

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CONSUMO DE AMIDO E PROTEÍNA, EXCREÇÃO DE
OXALATO E CARACTERÍSTICAS DA URINA DE GATOS
ALIMENTADOS COM RAÇÃO SECA**

Raquel Silveira Pedreira

Médica Veterinária

2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CONSUMO DE AMIDO E PROTEÍNA, EXCREÇÃO DE
OXALATO E CARACTERÍSTICAS DA URINA DE GATOS
ALIMENTADOS COM RAÇÃO SECA**

Raquel Silveira Pedreira

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de mestre em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária).

2015

P371c Pedreira, Raquel Silveira
Consumo de amido e proteína, excreção de oxalato e características da urina de gatos alimentados com ração seca / Raquel Silveira Pedreira. -- Jaboticabal, 2015
xiv, 60 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015
Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi
Banca examinadora: Marcia de Oliveira Sampaio Gomes, Mirela Tinucci Costa.

Bibliografia

1. Nutrição. 2. Cães e gatos. 3. Oxalato de cálcio. 4. Urolíase. 5. Pequenos animais-clínica médica. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:636.04



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

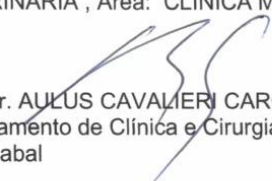
TÍTULO: CONSUMO DE AMIDO E PROTEÍNA, EXCREÇÃO DE OXALATO E
CARACTERÍSTICAS DA URINA DE GATOS ALIMENTADOS COM RAÇÃO SECA

AUTORA: RAQUEL SILVEIRA PEDREIRA

ORIENTADOR: Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. CECILIA VILLAVARDE HARO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM MEDICINA
VETERINÁRIA, Área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de
Jaboticabal



Profa. Dra. MIRELA TINUCCI COSTA

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de
Jaboticabal



Profa. Dra. MÁRCIA DE OLIVEIRA SAMPAIO GOMES

Universidade de São Paulo / São Paulo/SP

Data da realização: 17 de julho de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

RAQUEL SILVEIRA PEDREIRA – nascida em 15 de agosto de 1985, na cidade de São Paulo – SP, filha de Marina de Moraes Silveira Pedreira e de Marco Antônio Silveira Pedreira. Concluiu o ensino médio no Colégio Puríssimo Coração de Maria em novembro de 2003 na cidade de Rio Claro- SP. Ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária em março de 2007 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Câmpus de Jaboticabal (UNESP), concluindo-o em janeiro de 2013. Em março de 2013 iniciou o curso de mestrado pelo programa de pós-graduação em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária) pela mesma instituição, sendo bolsista da Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Submeteu-se à banca de defesa para a Dissertação de Mestrado em julho de 2015.

Ofereço:

Aos meus avós Esther, Heloisa,
Antônio e Carlos que ficaram pouco tempo
em minha vida mais que deixaram boas
lembranças, que guardo com muito carinho.

Dedico:

A minha querida mãe, Marina, a quem devo tudo que sou hoje, meu exemplo de pessoa, mãe e amiga, muito obrigada por tudo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à vida, por ser tão bela e me proporcionar oportunidade para me tornar uma pessoa melhor a cada dia.

Agradeço aos meus amados pais, Marina e Marco Antônio, pela imensa dedicação em minha criação, pelo amor, carinho e apoio que sempre estiveram prontos para me oferecer, pela família e vida maravilhosa que me deram.

Agradeço aos meus irmãos Mauricio e Felipe, irmãos mais velhos que sempre me protegeram e me deram muitos exemplos de caráter, determinação e força. Ao meu irmão Mauricio por agregar à família pessoas tão especiais como a Flávia e meu querido afilhado Ricardo.

Ao meu companheiro e amigo, José Ricardo Zanin de Almeida Filho, que mesmo distante sempre me deu força e me ajudou em meus momentos mais difíceis, com carinho e paciência.

Ao Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, por ter dado a oportunidade de trabalhar em seu grupo de pesquisa, onde não só adquiri muito conhecimento técnico como aprendi a gostar do meu trabalho. Agradeço por ter convivido com o professor que para mim é um exemplo de simplicidade, humildade, inteligência e dedicação. Prof. Aulus, muito obrigada por ter me dado esse voto de confiança.

Aos meus amigos de infância, Cris, Ma, Na, Gre, Lí, Malu, Du, Ju, Clara e Michel por sempre estarem ao meu lado, dispostos e interessados nos assuntos mais diversos, sobre minha graduação e trabalho de mestrado, por me proporcionarem momentos de descontração e pela amizade pura.

A todas moradoras e ex-moradoras da república As Bardosas por me acolherem e me ensinaram a respeitar o outro, seus costumes e opiniões e me proporcionarem tantos momentos de alegria.

Aos meus queridos colegas de graduação, Sô, Chikinha, Angélica, Sirola, Fôia, Ex-bôa, Margoso e Guampa, pelo companheirismo, pelas festas, pelas longas conversas, conselhos, risadas e momentos únicos. Uma amizade que gostaria de levar para toda a vida.

Preta, Bru e Chay, presentes que a nutrição de cães e gatos me deu, amigas que me ensinaram a ter mais paciência, amor ao próximo e mais amor aos animais, o valor do trabalho e sempre pensar positivo, que estiveram ao meu lado em momentos difíceis, prontas para me ajudar e dar conselhos. Meninas muito obrigada por tudo.

À Fernanda Sanches Mendonça que me ajudou imensamente nesse projeto, fazendo seu melhor e me colocando pra cima em meus momentos de desânimo. Sem você eu não teria conseguido. Muito obrigada!

A todos que tive o prazer de conhecer e conviver durante minha passagem pelo laboratório de nutrição de cães e gatos, Fabi, Márcio, Márcia, Katy, Mayara, Flávio, Mulamba, Sivi, Laura, Érico, Aninha, Pets, Thaila, Fer Kroll, Lud, Bru Ponciano, Raquel, Leandro, Ju, Íris, Michele, Fábio, Camila, Brana, Vivian, Stephanie e todas as estagiarias e estagiários que foram tão importantes para realização deste trabalho.

Aos funcionários, Elaine, Claudia e Diego, sem eles nada seria possível, e que me ensinaram a ter amor ao trabalho, dedicações e que tudo tem seu jeito e dá certo no final.

Aos animais que participaram deste estudo e que pelos quais desenvolvi muito carinho, Pandora, Kitty, Tigrado, Bolão, Leão, Cara-Suja, Zidane, Barrigudo, Preta Assustada, Cotoquinha, Valério, Fifi, Di boa, Cuca, Tigresa, Gordinho, Siamesa, Valéria e Colerinha.

À FAPESP pela concessão da bolsa de estudos (processo nº 2013/15766-9).

À Mogiana Alimentos S/A, pelo auxílio financeiro do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada” e pelo financiamento deste projeto de pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	XI
LISTA DE TABELA.....	XII
LISTA DE FIGURA.....	XIII
CAPÍTULO 1	
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 DOENÇAS DO TRATO URINÁRIO INFERIOR DE FELINOS (DTUIF) E UROLITÍASE.....	16
2.2 SUPERSATURAÇÃO E VOLUME DE URINA.....	18
2.3 PH URINÁRIO.....	20
2.4 URÓLITO DE OXALATO DE CÁLCIO.....	20
3. OBJETIVOS GERAIS.....	25
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
CAPÍTULO 2	
1. RESUMO.....	36
2. INTRODUÇÃO.....	37
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
3.1. ANIMAIS, MANEJO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	38
3.2. DIETAS EXPERIMENTAIS.....	39
3.3. EXCREÇÃO DE OXALATO E SUPERSATURAÇÃO RELATIVA DA URINA PARA OXALATO DE CÁLCIO.....	40
3.4. EXCREÇÃO FRACIONADA DE OXALATO.....	41

3.5. DIGESTIBILIDADE APARENTE DOS NUTRIENTES E BALANÇO HÍDRICO DOS ANIMAIS.....	41
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
5. RESULTADOS.....	43
6. DISCUSSÃO.....	44
7. CONCLUSÃO.....	47
8. REFERÊNCIAS.....	47



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 005705/13 do trabalho de pesquisa intitulado **"Dietas com diferentes relações de proteína e carboidratos para gatos: efeito no metabolismo energético e proteico, produção de oxalato e métodos para mensuração do gasto energético"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 11 de Abril de 2013.

Jaboticabal, 11 de Abril de 2013.


Prof. Dr. Andriago Barboza de Nardi
Coordenador - CEUA

CONSUMO DE AMIDO E PROTEÍNA, EXCREÇÃO DE OXALATO E CARACTERÍSTICAS DA URINA DE GATOS ALIMENTADOS COM RAÇÃO SECA

RESUMO - Gatos são animais carnívoros, com elevada necessidade de aminoácidos. O aproveitamento de carboidratos por esses animais já foi estudado, contudo existem informações, relacionadas ao metabolismo deste nutriente, que ainda não são bem esclarecidas para a espécie. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do consumo de dietas com diferentes relações entre amido e proteína sobre a formação e excreção do oxalato e o índice de supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio (SSR OxCa). Foram avaliados alimentos extrusados com diferentes proporções de amido (CHO) e Proteína (PB): Dieta A 47 com 47% de CHO e 25% de PB; dieta A 32 com 31,9% de CHO e 38% de PB; dieta A 19 com 19,2% de CHO e 52% de PB e dieta A 8 com 8,3 % de CHO e 62% de PB (na matéria seca). O estudo foi organizado em 4 blocos de 18 dias, cada um com quatro rações e oito gatos, totalizando 32 gatos e oito repetições por ração. Os gatos permaneceram em gaiolas metabólicas durante 10 dias de adaptação à dieta, seguidos de sete dias de coleta total de urina e fezes. Durante os dois primeiros dias de coleta a urina foi recolhida em garrafas com 1mL de H₂SO₄ (1N) e nos cinco dias seguintes em garrafas com 100mg de timol. Na urina produzida em cada período de 24 horas foi aferido o volume, densidade e pH. A urina de 5 dias de cada gato (colhida com timol) foi homogeneizada, sendo determinados os teores de cálcio, fósforo, cloro, enxofre, magnésio, sódio, potássio, citrato, oxalato, ácido úrico, creatinina e ureia. Na urina acidificada foram determinados o nitrogênio e energia bruta. Amostras de sangue para obtenção do plasma foram colhidas no 18º dia de cada período, sendo analisadas para oxalato e creatinina. Os alimentos e as fezes foram avaliados para matéria seca, matéria mineral, amido, fibra bruta e energia bruta. Com base nesses resultados foi calculada a SSR OxCa e a excreção fracionada de oxalato. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando diferenças significativas foram detectadas no teste F, comparações múltiplas foram realizadas por meio de contrastes polinomiais ($P < 0,05$). A inclusão de até 47% do amido não limitou o consumo das dietas pelos animais, não tendo sido verificado diferenças na ingestão de matéria seca e nem no peso corporal dos gatos. As ingestões de amido, proteína e sódio variaram em função das composições das rações ($P < 0,01$). A redução da ingestão de amido (aumento da proteína e sódio) levou ao aumento do consumo de água, da produção de urina e do pH urinário ($P < 0,01$). A diferença na produção de urina resultou em maior concentração urinária de oxalato, K, Cl, P e Mg nos gatos que receberam mais amido (menos proteína e sódio), induzindo maior supersaturação da urina para oxalato de cálcio neste grupo ($P < 0,05$). A eliminação renal de oxalato (mg/kg/d), por outro lado foi semelhante entre grupos, não tendo sido verificado alteração no metabolismo de glioxilato e produção de oxalato em função da relação amido: proteína das rações. A maior produção de urina pode ser explicada pelo efeito osmótico da ureia oriunda de degradação proteica e pela maior excreção de sódio pelos túbulos renais, aumentando a perda urinária de água. O aumento do pH da urina, por sua vez, ocorreu pelo aumento do consumo de sódio e potássio, cátions presentes na proteína isolada de soja. Concluiu-se que apesar do consumo de

amido não alterar a produção endógena de oxalato, a reduzida ingestão de proteína resulta em menor diurese e ingestão hídrica, aumentando a concentração urinária do oxalato e a supersaturação urinária para oxalato de cálcio.

