais bioquímicos convencionais de rotina. Portanto, a implementação de novos marcadores IRA pode facilitar o reconhecimento precoce, monitoramento e ser um melhor indicador prognóstico em cães com DRC, especialmente aqueles em TRS.

CONCLUSÕES FINAIS

Em conclusão, embora o SDMA seja um biomarcador dialisável como o sCr, o SDMA demonstrou ser um melhor biomarcador na monitoração da TFG em cães com DRC em hemodiálise intermitente. Este biomarcador foi capaz de detectar a progressão da DRC, especialmente naqueles animais cujos marcadores séricos foram extraídos pela terapia dialítica. Além disso, neste estudo, conseguimos correlacionar uma diminuição de 6,2 µg / dL das concentrações de SDMA, correspondendo a cada aumento de 10% da URR. Ainda assim, a hemodiálise intermitente provou mais uma vez ser uma modalidade terapêutica superior e altamente eficaz quando comparada à fluidoterapia na remoção de concentrações de solutos urêmicos e na correção de desequilíbrios hidroeletrolíticos em cães com IRIS estágio 4 DRC. Em contraste, caso o SDMA seja correlacionado e avaliado como uma toxina pela via do óxido nítrico, também podemos concluir que a HDI não é uma modalidade terapêutica eficaz a longo prazo para a remoção deste biomarcador, como relatado anteriormente em estudos em humanos.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ANCIERNO, M. J. Continuous Renal Replacement Therapy in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.41, p.135-146, 2011.

ANCIERNO, M. J.; LABATO, M. A. Continuous renal replacement therapy / Hemodialysis. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C.; COTE, E. **Text Book of Veterinary Internal Medicine**. 8 ed. v.2. Elsevier: United States of America, 2017, p.1194-1204.

BARTGES, J. W. Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats, **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 42, p.669-692, 2012.

BEXFIELD, N. H.; HEIENE, R.; GERRITSEN, R. J.; RISØEN, U.; ELIASSEN, K. E.; HERRTAGE, M.; MICHELL, A. R. Glomerular filtration rate estimated by 3-sample plasma clearance of iohexol in 118 healthy dogs, **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.22, p.66–73, 2008.

BLOOM, C. A.; LABATO, M. A. Intermittent hemodialysis for small animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.41, p.115-133, 2011.

BOAG, A. K.; NEIGER, R.; SLATER, L.; STEVENS, K. B.; HALLER, M.; CHURCH, D. B. Changes in the glomerular filtration rate of 27 cats with hyperthyroidism after treatment with radioactive iodine. **Veterinary Record**, v.161 p.711-715, 2007.

BÖGER, R. H.; ZOCCALI, C. ADMA: a novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patients with end-stage renal disease. **Atherosclerosis Supplements**, v.4, n.4, p.23-28, 2003.

BUENO DE CAMARGO, M. H.; MORAES, J. R. E.; CARVALHO, M. B.; FERRARO, G. C.; PALMEIRA BORGES, V. Alterações morfológicas e funcionais dos rins de cães com insuficiência renal crônica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n.5, p. 781-787, 2006.

COWGILL, L. D. Urea kinetics and intermittent dialysis prescription in small animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 41, p.193-225, 2011.

COWGILL, L. D.; FRANCEY, T. Hemodialysis and extracorporeal blood purification. In: DIBARTOLA, S. P. **Fluid, Electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice**. 2 ed. Elsevier: United State of America, 2012, p.680-713.

COWGILL, L. D.; GUILLAUMIN, J. Extracorporeal renal replacement therapy and blood purification in critical care. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.23, n.2, p.194-204, 2013.

CHEW, D. J.; DiBARTOLA, S. P.; SCHENCK, P. A. Chronic kidney failure. In: CHEW, D. J.; DiBARTOLA, S. P.; SCHENCK, P. A. **Canine and Feline Nephrology and Urology**. 2 ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2011. Cap 5, p.145-196.

CUPISTI, A.; SABA, A.; D'ALESSANDRO, C.; MEOLA, M.; PANICUCCI, E.; PANICHI, V.; RAFFAELLI, A.; BARSOTTI, G. Dimethylarginine levels and nutritional status in hemodialysis patients. **Journal of Nephrology**. v.22, p.5, p.623–9, 2009.