Palavras-chave: amido, citrato, excesso de base, urolitíase, urina.

STARCH AND PROTEIN INTAKE, OXALATE EXCRETION AND URINE SUPERSATURATION FOR CALCIUM OXALATE IN CATS FED KIBBLE DIETS

ABSTRACT - Cats are carnivores and have high amino acids requirements. The use of carbohydrates by these animals has been evaluated; however, there are some information that is not well understood. The objective of this study was to evaluate the effect of consumption of diets with different relations between starch and protein on the formation and excretion of oxalate, and the relative supersaturation index of calcium oxalate in urine (SSR OxCa). Four diets were extruded with different starch (CHO) and protein (CP) ratios: diet 47 with 47% of CHO and 25% of CP; diet 32 with 31.9% of CHO and 38% of CP; diet 19 with 19.2% of CHO and 52% of CP; and diet 8 with 8.3% of CHO and 62% of CP (dry matter basis). The experiment was organized in 4 blocks of 18 days; there were 4 diets and 8 cats in each block, resulting in eight animals per diet. Animals were kept in metabolic cages during 10 days for diet adaptation followed by 7 days of total urine and feces collection. Urine was collected in bottles with 1 ml of H₂SO₄ (1N) in the first two days of the collection period and the last five days in bottles with 100 mg of thymol. Volume, density and pH of urine were measured each 24 hours during the whole experiment. Urine harvested with thymol were homogenized and analyzed for calcium, phosphorus, chlorine, sulfur, magnesium, sodium, potassium, citrate, oxalate, uric acid and creatinine. In the acidic urine were determined nitrogen and gross energy. Blood samples were taken at 18th day of the experiment and evaluated for oxalate and creatinine. Food and feces were evaluated for dry matter, ash, starch, crude fiber and gross energy. Based on the results SSR OxCa and fractional excretion of oxalate were calculated. Data were submitted to analysis of variance and when significant differences were detected in the F test, multiple comparisons were performed using polynomial contrasts ($P < 0.05$). Starch inclusion up to 47% did not restrict the diet consumption by the cats and there were no differences in dry matter intake and body weight. The composition of cat food influenced the starch, protein and sodium intake ($P < 0.01$). Water consumption, urine output and urinary pH increased ($P < 0.01$) according to the reduction of starch intake and increase of protein and sodium. The difference in urine production resulted in higher values for urinary oxalate concentration, K, Cl, P and Mg in cats fed diets with more starch than protein and sodium, inducing higher supersaturation of calcium oxalate in their urines ($P < 0.05$). Renal oxalate excretion (mg/kg/d) values were similar among groups and there were no changes in glyoxylate metabolism and oxalate production regarding to starch: protein ratio of cat food. The increase in the urine production can be explained by the osmotic effect of urea originated from protein degradation and by the higher sodium excretion by the renal tubules increasing the urinary water loss. The increase in urinary pH is due to the higher sodium and potassium intake, cations that are found in the soy protein isolate. Although starch intake does not change the endogenous production of oxalate, reduced protein intake leads to lower diuresis and water intake increasing the oxalate urinary concentration and urinary supersaturation of calcium oxalate.

Keywords: starch, citrate, base excess, urolithiasis, urine.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Fórmula dos alimentos extrusados para felinos com diferentes relações amido: proteína.....	50
Tabela 2. Composição química analisada dos alimentos extrusados para felinos com diferentes relações de amido: proteína. Valores sobre a matéria seca.....	51
Tabela 3. Peso corporal inicial e final e consumo de matéria seca e energia metabolizável (EM) de gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações de amido: proteína.....	52
Tabela 4. Consumo, coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes, energia metabolizável e balanço de nitrogênio de gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações de amido: proteína.....	53
Tabela 5. Balanço hídrico e características da urina e das fezes de gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações de amido: proteína.....	54
Tabela 6. Excreção renal de macroelementos, oxalato e citrato de gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações de amido: proteína.....	55
Tabela 7. Supersaturação para oxalato de cálcio (SSR OxCa) e concentração de macroelementos, oxalato e citrato na urina de gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações amido: proteína.....	56
Tabela 8. Concentração de oxalato e creatinina no plasma e excreção fracionada de oxalato em gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações amido: proteína.....	57

LISTA FIGURAS

	Página
Figura 1. Possíveis vias metabólicas para o metabolismo do oxalato através do glioxilato no hepatócito de felinos (DIJCKER, 2011).....	25
Figura 2. Correlação entre a ingestão de sódio e o consumo de água no bebedouro de gatos alimentados com rações com diferentes relações proteína: amido e teores crescentes de sódio ($y = 16.117x + 8.8533$ $R^2 = 0.3814$; $P=0.0001$).....	58
Figura 3. Correlação entre a ingestão de sódio e a produção de urina de gatos alimentados com rações com diferentes relações proteína: amido e teores crescentes de sódio ($y=14.066x+3.382$ $R^2 = 0.3806$; $P=0.0001$).....	58
Figura 4. Correlação entre a ingestão de proteína e o consumo de água no bebedouro de gatos alimentados com rações com diferentes relações proteína: amido e teores crescentes de sódio ($y = 2.9988x + 9.1563$ $R^2 = 0.3924$ $P<0.0001$).....	59
Figura 5. Correlação entre a ingestão de proteína e a produção de urina de gatos alimentados com rações com diferentes relações proteína: amido e teores crescentes de sódio ($y = 2.1657x + 5.5161$ $R^2 = 0.3319$; $P<0.0001$).....	59
Figura 6. Correlação entre a ingestão de amido e a excreção urinária de oxalato em gatos alimentados com rações com diferentes relações proteína: amido e teores crescentes de sódio ($y = 0.1097x + 2.5206$ $R^2 = 0.009$; $P=0.1738$).....	60

CAPÍTULO 1

CAPÍTULO 1- Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO

Os gatos domésticos descendem de felinos, carnívoros verdadeiros. Caracterizam-se por apresentar elevada necessidade de aminoácidos e por consumir, no ambiente natural, alimentos compostos por proteínas e gorduras, com muito baixo amido (presas de origem animal) (ZORAN, 2002; PLANTINGA et al., 2011). No ambiente doméstico, os gatos recebem em suas dietas proteínas, gorduras e, também, quantidades consideráveis de amido. Isto ocorre devido à necessidade, por parte da indústria petfood, de adicionar cereais às formulações, ingredientes que apresentam elevadas quantidades deste nutriente (como exemplos arroz, trigo, milho e seus derivados). Os carboidratos, mais especificamente o amido, são necessários à formação de viscosidade e funcionamento da extrusora, determinando no final do processo a forma, textura, crocância e palatabilidade do alimento. Com isto, alimentos secos para felinos apresentam, entre, de 20% a 50% de carboidratos em sua composição (de OLIVEIRA et al., 2008).

Estudos mostram que os gatos são capazes de aproveitar a energia oriunda do amido, sendo desde que sejam adequadamente processados a digestibilidade do amido é superior a 95% (de OLIVEIRA et al., 2008; TESHIMA et al., 2010). Além de digerir-los eficientemente, esses animais conseguem variar a taxa de oxidação de proteínas e carboidratos, conforme os nutrientes aparecem disponíveis na dieta, indicando adaptação metabólica para adequado aproveitamento dos substratos e otimização do metabolismo da energia e proteína (RUSSELL et al., 2002; RUSSELL et al., 2003; GREEN et al., 2008). Contudo, poucos estudos avaliaram as consequências do consumo de amido no metabolismo de oxalato e sua excreção urinária, relacionado à formação de urólitos de oxalato de cálcio na urina (DIJCKER et al., 2011). Em estudo recente, em felinos, que avaliou a influência dos macronutrientes da dieta sobre a síntese endógena e excreção de oxalato, foi verificado que o perfil de macronutrientes não afetou a síntese de oxalato, no entanto, a dieta com elevado teor de proteína reduziu a concentração de oxalato na urina, mostrando-se potencialmente útil na prevenção da formação deste urólito (DIJCKER et al., 2012). Contudo, o estudo utilizou dietas semi-purificadas e não rações práticas. Assim, para alimentos industrializados convencionais, ainda não se tem visão clara das implicações dos consumos de proteína ou amido nas vias de produção e excreção renal de oxalato, bem como de suas consequências para a supersaturação da urina de felinos para oxalato de cálcio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Doenças do Trato Urinário Inferior de Felinos (DTUIF)

A DTUIF acomete a bexiga ou uretra de gatos e está associada a sinais como disúria, hematúria, polaquiúria, estrangúria e periúria. Suas principais causas são cistite idiopática felina (CIF), urolitíase e plug uretral. Seu diagnóstico é feito a partir dos exames de urina, radiografia ou ultrassom abdominal, cistorretrografia e cultura de urina (FORRESTER; ROUDEBUSH, 2007).

A DTUIF tem sido diagnosticada em 4,6% dos gatos avaliados em clínicas privadas dos Estados Unidos e em 7,5% dos felinos atendidos em hospitais veterinários de universidades americanas (FORRESTER; ROUDEBUSH, 2007). No Brasil, não existem muitos dados publicados sobre a incidência de afecções urinárias em felinos (RECHE Jr. et al., 1998). Segundo levantamento realizado por CAMARGO (2004), de um total de 774 cães e gatos atendidos no período de 1999 a 2003 pelo Serviço de Nefrologia e Urologia do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV- Unesp de Jaboticabal, 107 casos foram de urolitíase (13,82%), demonstrando elevada morbidade proporcional.