DAVIDS, M.; RICHIR, M. C.; VISSER, M.; ELLGER, B.; VAN DEN BERGHE, G.; VAN LEEUWEN, P. A. M.; TEERLINK, T. Role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity in regulation of tissue and plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in an animal model of prolonged critical illness. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 61, n.4, p.482-490, 2012.

DIXON, J. J.; LANE, K.; DALTON, R. N.; MACPHEE, I. A.; PHILIPS, B. J. Symmetrical dimethylarginine is a more sensitive biomarker of renal dysfunction than creatinine. **Journal of Critical Care**, v.17, sup.2, p.423, 2013.

DOI, K.; YUEN, P. S. T.; EISNER, C.; HU, X.; LEELAHAVANICHKUL, A.; SCHNERMANN, J.; STAR, R. A. Reduced production of creatinine limits its use as marker of kidney injury in sepsis. **Journal of the American Society of Nephrology**. v.20, n.6, p.1217-1221, 2009.

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, v.185, n.1, p.23-27, 2010.

EVANS, G. O. Post-prandial changes in canine plasma creatinine. **Journal of small animal practice**, v. 28, p. 311–315, 1987.

FINCO, D. R.; BROWN, S. A.; VADEN, S. L.; FERGUSON, D. C. Relationship between plasma creatinine concentration and glomerular filtration rate in dogs. **The Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.18, n.6, p.418-421, 1995.

FLECK, C.; SCHEITZER, F.; KARGE, E.; BUSCH, M.; STEIN, G. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney diseases. **Clinica Chimica Acta**, v.336, p.1-12, 2003.

GLEADHILL, A.; MICHELL, A. R. Evaluation of iohexol as a marker for the clinical measurement of glomerular filtration rate in dogs, **Research in Veterinary Science**, v.60, p.117–12, 1996.

HOV, G. G.; AASAROD, K. I.; SAGEN, E.; ASBERG, A. Arginine, dimethylated arginine and homoarginine in relation to cardiovascular risk in patients with moderate chronic kidney disease. **Clinical Biochemistry**, v.48, p.646-651, 2015.

HALL, J. A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; JEWELL D. E. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.28, n.6, p.1676–1683, 2014(a).

HALL, J. A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; JEWELL D. E. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in healthy geriatric cats fed reduced protein foods enriched with fish oil, L-carnitine, and medium-chain triglycerides. **The Veterinary Journal**, v.202, n.3, p.588–596, 2014(b).

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

HALL, J. A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; ALMES, K.; JEWELL, D. E. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.30, p.794-802, 2016(a).

HALL, J. A.; MACLEAY, J.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; SCHIEFELBEIN, H.; PAETAU-ROBINSON, I.; JEWELL, D. E. Positive impact of nutritional interventions on serum symmetric dimethylarginine and creatinine concentrations in client-owned geriatric dogs. **Journal Plos One**, v.11, ed. 4, p.1-16, 2016(b).

HELAL, I.; FICK-BROSNAHAN, G. M.; REED-GITOMER, B.; SCHRIER, R. W. Glomerular hyperfiltration: definitions, mechanisms and clinical implications. **Nature Reviews Nephrology**, v.8, n.5, p.293–300, 2012.

HENRY, C. J. Biomarkers in veterinary cancer screening: Applications, limitations and expectations. **The Veterinary Journal**, v.185, n.1, p.10-14, 2010.

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

IRIS. Staging of CKD (modified 2016). Disponível em: <http://iris-kidney.com/guidelines/>. Acesso em 21 de Dezembro de 2016.

IRIS. Treatment recommendations for CKD in Dogs (2015). Disponível em: <http://www.iris-kidney.com/pdf/treatment-recommendation-dogs.pdf>. Acesso em 21 de Junho de 2016.

ITO, A.; TSAO, P. S.; ADIMOOLAM, S.; KIMOTO, M.; OGAWA, T.; COOKE, J. P. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. **Circulation**, v.99, p.3092-3095, 1999.