Dentre as várias causas de DTUIF, as que são relacionadas com a presença de cristais e urólitos correspondem, dependendo do estudo, de 15% a 45% dos casos (BARTGES; KIRK, 2012). A urolitíase não deve ser vista como doença única com causa singular, mas, como o resultado de múltiplas anormalidades que ocorrem de forma simultânea (OSBORNE et al., 2009). Urólitos são resultados de condensações macroscópicas formadas no trato urinário que podem ser encontrados na pelve renal, no ureter ou em qualquer porção do trato urinário inferior (CONFER; PANCIEIRA, 1998). O urólito se inicia pela formação de um ninho de cristal, fase denominada nucleação, que depende da supersaturação da urina com cristaloides calculogênicos. Influem na nucleação o pH, a força iônica, a temperatura, a magnitude da excreção renal do cristalóide e/ou os fatores inibidores da formação ou da agregação de cristal (OSBORNE, 2004).

Os urólitos de maior incidência nos felinos são os de estruvita e os de oxalato de cálcio (FORRESTER; ROUDEBUSH, 2007). Em estudo realizado pelo Centro de Urólitos de Minnesota durante quase duas décadas e meia, verificou-se mudança drástica na incidência de urólitos de oxalato de cálcio e de estruvita, em 1981 apenas 2% das

amostras analisadas eram de oxalato de cálcio e 78% de estruvita, já no ano de 2002, 55% das amostras eram de oxalato de cálcio e 33% de estruvita (OSBORNE et al., 2009). Em 1994, 77% dos urólitos de gatos da Bélgica, Holanda e Luxemburgo eram de estruvita e 12% de oxalato de cálcio; em 2003, os de estruvita reduziram-se para 32% e os de oxalato de cálcio aumentaram para 61%. O mesmo pôde ser visto no Centro de Urólitos do Canadá (Universidade de Guelph, Ontario) onde, de 1998 a 2003, 50% dos cálculos de bexiga encontrados eram de oxalato de cálcio e 44% de estruvita. As causas para esta mudança são desconhecidas e necessitam de mais estudos (FORRESTER; ROUDEBUSH, 2007).

Fatores de risco que contribuem para a formação do urólito de oxalato de cálcio são: presença de oxalato e cálcio na urina, pH ácido e volume urinários reduzidos, concentração de glicosaminoglicanos baixa, raça, sexo, estado reprodutivo e idade. Certas raças de gatos são mais predispostas à formação de urólitos, tais como birmanês, persas e himalaias. Segundo Lekcharoensuk (2001) os gatos com idade entre 7 e 10 anos apresentam maior probabilidade de desenvolver urólito de oxalato de cálcio, assim como os gatos machos, que representaram 59% dos animais do estudo. O autor supracitado também mostra que 95% dos gatos acometidos eram castrados, porém isto pode ser decorrente do fato de 79% dos gatos atendidos em clínicas veterinárias nos Estados Unidos serem castrados.

Sabe-se que a dieta contribui para o aparecimento, manejo ou prevenção de recidivas de urolitíase. Ingredientes do alimento, sua digestibilidade, composição química e métodos de alimentação afetam o volume, o pH e a gravidade específica da urina (MARKWELL et al., 1998; CARCIOFI; BAZZOLI; ZANNI, 2005). Assim, é possível que a mudança na alimentação seja responsável pela alteração nos tipos de urólitos que vem acometendo felinos. O uso de dietas para prevenção de cálculos de estruvita, que promovem acidificação da urina, podem ter contribuído para a queda na ocorrência de urólito, no entanto, como a acidificação excessiva favorece a formação de urólitos de oxalato de cálcio (LEKCHAROENSUK et al., 2001), a mudança alimentar pode ter favorecido o aumento de sua ocorrência (OSBORNE et al., 2009). É interessante que dados do ano de 2007, coincidentes com a introdução de rações que controlam tanto a formação de estruvita como de oxalato de cálcio, apontem pequeno predomínio de estruvita (49%) sobre o oxalato de cálcio (41%), embora os dados ainda sejam especulativos (OSBORNE et al., 2009).

2.2. Supersaturação e volume de urina

O conceito atual de formação de cristais e urólitos, bem como o estudo da influência da dieta em sua patogenia, é hoje abordado dentro do princípio de supersaturação urinária (JEREMIAS, 2013). Altas concentrações de soluto, com subsequente supersaturação da urina e diminuição da frequência de micção, favorecem a formação de cristais e cálculos, pois a precipitação de cristais ocorre quando a urina se torna supersaturada (OSBORNE; BARTGES; LULICH, 2000). O estado de saturação da urina é o produto da concentração de solutos presentes, seu pH, sua força iônica, sua temperatura e presença de complexos químicos pré-formados. O cálculo se forma e desenvolve quando a supersaturação é suficientemente elevada e persistente. A urina contém grande variedade de substâncias que podem inibir ou promover a formação e o crescimento de cristais (ALLEN; KRUGER, 2000). Para medir a supersaturação, são necessárias informações sobre as concentrações de cálcio, fósforo, magnésio, cloro, sódio, potássio, enxofre, ácido úrico, oxalato, citrato e pH urinário. Essas informações são integradas em um software, que aponta o risco de formação ou não do urólito (JEREMIAS, 2013).

A diminuição do volume urinário produzido favorece aumento na concentração de minerais e metabólitos envolvidos na formação de urólitos. Baixo volume urinário pode resultar em maior saturação urinária para diversos urólitos, conseqüentemente elevando o risco de sua formação. A densidade específica da urina de um gato pode ser superior a 1.065, o que mostra como esses animais podem produzir urina concentrada, e muitos gatos diagnosticados com urólito de oxalato de cálcio apresentaram densidade específica maior que 1.040 (BARGETS; CALLENS, 2014). Assim, pode-se considerar o aumento do volume urinário como estratégia para se prevenir a formação de urólitos. O aumento na ingestão e excreção renal de água leva à redução da concentração de substância calculogênicas na urina, mesmo sem alterar sua excreção renal total diária. Além disso, aumenta o tempo de trânsito urinário e a frequência de micção, diminuindo a probabilidade da formação, permanência no trato urinário e crescimento do cristal (KIRK, 2003). Algumas estratégias nesse sentido incluem estimular o animal a beber água; como a maior exposição de água no ambiente, com a colocação de fontes, o oferecimento de água com sabor, ou a indução do consumo de água pelo alimento, ao empregar rações úmidas (CARCIOFI; BAZZOLI; ZANNI, 2005). Quando os felinos são alimentados com dietas com elevada umidade (mais de 80%), a excreção de urina aumenta significativamente quando comparada aos animais que recebem dietas secas (GASKELL,

1989). A importância disso pode ser verificada em um estudo retrospectivo, feito com 173 gatos, no qual foi verificado que os animais que foram alimentados com dietas de elevado teor de umidade (77,4%-81,2%) tinham um terço a menos de probabilidade de desenvolver urólito de oxalato de cálcio do que os que se alimentavam com ração seca (LEKCHAROENSUK et al., 2001).

Cloreto de sódio também pode ser adicionado na dieta para estimular a ingestão de água; estratégia empregada em algumas dietas secas (CHANDLER, 2008). Em seres humanos o aumento no consumo de sódio pode ser associado ao aumento na excreção de cálcio pelos rins, o que pode aumentar o risco de formação de oxalato de cálcio (CASTENMILLER et al., 1985; KOK et al., 1990; SAKHAEE et al., 1993). A hipótese para isto é que, a elevada ingestão de sódio pode estimular a regulação do transporte molecular do cálcio no túbulo distal do néfron (LEE et al., 2012). Assim, para seres humanos é recomendado baixo consumo de sódio para a prevenção da formação de urólito de oxalato de cálcio (FRASSETTO; KOHLSTADT, 2011). Acredita-se, porém, que isto não seja verdadeiro ou relevante para cães e gatos, tendo em vista que, para esses animais a ingestão de sódio tem pouco efeito sobre a calciúria (HAWTHORNE; MARKWELL, 2004). Em estudo recente, Paßlack et al. (2014) avaliaram a ingestão baixa e elevada de cloreto de sódio (NaCl) em gatos, verificando que o elevado consumo de sal aumentou o volume de urina, manteve constante a concentração urinária de Ca (apesar do aumento de sua excreção renal), reduziu a concentração urinária de oxalato e não alterou a supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio. Os autores concluíram que, a ingestão de cloreto de sódio é benéfica para gatos, não alterando a concentração de cálcio e reduzindo a de oxalato da urina.

2.3. pH urinário

Os urólitos de estruvita se associam em pH urinário alcalino e os urólitos de oxalato de cálcio, em pH urinário ácido. Dietas para prevenção de oxalato de cálcio devem manter o pH urinário entre 6,6 e 6,8 (ALLEN; KRUGER, 2000). A redução do pH urinário foi demonstrada como prática eficaz na diminuição da incidência de formação de cristais de estruvita, sendo mais importante que a redução do magnésio ou fósforo da dieta (MARKWELL; BUFFINGTON; SMITH, 1998). Redução de pH, no entanto, não é apropriada para o manejo de urólitos de oxalato de cálcio. O pH dos fluidos corporais é determinado pela relação entre os cátions e ânions do alimento, cujo equilíbrio determina o pH urinário e as excreções de citrato e oxalato pelos rins (JEREMIAS, 2013). Dessa

forma, o equilíbrio entre as concentrações de cálcio, magnésio, potássio, sódio, cloro, fósforo e enxofre é vital durante a formulação de alimentos para felinos, caso contrário, o risco de urolitíase irá se elevar. A elevação do teor de proteína, normalmente resulta em maior consumo de enxofre que está presente nos aminoácidos sulfurados, como a metionina e a cistina. Assim, ao se alterar a relação entre carboidrato e proteína, é necessário que se controle o equilíbrio dos macroelementos da dieta, caso contrário, pode se alterar o metabolismo ácido-básico e o pH da urina dos animais, distorcendo os resultados obtidos (JEREMIAS, 2013)

2.4. Urólito de oxalato de cálcio

O urólito de oxalato de cálcio se forma quando a urina está supersaturada com oxalato e com cálcio, sendo a agregação do oxalato e de cálcio favorecido por pH urinário ácido. O ácido oxálico é um ácido orgânico de fórmula $H_2C_2O_4$. Sua base conjugada é o oxalato, um agente quelante de íons metálicos, como o cálcio. Está presente em plantas sob a forma cristalina como oxalato de cálcio ou como ânion solúvel, de modo que a principal fonte de oxalato na dieta são as plantas e seus derivados, incluindo sementes e folhas (HOLMES; GOODMAN; ASSIMOS, 2000). O outro elemento do urólito é o cálcio, sendo a hipercalcúria considerada fator metabólico de elevado risco para a formação deste urólito. Esta pode ser causada por aumento na ingestão de cálcio, comprometimento na reabsorção renal de cálcio do filtrado glomerular ou mobilização excessiva de cálcio dos ossos (BARTGES; KIRK, 2012). Aumento da absorção de cálcio após consumo de dietas ricas nesse elemento não parece ser causa importante, uma vez que a absorção de cálcio em animais adultos é baixa. Estudo recente (PASSLACK; ZENITEK, 2013) avaliou baixa e elevada ingestão de cálcio e fósforo em gatos, verificando que o aumento da ingestão de cálcio resultou em redução do paratormônio circulante, aumento da excreção fecal de cálcio e não alterou a excreção renal de cálcio ou de oxalato de gatos. Por muitos anos um dos principais pontos no tratamento de cálculos de oxalato de cálcio foram dietas com restrição de cálcio, porém hoje se sabe que ocorre forte interação, no trato gastrointestinal, entre o cálcio e o oxalato da dieta. Quando o cálcio é muito baixo, o oxalato fica disponível para ser absorvido e consequentemente excretado na urina, sendo sugerido que tanto o cálcio como o oxalato devam ser restritos no alimento, sob pena de se aumentar a oxalúria (VON UNRUH et al., 2003). Dietas com baixos teores de fósforo podem aumentar a absorção do cálcio da dieta, pois aumenta o

cálcio livre, não ligado ao fósforo, que passa a ser mais absorvido (LEKCHAROENSUK et al., 2001).

Acredita-se que dietas excessivamente acidificadas possam favorecer hipercalciúria, pois as mesmas induzem no animal acidose metabólica e mobilização de carbonato e fósforo dos ossos para tamponar os íons de hidrogênio, causando concomitantemente a mobilização de cálcio dos ossos e queda na sua reabsorção pelos rins (CHING et al., 1989; OSBORNE et al., 2004). Além desse fato, a acidose metabólica resulta na redução do citrato urinário, e como este é importante inibidor da precipitação de oxalato de cálcio, o consumo de alimentos excessivamente acidificados pode aumentar o risco de formação de oxalato de cálcio (LEKCHAROENSUK et al., 2001; JEREMIAS, 2013). O citrato age como quelante de cálcio, ou seja, quanto mais alta a concentração de citrato na urina, menor é a quantidade de cálcio disponível para se ligar ao oxalato e formar sal insolúvel (PAK, 1991).

Em estudo com seres humanos Liebman e Costa (2000), verificaram a influência do magnésio sobre a absorção de oxalato. Concluíram que o consumo de 300mg de magnésio, em presença de 198mg de oxalato no alimento, foi suficiente para quelar o oxalato, e o consumo de magnésio resultou em queda da oxalúria. Dentre as hipóteses levantadas pelos autores estão a queda na absorção de oxalato por ligação ao magnésio no trato gastrointestinal, ou a ligação do magnésio com o oxalato na urina, formando sal mais solúvel que o oxalato de cálcio (EISNER et al., 2012).

Nos mamíferos o oxalato é considerado produto final de descarte e não tem função conhecida (BEHNAM et al., 2006). A quantidade de oxalato excretada na urina é determinada pela dieta, pela absorção intestinal, pela secreção tubular renal e pela taxa de síntese endógena (OGAWA; MIYAZATO; HATANO, 2000). Em seres humanos a quantidade de oxalato da dieta que é absorvida pelo trato gastrointestinal tem sido objeto de muitos estudos (HATCH; FREEL, 2005). Segundo Holmes et al. (2001) dieta com baixo oxalato, apresentou aproximadamente 10mg/dia de oxalato do alimento foi absorvido e contribuiu significativamente para o pool de oxalato excretado na urina. Em outro estudo do mesmo grupo, foi estimado que metade do oxalato excretado da urina era proveniente do alimento. Sabe-se, porém, que a taxa de absorção varia muito entre os indivíduos e depende de outros fatores, como a quantidade de cálcio do alimento (VON UNRUH et al., 2003). Em gatos, acredita-se que a absorção de oxalato da dieta seja baixa, pois o composto não é elevado nas dietas comerciais, as quais apresentam bastante cálcio, reduzindo sua absorção intestinal. Porém, não se sabe ao certo qual é a

taxa de absorção de oxalato da dieta em gatos e o quanto isso influencia na excreção do oxalato na urina (DIJCKER et al., 2011).

Em mamíferos o glioxilato, um metabólito intermediário, é considerado o mais importante precursor de oxalato. Esse metabólito advém do glicolato pela ação da enzima glioxilato redutase (GR) (Fig.1 (A) passo III) (BEHNAM et al, 2006). O glicolato é importante intermediário da fotorrespiração, e por isso, o seu teor em plantas é muito maior que em tecido animais (TAKAYAMA et al., 2003). Nos animais, as fontes de glicolato não são bem estabelecidas, acredita-se que venha da dieta, ou de precursores presentes na dieta, como os carboidratos. A biossíntese endógena de oxalato ocorre predominantemente no fígado, altamente dependente do teor de glioxilato dos hepatócitos. Qualquer glioxilato que não for reduzido a glicolato ou transaminado para glicina vai ser oxidado a oxalato. A oxidação do glioxilato é catalisada pela enzima L-lactato desidrogenase (LDH) presente no citoplasma dos hepatócitos (Fig. 1 (A) passo I) (BEHNAM et al, 2006).

Para o funcionamento ideal do organismo o glioxilato deve ser metabolizado, com conversão para glicina pela enzima alanina: glioxilato aminotranferase 1 (AGT1). (Fig. 1 (B) passo IV). Um cofator essencial da enzima AGT1 é a piridoxina (vitamina B6), de modo que a deficiência de piridoxina pode induzir aumento na produção de oxalato, pois o glioxilato deixa de ser convertido a glicolato e passa a ser oxidado a oxalato. Em estudo, gatos filhotes foram alimentados com dietas deficientes em piridoxina e observou-se aumento significativo na produção diária de oxalato (BAI et al., 1989). O glioxilato também pode ser convertido em glicolato pela ação da enzima glioxilato redutase/hidroxipiruvato redutase (GH/HPR) (Fig. 1 (A) passo III), que também catalisa a redução de hidroxipiruvato em D-glicerato e a oxidação de D-glicerato para hidroxipiruvato (Fig.1 A e B (passos IV e Ib) (WILLIAMS; SMITH, 1968). Em gatos, a enzima GH/HPR se encontra praticamente somente no citoplasma dos hepatócitos (DANPURE et al.,1989), e em seres humanos é encontrada predominantemente no citoplasma (>90%), mas pode estar presente também nas mitocôndrias (DIJCKER et al., 2011).

Embora se acredite que, em seres humanos e roedores o açúcar (glicose, galactose e frutose) seja o principal precursor de oxalato, o mesmo também pode ser formado no metabolismo dos aminoácidos hidroxiprolina, glicina e serina (DIJCKER, 2012). Outro formador do oxalato seria o ácido ascórbico, que se quebra de forma não enzimática na urina. Esta reação é acelerada quando o pH está alcalino. Em gatos o ácido ascórbico não tem sido considerado um precursor importante do oxalato (DIJCKER,

2011). Em estudo com gatos foi visto que suplementação alimentar com até 193 mg/kg de ácido ascórbico não afetou as concentrações de oxalato urinário (YU; GROSS, 2005).

Estudo realizado com ratos observou que a excreção urinária de oxalato e glicolato foram significativamente maiores quando os animais foram expostos a altas doses de hidroxiprolina, pois nas mitocôndrias dos hepatócitos a hidroxiprolina é metabolizada para glioxilato, porém o glioxilato, que foi produzido em excesso devido à elevada ingestão de hidroxiprolina, pode extravasar da mitocôndria e servir como substrato para a L-lactato desidrogenase e glioxilato redutase formando oxalato e glicolato, que serão posteriormente excretados na urina (TAKAYAMA et al, 2003). Outro estudo com gatos, Zenteke; Schulz (2004) compararam dietas com: colágeno, carne de cavalo e proteína isolada de soja. Verificaram aumento na excreção de oxalato pelos animais que consumiram a dieta com colágeno como fonte de proteína, o que foi explicado pelo elevado conteúdo de hidroxiprolina do colágeno (10%-13%). Nesse mesmo estudo, os autores investigaram o efeito de dietas com diferentes teores de proteína na excreção diária de oxalato, para isto, em cada fonte de proteína foram elaboradas duas dietas, uma com alta e outra com baixa proteína. Na fórmula, a proteína foi substituída por arroz e gordura animal. Ao contrário do que os autores esperavam todas as dietas com baixo teor de proteína tiveram maior excreção de oxalato, sendo cinco vezes maior nos animais alimentados com a dieta com baixo teor de proteína de colágeno e quatro vezes maior nas dietas baixas em proteína de cavalo e proteína isolada de soja (ZENTEK; SCHULZ, 2004). O consumo de arroz, provavelmente elevou a metabolização de glicose, que pode ter servido de base para a síntese de glioxilato e depois oxalato. O estudo, no entanto, não foi originalmente estruturado para verificar a influência do amido na excreção de oxalato e deixou lacunas abertas para futuras investigações.

É possível que nos gatos o glioxilato em excesso, decorrente de elevada ingestão de amido e outros carboidratos digestíveis, seus precursores, não seja corretamente metabolizado, devido à deficiência da enzima AGT1 nos peroxissomos desses animais. Assim, o glioxilato será provavelmente convertido novamente a glicolato e essa elevada concentração de glicolato pode levar a uma conversão do mesmo a oxalato pela enzima glicolato desidrogenase (GO) (Fig. 1 B passo II) e, posteriormente, excretado na urina (DIJCKER et al., 2011). Durante a seleção natural dos mamíferos, a distribuição intracelular da enzima AGT1 sofreu influência da dieta. Em algumas espécies, como no ser humano e nos coelhos, esta enzima se encontra somente nos peroxissomos, em ratos está presente tanto no peroxissomo como na mitocôndria, já em outras espécies, como a felina, é encontrada somente na mitocôndria (DANPURE et al., 1990). De um ponto de

vista funcional, acredita-se que a dupla localização da enzima AGT1 no hepatócito se deve ao fato de participar da gliconeogênese na mitocôndria e da detoxificação do glioxilato no peroxissomo. A detoxificação de glioxilato no peroxissomo de herbívoros é essencial, já que suas dietas são ricas em glicolato e açúcares. Para que o glioxilato formado pela metabolização do glicolato seja metabolizado corretamente e não haja extravasamento do glicolato para o citoplasma ou metabolização pela enzima glicolato desidrogenase, é preciso elevada atividade da enzima AGT1 no peroxissomo. Em contraste, durante a evolução, o consumo de carboidrato e glicolato por carnívoros e insetívoros foi baixo, tornando desnecessário um sistema de detoxificação de glioxilato no peroxissomo, resultando em baixo teor de AGT1 na organela (DANPURE et al., 1990; DANPURE, 1994).