KALOUSOVÁ, M.; KIELSTEIN, J. T.; HODKOVÁ, M.; ZIMA, T.; DUSILOVÁ-SULKOVÁ, S.; MARTENS-LOBENHOFFER, J.; BODE-BOGER, S. M. No benefit of hemodiafiltration over hemodialysis in lowering elevated levels of asymmetric dimethylarginine in ESRD patients. **Blood Purification**, v.24, n.5–6, p.439–444, 2006.

KEELE, J. A. *Regulation of Arginine Metabolism Following Acute Myocardial Infarction in Mice*. 2008. 98f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Department of Molecular Biology, University of Wyoming, Laramie. 2008.

KIELSTEIN, J. T.; SALPETER, S. R.; BODE-BOEGER, S. M.; COOKE, J. P.; FLISER, D. Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function - A meta-analysis. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 21, n. 9, p. 2446–2451, 2006.

KIELSTEIN, J. T.; VELDINK, H.; MARTENS-LOBENHOFFER, J.; HALLER, H.; BURG, M.; LORENZEN, J. M.; LICHTINGHAGEN, R.; BODE-BÖGER, S. M.; KLIEM, V. SDMA is an early marker of change in GFR after living-related kidney

donation. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 26, n. 1, p. 324–328, 2011.

KOGIKA, M. M.; WAKI, M. F.; MARTORELLI, C. R. Doença renal crônica. In: JERICÓ, M. M.; ANDRADE NETO, J. P.; KOGIKA, M. M. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. 1. ed. v.2. São Paulo: Editora Roca, cap.159, p.1394-1409, 2015.

LANGSTON, C. Managing fluid and electrolyte disorders in kidney disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 47, p.471-490, 2017.

LEFEBVRE, H. P.; JEUNESSE, E.; CONCORDET, D.; FERRE, J. P.; DE LA FARGE, F.; LAROUTE, V.; GIRAUDEL, J.; WATSON, A. D. Assessment of glomerular filtration rate using plasma exogenous creatinine clearance test: preliminary results in a healthy canine population. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.415. 2004.

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

MELCHERT, A.; GERALDES, S. S.; VIEIRA, A. N. L. S.; TAKAHIRA, R. K.; RAMOS, P. R.; BARRETTI, P.; PADOVANI, C. R.; SANT'ANA, P. B., RIBEIRO, J. F. A.; GUIMARÃES-OKAMOTO, P. T. C. Intermittent hemodialysis in dogs with chronic kidney disease stage III. **Ciência Rural**, v. 47, n. 10, p.1-7, 2016.

MONCADA, S.; HIGGS, E. A. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. **British Journal of Pharmacology**, v.147, p.193-201, 2006.

MOTE, J. D.; LOPEZ, R. F. E.; MEZA, S. D.; ROJAS, G. S.; CASTRO, V. E. L. E.; CHAVEZ, J. M.; GARFIAS, J. A. B. Óxido nítrico: metabolismo e implicaciones clínicas. **Medicina Interna de México**. v.24, n.6, p.397-406, 2008.

NABITY, M. B.; LEES, G. E.; BOGGESS, M. M.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; RAKITIN, A.; AGUIAR, J.; RELFORD, R. Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.29, p.1036-1044, 2015.

NANJI, A. A.; POON, R.; HINBERG, I. Interference by cephalosporins with creatinine measurement by desk-top analyzers. **European journal of clinical pharmacology**, v. 33, n. 4, p. 427–9, 1987. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3443149>>.

ONER-IYIDOGAN, Y.; ONER, P.; KOCAK, H.; GURDOL, F.; BEKPINAR, S.; UNLUCERCI, Y.; CALISKAN, Y.; CETINALP-DEMIRCAN, P.; KOCAK, T.; TURKMEN, A. Dimethylarginines and inflammation markers in patients with chronic kidney disease undergoing dialysis. **Clinical and Experimental Medicine**, v.9, n.3, p.235–241, 2009.

PEAKE, M.; WHITING, M. Measurement of Serum Creatinine – Current Status and Future Goals. **Clinical Biochemist Reviews**, v. 27, n. 4, p. 173–184, 2006.

POLZIN, D. J. Chronic kidney disease in small animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 41, p.15-30, 2011.