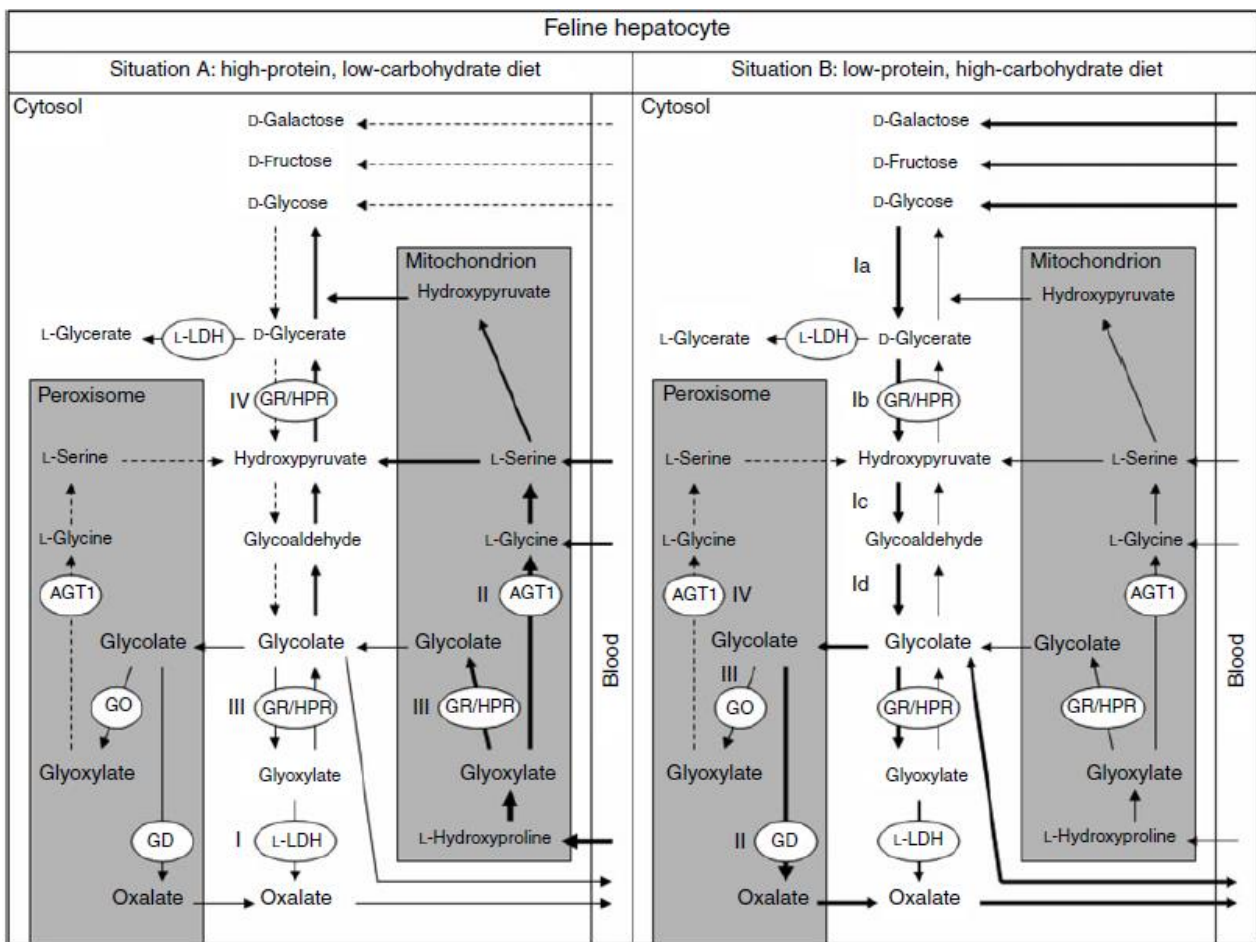


Figura 1. Possíveis vias metabólicas para o metabolismo do oxalato através do glioxilato no hepatócito de felinos (DIJCKER, 2011).

3. OBJETIVOS GERAIS

Esta dissertação estudou o efeito consumo de alimentos extrusados completos e balanceados, com diferentes proporções de amido e proteína sobre a formação e excreção de oxalato e a supersaturação da urina de felinos para oxalato de cálcio. Para isto foram avaliados: a) Concentração de oxalato, citrato e creatinina na urina e concentração de oxalato e creatinina no plasma; b) índice de saturação urinária para oxalato de cálcio (com base nos teores urinários de cálcio, fósforo, cloro, enxofre, magnésio, sódio, potássio, citrato, oxalato, ácido úrico, pH); c) pH, densidade e volume de urina de 24h; d) relação creatinina: oxalato sanguíneo e urinário; e) excreção fracionada de oxalato; f) digestibilidade do alimento g) balanço hídrico dos animais.

4. REFERÊNCIAS

ALLEN, T. A.; KRUGER, J. M. Enfermedad felina de las vías urinarias. In: HAND, M. S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L.; ROUDEBUSH, P. **Nutrición clínica en pequeños animales**. 4. ed. Bogotá: Panamericana, 2000. p. 811-845.

BA, S. C.; SAMPSON, D. A.; MORRIS, J. G.; ROGERS, Q. R. Vitamin B-6 requirement of growing kittens. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 119, n. 7, p. 1020–1027, 1989.

BARTGES, J. W.; CALLENS, A. J. Urolithiasis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Maryland Heights, v. 45, n. 4, p. 747-768, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2015.03.001>.

BARTGES, J. W.; KIRK, C. Nutritional management of Lower urinary tract disease. In: FASCETTI, A. J.; DELANEY, S. J. (Ed.). **Applied veterinary clinical nutrition**. Ames: Wiley Blackwell, 2012. cap. 16, p. 269.

BEHNAM, J. T.; WILLIAMS, E. L.; BRINK, S.; RUMSBY, G.; DANPURE, C. J. Reconstruction of human hepatocyte glyoxylate metabolic pathways in stably transformed Chinese-hamster ovary cells. **Biochemical Journal**, London, v. 394, pt. 2, p. 409–416, 2006.

CAMARGO, C. P. **Aspectos clínicos e epidemiológicos de urolitíases em cães e gatos assistidos pelo serviço de nefrologia e urologia da UNESP de Jaboticabal**. 2004. 55 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2004.

CARCIOFI, A. C.; BAZZOLI, R. S.; ZANNI, A. Influence of water content and the digestibility of pet foods on the water balance of cats. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 429-434, 2005.

CASTENMILLER, J. J.; MENSINK, R. P.; VAN DER HEIJDEN, L.; KOUWENHOVEN, T.; HAUTVAST, J. G.; DE LEEUW, P. W.; SCHAAFSMA, G. The effect of dietary sodium on urinar calcium and potassium excretion in normotensive men with different calcium intakes. **The American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 41, n. 1, p. 52–60, 1985.

CHANDLER, M. L. Pet food safety: sodium in pet foods. **Topics in Companion Animal Medicine**, Maryland Heights, v. 23, n. 23, p. 148–153, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1053/j.tcam.2008.04.008>>.

CHING, S. V.; FETTMAN, M. J.; HAMAR, D. W.; NAGODE, L. A.; SMITH, K. A. The effect of chronic dietary acidification using ammonium chloride on acid-base balance and mineral metabolism in the adult cat. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 119, p. 902–915, 1989.

CONFER, A. W.; PANCIERA, R. J. Sistema urinário. In: McGAVIN, M. D.; CARLTON, W. W. **Patologia veterinária especial de Thomson**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 1998. cap. 5, p. 228–265.

DANPURE, C. J.; JENNINGS, P. R.; MISTRY, J.; CHALMERS, R. A.; MCKERRELL, R. E.; BLAKEMORE, W. F.; HEATH, M. F. Enzymological characterization of a feline analogue of primary hyperoxaluria type 2: a model for the human disease. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, Dordrecht, v. 12, p. 403–414, 1989.

DANPURE, C. J.; GUTTRIDGE, K. M.; FRYER, P.; JENNINGS, P. R.; ALLSOP, J.; PURDUE, P. E. Subcellular distribution of hepatic alanine: glyoxylate amino transferase in various mammalian species. **Journal of Cell Science**, London, v. 97, p. 669–678, 1990.

DANPURE, C. J.; FRYER, P.; JENNINGS, P. R.; ALLOSOP, J.; GRIFFITHS, S.; CUNNINGHAM, A. Evolution of alanine:glyoxylate aminotransferase 1 peroxisomal and mitochondrial targeting. A survey of its subcellular distribution in the livers of various representatives of the classes Mammalia, Aves and Amphibia. **European Journal of Cell Biology**, Stuttgart, v. 64, n. 2, p. 295–313, 1994.

DE OLIVEIRA, L. D.; CARCIOFI, A. C.; OLIVEIRA, M. C. C.; VASCONCELLOS, R. S.; BAZOLLI, R. S.; PEREIRA, G. T.; PRADA, F. Effects of six carbohydrate sources on diet digestibility and postprandial glucose and insulin responses in cats. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 2237–2246, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2527/jas.2007-0354>>.

DIJCKER, J. C.; PLANTING, A. E. A.; HENDRIKS, W. H. Changes in dietary macronutrient profile do not appear to affect endogenous urinary oxalate excretion in healthy adult cats. **The Veterinary Journal**, London, v. 194, p. 235–239, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.03.029>>.

DIJCKER, J. C.; PLANTINGA, E. A.; VAN BAAL, J.; HENDRIKS, W. H. Influence of nutrition on feline calcium oxalate urolithiasis with emphasis on endogenous oxalate synthesis. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 24, n. 1, p. 96–110, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/S0954422410000351>>.

EISNER, B. H.; SHETH, S.; DRETHER, S. P.; HERRICK, B.; PAIS JR., V. M. High dietary magnesium intake decreases hyperoxaluria in patients with nephrolithiasis. **Urology**, New York, v. 80, n. 4, p. 780–783, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.urology.2012.06.033>>.

FORRESTER, S. D.; ROUDEBUSH, P. Evidence-based management of feline lower urinary tract disease. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**, West Sussex, v. 37, n. 3, p. 533–558, 2007.

FRASSETTO, L.; KOHLSTADT, I. Treatment and prevention of kidney stones: an update. **American Family Physician**, Kansas City, v. 84, n. 11, p. 1234–1242, 2011.

GASKELL, C. J. Feline urological syndrome: a United Kingdom perspective. In: FELINE MEDICINE: SEMINAR EASTERN STATES VETERINARY CONFERENCE, Orlando. **Proceedings...** New Jersey: Veterinary Learning Systems, 1985. p. 27-32.

GREEN, A. S.; RAMSEY, J. J.; VILLAVERDE, C.; ASAMI, D. K.; WEI, A.; FASCETTI, A. J. Cats are able to adapt protein oxidation to protein intake provided their requirement for dietary protein is met. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 138, n. 6, p. 1053–1060, 2008.

HATCH, M.; FREEL, R. W. Intestinal transport of an obdurate anion: oxalate. **Urological Research**, Berlin, v. 33, n. 1, p. 1-13, 2005.

HAWTHOME, A. J.; MARKWELL, P. J. Dietary sodium promotes increased water intake and urine volume in cats. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, suppl. 8, p. s2128-s2129, 2004.

HOLMES, R. P.; GOODMAN, H. O.; ASSIMOS, D. G. Contribution of dietary oxalate to urinary oxalate excretion. **Kidney International**, Cambridge, v. 59, n. 1, p. 270–276, 2001.

JEREMIAS, J. T. **Balanço de macromelementos da dieta e supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio, equilíbrio ácido-básico e metabolismo ósseo de gatos adultos.** 2013. 89 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

KIRK, C. A.; LING, G. V.; OSBORNE C. A. Clinical guidelines for managing calcium oxalate uroliths in cats: medical therapy, hydration, and dietary therapy. In: **MANAGING urolithiasis in cats: recent updates and practice guidelines.** Topeka (KS): Hill's Pet Nutrition, 2003. p. 9-10.

KOK, D. J.; IESTRA, J. A.; DOORENBOS, C. J.; PAPAPOULOS, S. E. The effects of dietary excesses in animal protein and sodium on the composition and the crystallization kinetics of calcium oxalate monohydrate in urines of healthy men. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Springfield, v. 71, p. 861–867, 1990. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1210/jcem-71-4-861>.

LEE, C. T.; LIEN, Y. H.; LAI, L. W.; NG, H. Y.; CHIOU, T. T.; CHEN, H. C. Variations of dietary salt and fluid modulate calcium and magnesium transport in the renal distal tubule. **Nephron Physiology**, Basel, v. 122, n. 3-4, p. 19–27, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1159/000353199>.

LEKCHAROENSUK C.; OSBORNE C. A.; LULICH J. P.; PUSOONTHORNTHUM R.; KIRK C. A.; ULRICH L. K.; KOEHLER L. A.; CARPENTER K. A.; SWANSON L. L. Association between dietary factors and calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate urolithiasis in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 219, n. 9, p. 1228–1237, 2001.

LIEBMAN, M.; COSTA, G. Effects of calcium and magnesium on urinary oxalate excretion after oxalate loads. **The Journal of Urology**, Philadelphia, v. 163, n. 5, p. 1565-1569, 2000.

MARKWELL, P. J.; BUFFINGTON, C. T.; SMITH, B. H. E. The Effect of diet on lower urinary tract diseases in cats. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 128, suppl. 12, p. s2753-s2757, 1998.

OGAWA, Y.; MIYAZATO, T.; HATANO, T. Oxalate and urinary stones. **World Journal of Surgery**, New York, v. 24, p. 1154–1159, 2000.

OSBORNE C. A.; LULICH J. P.; KRUGER J. M.; ULRICH L. K.; KOEHLER L. A. Analysis of 451,891 canine uroliths, feline uroliths, and feline urethral plugs from 1981 to 2007:

perspectives from the Minnesota Urolith Center. **Veterinary Clinics North America Small Animal Practice**, Amsterdam, v. 39, p. 183–197, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2008.09.011>.

OSBORNE, C. A.; BARTGES, J. W.; LULICH, J. P. Prevalence of cystine and urate uroliths in bulldogs and urate uroliths in dalmatians. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 204, n. 12, p. 1914-1918, 2000.

OSBORNE, C. A.; KRUGER, J. M.; LULICH, J. P.; Feline lower urinary tract diseases. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Ed.). **Textbook of veterinary internal medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 2004. v. 2, p. 1710-1746.

PAßLACK, N.; BRENTEN, T.; NEUMANN, K.; ZENTEK, J. Effects of potassium chloride and potassium bicarbonate in the diet on urinary pH and mineral of adult cats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 111, n. 5, p. 785-797, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114513003279>.

PAK, C. Y. Etiology and treatment of urolithiasis. **American Journal of Kidney Disease**, Philadelphia, v. 18, n. 6, p. 624–637, 1991.

PASSLACK, N.; ZENTEK, J. Urinary calcium and oxalate excretion in healthy adult cats are not affected by increasing dietary calcium levels. **PLoS One**, v. 8, n. e70530, p. 1-8, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0070530>.

PLANTINGA, E. A.; BOSCH, B.; HENDRIKS, W. H. Estimation of the dietary nutrient profile of free-roaming feral cats: possible implications for nutrition of domestic cats. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 106, p. 35–48, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114511002285>.

RECHE Jr, A.; HAGIWARA, M. K.; MAMIZUKA, E. Estudo clínico da doença do trato urinário inferior em gatos domésticos de São Paulo. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 69-74, 1998.

RUSSELL, K.; LOBLEY, G. E.; MILLWARD, D. J. Whole body protein turnover of a carnivore *Felis silvestris*. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 89, n. 1, p. 29-37, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1079/BJN2002735>.

RUSSELL, K.; MURGATROYD, P. R.; BATT, R. M. Net protein oxidation is adapted to dietary protein intake in domestic cats (*Felissilvestriscatus*). **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 132, n. 3, p. 456–460, 2002.

SAKHAE, K.; HARVEY, J. A.; PADALINO, P. K.; WHITSON, P.; PAK, C. Y. The potential role of salt abuse on the risk for kidney stone formation. **The Journal of Urology**, Philadelphia, v. 150, n. 2, pt. 1, p. 310–312, 1993.

TAKAYAMA, T.; FUJITA, K.; SUZUKI, K.; SAKAGUCHI, M.; FUJIE, M.; NAGAI, E.; WATANABE, S.; ICHIYAMA, A.; OGAWA, Y. Control of oxalate formation from L-hydroxyproline in liver mitochondria. **Journal of the American Society of Nephrology**, Baltimore, v. 14, n. 4, p. 939-946, 2003.

TESHIMA, E.; BRUNETTO, M. A.; VASCONCELLOS, R. S.; GONÇALVES, K. N. V.; OLIVEIRA, L. D. DE; VALÉRIO, A. G.; CARCIOFI, A. C. Nutrient digestibility, but not mineral absorption, is age-dependent in cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 94, n. 6, p. 251-258, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0396.2009.00964.x>>.

VON UNRUH, G. E.; VOSS, S.; SAUERBRUCH, T.; HESS, A. Reference range for gastrointestinal oxalate absorption measured with a standardized [$^{13}\text{C}_2$]oxalate absorption test. **The Journal of Urology**, Philadelphia, v. 169, n. 2, p. 687–690, 2003.

WILLIAMS, H. E.; SMITH Jr., L. H. L-glyceric aciduria. a new genetic variant of primary hyperoxaluria. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 278, p. 233–238, 1968.

YAMKA, R. M.; FRIESEN, K. G.; SCHAKENRAAD, H. The prediction of urine pH using dietary cations and anions in cats fed dry and wet foods. **Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, Newtown, v. 44, n. 1, p. 58-66, 2006.

YU, S.; GROSS, K. Moderate dietary vitamin C supplement does not affect urinary oxalate concentrations in cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 89, n. 11-12, p. 428–429, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0396.2005.00611_4.x>.

ZENTEK, J.; SCHULZ, A. Urinary composition of cats affected by the source of dietary protein. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, suppl. 8, p. s2162-s2165, 2004.

ZORAN, D. L. The carnivore connection to nutrition in cats. **Journal American Veterinary Medicine Association**, College Station, v. 221, n. 11, p. 1559-1567, 2002.

CAPÍTULO 2

CONSUMO DE AMIDO E PROTEÍNA, EXCREÇÃO DE OXALATO E* CARACTERÍSTICAS DA URINA DE GATOS ALIMENTADOS COM RAÇÃO SECA

Raquel Silveira Pedreira¹, Fernanda Sanchez Mendonça¹, Bruna Agy Loureiro¹, Mariana Monti¹,
Thaila Cristina Putarov¹, Aulus Cavalieri Carciofi¹

¹ Departamento de Clínica Médica e Cirurgia Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Câmpus de Jaboticabal. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Jaboticabal- SP, Brasil. 14.884-900

Correspondência para autor: Prof. Aulus Cavalieri Carciofi e-mail: aulus.carciofi@gmail.com

Amido, proteína e excreção de oxalato em gatos

Palavras-chaves: supersaturação para oxalato de cálcio (SSR Ox Ca); pH; urina.

* Escrito de acordo com as normas da revista British Journal of Nutrition

CAPÍTULO 2 - CONSUMO DE AMIDO E PROTEÍNA, EXCREÇÃO DE OXALATO E CARACTERÍSTICAS DA URINA DE GATOS ALIMENTADOS COM RAÇÃO SECA

1. **Resumo-** Foi avaliado o efeito do consumo de dietas com diferentes relações amido: proteína sobre a excreção de oxalato e o índice de supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio (SSR OxCa) em gatos. Quatro alimentos extrusados com diferentes proporções entre proteína (PB) e amido (CHO) foram utilizados: Dieta A47 com 47% de CHO e 25% de PB; dieta A32 com 31,9% de CHO e 38% de PB; dieta A19 com 19,2% de CHO e 50% de PB e dieta A8 com 8,3 % de CHO e 60% de PB. Foram empregados 32 gatos, com oito repetições por ração. Após 10 dias de adaptação, foi realizada coleta total fezes e urina durante 7 dias. Os resultados foram avaliados por análise de variância e contrastes polinomiais ($P<0.05$). As ingestões de amido, proteína e sódio variaram entre rações ($P<0,01$). A redução da ingestão de amido (com aumento da proteína e do sódio) levou ao aumento do consumo de água, da produção de urina e do pH urinário ($P<0,01$), reduzindo a concentração urinária de oxalato, K, Cl, P e Mg e a SSR OxCa ($P<0,05$). A excreção renal de oxalato (mg/kg/d), por outro lado, foi semelhante entre rações. Concluiu-se que apesar do consumo de amido não alterar a produção endógena de oxalato, reduzida ingestão de proteína e de sódio resulta em menores diurese e ingestão hídrica, aumentando a concentração urinária de oxalato e a SSR OxCa.

Palavras-chaves: citrato; pH; supersaturação; urólito.

2. Introdução

Os gatos domésticos descendem de felinos carnívoros verdadeiros, apresentam elevada necessidade de aminoácidos e no ambiente natural consomem alimentos compostos por proteínas e gorduras, com muito baixo amido ^(1 2). No ambiente doméstico, os gatos recebem em suas dietas proteínas, gorduras e, também, quantidades consideráveis de amido quando alimentados com rações secas extrusadas. O amido colabora na extrusão das rações, favorecendo a formação de viscosidade, platicização e formatação dos kibbles, influenciando em sua textura e crocância ⁽³⁾ e consequentemente na palatabilidade do produto final.

O consumo de amido, no entanto, tem sido incriminado por causar aumento na produção endógena de oxalato, componente do urólito de oxalato de cálcio ⁽⁴⁾. A incidência deste urólito aumentou nos últimos 30 anos, podendo fatores dietéticos ser uma das possíveis causas deste aumento ⁽⁵⁾. Fatores relacionado a ao alimento que influenciam a excreção renal de oxalato e de cálcio, que afetam o pH da urina, o volume de água consumido e o consequentemente volume de urina excretado são considerados importantes por interferirem na saturação da urina dos gatos ⁽⁶⁾.

O oxalato urinário pode ter origem endógena ou exógena. Em seres humanos o oxalato exógeno é considerado relevante, pois na dieta humana podem existir alimentos ricos no composto, tais como folhas e outros vegetais ⁽⁷⁾. Para gatos acredita-se que este não seja um fator de risco relevante, pois suas dietas contem baixos níveis de oxalato (0.06-0.14 g Ox/ Kg MS) ^(8,9).