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

PREISS, D. J.; GODBER, I. M.; LAMB, E. J.; DALTON, R. N.; GUNN, I. R. The influence of a cooked-meat meal on estimated glomerular filtration rate. **Annals Clinical Biochemistry**, v. 44, n. Pt1, p. 35–42, 2007.

RELFORD, R.; ROBERTSON, J.; CLEMENTS, C. Symmetric Dimethylarginine: SDMA. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 46, n. 6, p. 941–960, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195561616300468>>.

RIFAI, N.; GILLETTE, M. A.; CARR, S. A.. Protein biomarker discovery and validation: the long and uncertain path to clinical utility. **Nature biotechnology**, v. 24, n. 8, p. 971–983, 2006.

RULE, A. D.; ELSHERBINY, H. Chronic kidney disease: Endogenous filtration markers – it is time to move beyond GFR? **Nature Reviews Nephrolog**, v.8, n.1, p.10-12, 2012.

SCHEPERS, E.; BARRETO, D. V.; LIABEUF, S.; GLORIEUX, G.; ELOOT, S.; BARRETO, F. C.; MASSY, Z.; VANHOLDER, R. Symmetric dimethylarginine as a proinflammatory agent in chronic kidney disease. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v.6, n.10, p.2374–2383, 2011.

SCHIFFRIN, E. L.; LIPMAN, M. L.; MANN, J. F. Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. **Circulation**, v.116, p.85-97, 2007.

SCHWEDHELM, E.; BÖGER, R. H. The role of asymmetric and symmetric dimethylarginines in renal disease. **Nature Reviews Nephrology** v.7, p.275–85, 2011.

TAIN, Y. L.; HSU, C. N. Toxic dimethylarginines: Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and symmetric dimethylarginine (SDMA). **Toxins**, v. 9, n. 3, p.1-20, 2017.

TARNOW, I.; FALK, T.; TIDHOLM, A.; MARTINUSSEN, T.; JENSEN, A. L.; OLSEN, L. H.; PEDERSEN, H. D.; KRISTENSEN, A. T. Hemostatic biomarkers in dogs with chronic congestive heart failure. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.21, n.3, p.451-457, 2007.

VALLANCE, P.; LEONE, A.; CALVER, A.; COLLIER, J.; MONCADA, S. Accumulation of an endogenous inhibitor of NO synthesis in chronic renal failure. **Lancet**, v.339, p.572-575, 1992.

VON HENDYY-WILLSON, V. E.; PRESSLER, B. M. An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. **The Veterinary Journal**, v.188, p.156-165, 2011.

YERRAMILLI, I.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; JEWELL, D. E.; HALL, J. A. Prognostic value of symmetric dimethylarginine (SDMA) to creatinine ratio in dogs and cats with chronic kidney disease (CKD). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.29, p.1274, 2015.

YERRAMILLI, M.; FARACE, G.; QUINN, J.; YERRAMILLI, M. Kidney Disease and the Nexus of Chronic Kidney Disease and Acute Kidney Injury. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 46, n. 6, p. 1–33, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S019556161630047X>>.

WATSON, A. D.; LEFEBVRE, H. P.; CONCORDET, D.; LAROUTE, V.; FERRE, J. P.; BRAUN, J. P.; CONCHOU, F.; TOUTAIN, P. L. Plasma exogenous creatinine clearance test in dogs: comparison with other methods and proposed limited sampling strategy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.16, p.22–33, 2002.

WILLIAMS, T. L.; PEAK, K. J.; BRODBELT, D.; ELLIOTT, J.; SYME, H. M. Survival and the development of azotemia in hyperthyroid cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.24, p.863-869, 2010.

NORMAS DA REVISTA

Seção 1. Concentração sérica de dimetilarginina simétrica em cães com doença renal crônica submetidos a hemodiálise intermitente

Journal of Veterinary Internal Medicine

[http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/\(ISSN\)1939-1676/asset/homepages/NewAuthorGuidelines.pdf?v=1&s=e92401745b009eb58aa66628c8c9dd83d695e9e7&isAguDoi=false](http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/(ISSN)1939-1676/asset/homepages/NewAuthorGuidelines.pdf?v=1&s=e92401745b009eb58aa66628c8c9dd83d695e9e7&isAguDoi=false)