A produção endógena de oxalato ocorre essencialmente no fígado, sendo seu principal precursor o glioxilato, metabolito que advém do glicolato pela ação da enzima glioxilato redutase (GR). Nos animais as fontes de glicolato não são bem estabelecidas, acredita-se que venha da dieta ou de precursores presentes na dieta, como os carboidratos. Qualquer glioxilato que não for reduzido a glicolato ou transaminado para glicina vai ser oxidado a oxalato. No citoplasma dos hepatócitos a oxidação do glioxilato a oxalato é catalisada pela enzima L- lactato desidrogenase, já no peroxissomos é feita pela enzima glicolato desidrogenase (GD) ⁽¹⁰⁾. Para o funcionamento ideal do organismo o glioxilato deve ser metabolizado, com conversão para glicina pela enzima alanina: glioxalato aminotranferase (AGT1), reação que pode ocorrer tanto nos peroxissomos quanto nas mitocôndrias dos hepatócitos, o glioxilato também pode ser convertido em glicolato pela ação da enzima glioxilato redutase/ hidroxipiruvato redutase (GH/HPR), que também catalisa a redução de hidroxipiruvato em D-glicerato e a oxidação de D-glicerato para hidroxipiruvato ⁽¹¹⁾. Em gatos a enzima GH/HPR se encontra praticamente somente no citoplasma dos hepatócitos ⁽¹²⁾, já em seres humanos é encontrada predominantemente no citoplasma (>90%), mas pode estar presente também nas mitocôndrias ⁽⁸⁾.

Em seres humanos e roedores se acredita que o açúcar (glicose, galactose e frutose) seja o principal precursor endógeno de oxalato⁽¹³⁻¹⁵⁾, embora este também possa ser formado pela ingestão de aminoácidos, como a hidroxiprolina, glicina e serina⁽¹⁶⁻¹⁹⁾. Em estudo com gatos⁽²⁰⁾ foram comparadas dietas com colágeno, carne de cavalo e proteína isolada de soja, tendo-se verificado aumento na excreção de oxalato pelos animais que consumiram a dieta com colágeno com fonte de proteína, explicado pelo elevado conteúdo de hidroxiprolina do composto. É possível que nos gatos o glioxilato em excesso, decorrente de elevada ingestão de carboidratos, seu precursor, possa não ser corretamente metabolizado, devido à deficiência da enzima AGT1 nos peroxissomos destes animais. Durante a seleção natural dos mamíferos, a distribuição intracelular da enzima AGT1 sofreu influência da dieta, em algumas espécies, como no ser humano e coelhos está se encontrando somente no peroxissomo, em ratos está presente tanto no peroxissomo como na mitocôndria e nos felinos é encontrada somente na mitocôndria⁽²¹⁾. De um ponto de vista funcional, acredita-se que a dupla localização da enzima AGT1 no hepatócito se deve ao fato de participar da gliconeogênese na mitocôndria e da detoxificação do glioxilato no peroxissomo. A detoxificação de glioxilato no peroxissomo de herbívoros é essencial, já que suas dietas são ricas em glicolato e açúcares. Para que o glioxilato formado pela metabolização do glicolato seja metabolizado corretamente e não volte a se converter em glicolato é necessária elevada atividade da enzima AGT1 no peroxissomo. Em contraste, durante a evolução de carnívoros e insetívoros o consumo de carboidratos e glicolato foram baixos, tornando menos importante sistema de detoxificação de glioxilato no peroxissomo, resultando em baixo teor de AGT1 nesta organela^(21,22). Consequentemente, quando em excesso, é possível que ocorra conversão do glicolato, a oxalato pela enzima glicolato desidrogenase (GD)⁽⁸⁾.

Desta forma, foi avaliado o efeito do consumo de alimentos extrusados completos e balanceados, com diferentes proporções de amido e proteína, sobre a excreção renal de oxalato, balanço hídrico dos animais, composição química da urina e a supersaturação da urina de felinos para oxalato de cálcio.

3. Matérias e método

3.1 Animais, manejo e delineamento experimental.

Todos os procedimentos do experimento foram aprovados pela Comissão de Ética e Bem-estar Animal (CEBEA) (protocolo número: 005705/13), da Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP- Jaboticabal, SP. Foram utilizados 32 gatos adultos sem raça definida, com idade média de $10,1 \pm 2,1$ anos, peso corporal médio de $4,96 \pm 0,97$ kg, escore de condição corporal⁽²³⁾ médio $5,8 \pm 0,7$, castrados, sendo 14 machos e 18 fêmeas. Antes do início do experimento, estes foram submetidos a exame físico, hemograma,

análises séricas de creatinina, ureia e fosfatase alcalina e urinálise, todos com resultados dentro dos valores de referência para a espécie. Todos os gatos foram provenientes do gatil experimental do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”.

O experimento foi realizado em quatro blocos, cada um com oito gatos, quatro tratamentos (dietas experimentais) e dois gatos por tratamento em cada bloco, totalizando oito repetições por dieta. O fator de bloco foi o período experimental, com duração de 18 dias. Os gatos foram adaptados às dietas experimentais por dez dias, seguidos de sete dias de coleta total de urina e fezes e um dia para coleta de sangue.

Durante o período de adaptação os gatos foram mantidos por 16h (das 16h00min às 08h00min) em gaiolas metabólicas individuais em aço inox, com aparato para a colheita separada de fezes e urina, com dimensões de 80 X 80 X 90 cm. Durante o dia, das 08h00min às 16h00min estes foram soltos em gatil coletivo para exercício e socialização. Durante a coleta de fezes e urina, os gatos ficaram restritos permanentemente às gaiolas metabólicas. As gaiolas metabólicas foram lavadas diariamente, sendo enxaguadas com água destilada e secas.

O alimento foi disponibilizado apenas quando os animais estiverem nas gaiolas individuais. A quantidade fornecida foi calculada de acordo com a necessidade energética individual de manutenção de cada animal e a energia metabolizável da ração, estimada com base em sua composição química ⁽²⁴⁾ A quantidade fornecida e as sobras foram pesadas diariamente e então calculado o consumo. Os animais foram pesados semanalmente, com o propósito de verificar possíveis ganhos ou perda de peso, sendo a quantidade de alimento ajustada de modo a que estes mantivessem peso corporal constante ao longo do estudo. Água destilada foi oferecida *ad libitum* aos gatos. O ambiente em que os animais permaneceram apresenta iluminação natural e artificial, mantendo-se ciclo claro: escuro de 12 em 12h.

3.2 Dietas experimentais

Foram formuladas quatro rações, cujas composições químicas atenderam as recomendações para gatos adultos do NRC ⁽²⁴⁾. Cada dieta teve diferentes proporções de amido e proteína (Tabela 1). A primeira foi formulada para apresentar teor proteico próximo ao mínimo recomendado, com elevada porcentagem de amido. As demais rações foram formuladas com teores crescentes de proteína, até que a última apresentou 60% do nutriente, com apenas 8% de amido (Tabela 2). Para isso proteína isolada de soja foi adicionada as rações, em substituição ao milho. Os ingredientes foram pesados, misturados e então moídos em moinho de martelos (Moinhos Tigre, São Paulo,

Brasil) com peneira com furos de 0,6 mm. Na sequência as rações foram extrusadas em extrusora de rosca simples (MEX 250, Manzoni, Campinas, Brasil), com capacidade de processamento de 250 kg/h, na Fábrica de Rações da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal. Durante o processo de extrusão a amperagem do motor da extrusora foi constantemente monitorada e registrada a cada 10 minutos. A densidade dos extrusados (g/L) foi determinada apenas quando o sistema atingiu a estabilidade, sendo a partir deste momento registrada a cada 20 minutos. A temperatura do pré-condicionador da extrusora foi mantida por meio da injeção de vapor direto acima de 90°C. Água e vapor foram ajustados de acordo com a formulação da dieta. A velocidade da rosca extrusora e o fluxo de matérias-primas foram mantidos constantes. Após a extrusão os extrusados foram secos em secador de esteira com ar forçado, aquecido a 105°C, e posteriormente recobertos com óleos e palatilizantes.

3.3 Excreção de oxalato e supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio

Durante cinco dias consecutivos (120h), urina foi recolhida em recipientes plásticos, contendo 100 mg de Timol como conservante. A coleta foi feita no mínimo três vezes ao dia e a urina armazenada em garrafas plásticas identificadas, mantidas refrigeradas (4°C). A urina produzida no período de 24 horas foi homogeneizada sendo aferidos seu volume, densidade em refratômetro e pH em pHmetro (Digimed DM20, Digicrom Analítica, São Paulo, Brasil). A urina de 24h de cada gato foi, na sequência, separada em duas alíquotas, a uma delas foi adicionado 1mL de HCl 6N para cada 50mL de urina (urina acidificada), sendo imediatamente congelada (-20°C) e 0,5ml era congelado a -80°C para análise de oxalato. A outra amostra foi congelada somente com o conservante Timol (urina não acidificada). Antes das análises as amostras de urina foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se uma amostra por gato. Na amostra de urina acidificada foram analisadas as concentrações de cálcio, fósforo, magnésio e oxalato e na amostra não acidificada analisados: sódio, potássio, cloreto, enxofre, citrato, ácido úrico e ureia.

A quantificação do cálcio na urina foi feita por reação cromogênica com cresoltaleína; o fósforo foi determinado pelo método fosfomolibdato, a concentração de magnésio pelo método azul de metiltimol; a creatinina pela reação de Jaffé modificada – picrato alcalino, ácido úrico pelo método da uricase e a ureia por método enzimático-colorimétrico. Todas estas análises foram feitas com kits comerciais (Labtest Diagnostica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil), segundo as recomendações do fabricante e as leituras realizadas em espectrofotômetro (Labquest, Labtest Diagnóstica S.A, Lagoa Santa, MG, Brasil). As concentrações urinárias de sódio, potássio e cloreto foram feitas pelo método de eletrodo íon-seletivo (Roche Diagnostics, 9180, Indianápolis, USA). O

enxofre foi mensurado após preparação dos extratos por digestão úmida das amostras em solução nitroperclórica, obtido pelo método turbidimétrico ⁽²⁴⁾ seguido de leitura em espectrofotômetro (modelo B442, Micronal, São Paulo, SP, Brasil).

O citrato foi dosado na urina por método enzimático, utilizando citrato lyase (Citrato, Biovision, South Milpitas Boulevard, Milpitas, CA, EUA). O oxalato foi analisado por determinação enzimática e colorimétrica do ácido oxálico em urina acidificada (OXALATE - Enzymatic Assay kit, Libios, Bully, França). Com base nos resultados de análise, o índice de saturação urinária foi calculado utilizando-se do software EQUIL-93 (Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Florida, USA; Brown et al., 1993).

3.4 Excreção fracionada de oxalato

Ao final da coleta de urina, os gatos foram contidos manualmente e sangue colhido por venopunção jugular sendo usado heparina como anticoagulante. Após a colheita das amostras, estas foram centrifugadas a 2.200G em centrífuga a 4°C por 10 minutos, sendo separado o plasma. Uma parte das amostras de plasma foi acidificada com 10µL de ácido clorídrico (6N) para cada 1ml de plasma, para que atingissem um pH entre 2,3 a 2,7 e então tanto a amostra acidificada quanto a não acidificada foram congeladas a -80°C. A dosagem de oxalato no plasma acidificado foi feita por determinação enzimática e colorimétrica do ácido oxálico (OXALATE - Enzymatic Assay kit, Libios, Bully- França). Para creatinina foi usada a amostra não acidificada e a mesma foi quantificada por kit comercial (Creatinina K, Ref. 96, Labquest, Labtest Diagnóstica S.A, Lagoa Santa, MG, Brasil) em espectrofotômetro (Labquest, Labtest Diagnóstica S.A, Lagoa Santa, MG, Brasil). Com base nestes dados foi determinada a excreção fracionada de oxalato, pela seguinte equação ⁽²⁵⁾:

$$\text{Excreção fracionada (\%)} = \frac{U_{ox} \times S_{cr}}{S_{ox} \times U_{cr}} \times 100$$

Onde: U_{ox} é a concentração urinária de oxalato, S_{cr} é a concentração sérica de creatinina, S_{ox} é a concentração sérica de oxalato e U_{cr} a concentração urinária de creatinina.

3.5 Digestibilidade aparente dos nutrientes e balanço hídrico dos animais

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e a energia metabolizável das

rações foram determinados segundo o método de coleta total de fezes, com coleta de urina ⁽²⁶⁾. Durante sete dias consecutivos (168h) as fezes dos gatos foram recolhidas quantitativamente, ao menos duas vezes ao dia, pesadas e congeladas (-20° C). Urina foi coletada duas vezes ao dia, durante 48h, em recipientes plásticos contendo 1mL de H₂SO₄ (1N). Assim que recolhida, determinava-se o volume de urina e esta era congelada para análises posteriores (-20 °C). Também foi avaliado o escore fecal ⁽²⁷⁾, atribuindo notas: 0= fezes líquidas, 1= fezes pastosas sem forma; 2= fezes macias, malformadas e que assumem o formato do recipiente de coleta; 3= fezes formadas, macias e úmidas, que marcam o piso; 4= fezes bem formadas, consistentes e que não aderem ao piso; 5= fezes bem formadas, duras e secas.

Ao final do período de colheita, as fezes e a urina foram descongeladas e homogeneizadas, compondo uma amostra por animal. As amostras de fezes foram secas em estufa de ventilação forçada (Fanem, São Paulo, Brasil) a 55°C por 72h. As amostras de fezes e rações foram moídas em moinho tipo faca (MOD 340, ART LAB, São Paulo), com peneira de 0,8mm e analisadas de acordo com os procedimentos descritos pela AOAC ⁽²⁸⁾ para a matéria seca, matéria mineral, proteína bruta e extrato etéreo em hidrólise ácida. O método de ⁽²⁹⁾ foi utilizado para a determinação da fibra dietética total e o método de ⁽³⁰⁾ utilizado para a determinação do amido. O conteúdo de energia bruta das dietas, fezes e urina foi determinado em bomba calorimétrica adiabática (1281, PARR Instruments, EUA) e o teor de nitrogênio da urina segundo a AOAC ⁽²⁸⁾. Todas as análises foram conduzidas em duplicata e repetidas quando os resultados variaram mais do que 5%.

Com base nos resultados laboratoriais obtidos, foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes e a energia metabolizável das rações, bem como o balanço de nitrogênio dos gatos ⁽³¹⁾.

Nas rações foram adicionalmente determinados os teores de macroelementos e aminoácidos. Extratos das rações foram preparados por digestão úmida das amostras em solução nitroperclórica. O extrato para análise de Cl foi obtido pela digestão das amostras por via seca ⁽²⁸⁾. O Ca, Mg, Cl, Na e K foram analisados em espectrofotômetro de absorção atômica (modelo GBC-932 AA, Scientific Equipment PTY LTD, Melbourne-Austrália). A leitura do fósforo foi realizada pelo método vanadato-molibdato e o enxofre, na forma de sulfato, foram analisados pelo método turbidimétrico seguido de leitura em espectrofotômetro (modelo B442, Micronal, Brasil) ⁽²⁸⁾. Aminoácidos totais foram avaliados no laboratório da Ajinomoto do Brasil por cromatografia líquida de alto desempenho em cromatógrafo (Shimadzu LC-10A, Shimadzu Corporation, Quioto, Japão), com detecção por fluorescência, após coloração por ninidrina, de acordo com o Compêndio de Nutrição Animal (2009).

As quantidades oferecidas e as sobras de água foram pesadas permitindo se calcular o consumo diário. Para quantificar a perda de água por evaporação no bebedouro, foi feito um branco,

em um bebedouro idêntico ao fornecido aos gatos foi colocado o mesmo volume de líquidos e pelo mesmo tempo de exposição ao ambiente, a diferença entre seu peso inicial e final foi considerada a perda de água por evaporação e descontada no cálculo do consumo.

O cálculo do balanço hídrico incluiu: ingestão de água via alimento; ingestão de água no bebedouro; cálculo da água metabólica produzida; consumo total de água (obtido pela soma dos três primeiros itens); excreção de água pelas fezes; excreção de urina; perdas insensíveis; excreção total de água. A água metabólica produzida pelos animais foi calculada multiplicando-se a quantidade de proteína digestível consumida por 0,396, os hidratos de carbono digestíveis consumidos por 0,566 e a gordura digestível consumida por 1,071. As perdas insensíveis correspondem à soma das perdas cutânea, por respiração e salivar ⁽³²⁾, tendo sido calculada indiretamente pela diferença entre o consumo total de água menos a soma das excreções de água pelas fezes e urina.

4. Análise estatística

Após a obtenção das médias, foram verificadas as pressuposições de homogeneidade de variâncias e normalidade dos erros. Todos os resultados foram submetidos à análise de variância, considerando-se os efeitos de bloco e dieta. Quando diferenças foram detectadas no teste F, médias foram comparadas por contrastes polinomiais em função da relação amido: proteína do alimento. Para todos os testes foi considerada significância de 5%. As análises foram realizadas utilizando-se o programa estatístico R Versão 3.1.0 (R Core Team 2014).

5. Resultados

Os alimentos foram adequadamente consumidos pelos gatos, durante os 18 dias de experimento não houve episódios de rejeição alimentar ou vômitos. Nenhum animal apresentou reação adversa ao consumir as dietas com diferentes relações de amido: proteína, todos os animais permaneceram saudáveis durante todo o período do experimento. O peso corporal dos gatos não variou ao longo do estudo, para nenhuma das dietas em avaliação ($P>0.05$), como pode ser observado na Tabela 3. Na média dos 18 dias de observação, foi verificado consumo de matéria seca e energia metabolizável semelhantes entre gatos alimentados com as diferentes rações ($P>0.05$).

Foram verificadas diferenças na ingestão de proteína bruta e amido pelos gatos ($P<0.05$), de acordo com a proposta das rações experimentais (Tabela 4). Após a confecção e análise das rações, foi verificado que o teor de Na presente na proteína isolada de soja foi elevado, resultando em aumento deste composto nas dietas com mais proteína e menos amido. Isto não era esperado e levou

a aumento linear na ingestão de Na pelos gatos ($P<0.01$) que se elevou de 0.512 ± 0.03 para 1.206 ± 0.09 mg/kg/dia, respectivamente nas rações A47 e A8. Com a redução da relação amido: proteína houve aumento linear na digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e na EM da ração ($P<0.01$). Houve, ainda, aumento quadrático nos coeficientes de digestibilidade da proteína bruta ($P=0.004$). O balanço de nitrogênio dos gatos foi positivo para todas as rações, não diferindo entre estas. Este foi numericamente maior nos animais que receberam a ração A19, possivelmente devido a ganhos de massa magra neste grupo.

O valor de pH das urinas dos gatos variou entre as dietas (Tabela 5), com aumento linear da ração A47 para A8 ($P<0.001$). Já a densidade das urinas permaneceu semelhante entre tratamentos. Não houve, também, diferença significativa na produção e escore de fezes entre as diferentes rações. Quanto ao balanço hídrico, o volume de urina dos gatos apresentou aumento linear quando comparadas as rações A47 e A8 ($P<0.001$). Esse foi acompanhado por aumento quadrático da ingestão de água no bebedouro e do total de água ingerida ($P<0.05$). A relação entre os consumos de proteína bruta e de Na com a ingestão de água de bebida e produção de urina foi explorada por meio de regressões lineares simples, como pode ser observado nas Figuras 2 a 5.

Foi verificado aumento na excreção renal (mg/kg/dia) de Na, P, S, ácido úrico e ureia, redução nas excreções de K e Mg ($P<0.05$) quando comparadas as rações A47a A8 (Tabela 6). Já as excreções renais de oxalato e citrato não foram influenciadas pelo consumo das diferentes rações. A relação entre o consumo de amido e a excreção renal de oxalato foi avaliada por meio de correlação linear, apresentada na Figura 5. O consumo de amido não resultou em maior eliminação de oxalato pela urina, que se manteve constante independente do consumo deste carboidrato.

Em relação às concentrações urinárias dos macroelementos e metabólitos estudados (mg/dl), foi verificado redução da concentração de K, Cl, Mg e P ($P<0.05$), com aumento da ureia urinária ($P=0.005$) quando comparadas as rações A47 a A8. Não houve diferença significativa na concentração de citrato, Na, Ca, S e ácido úrico (Tabela 7). A concentração de oxalato apresentou redução quadrática na urina dos gatos ($P=0.021$), mas a relação creatinina: oxalato não se alterou. Houve, ainda, redução linear na SSR OxCa da urina entre as rações A 47 e A8 ($P<0.001$).

Por fim, foi verificada diferença significativa na creatinina plasmática (Tabela 8), que reduziu de modo linear nos gatos alimentados com a ração com mais proteína e menos amido ($P<0.001$). Já a concentração plasmática de oxalato e sua excreção fracionada não se modificaram entre as rações.

6. Discussão

O presente estudo foi conduzido para investigar a hipótese de que o consumo de dietas com elevado teor de amido pudesse favorecer a síntese endógena de oxalato e ser, assim, fator de risco na formação de urólito de oxalato de cálcio em gatos. Para isso quatro dietas com diferentes relações amido: proteínas foram formuladas. A ração com menos proteína apresentou teor de aminoácidos acima do mínimo recomendado, portanto dentro do adequado para gatos adultos ⁽²⁴⁾. Sua adequação no fornecimento de aminoácidos pôde também ser verificada pela ausência de diferenças no balanço de nitrogênio entre rações. A redução da relação amido: proteína resultou em aumento da digestibilidade dos nutrientes. Isto provavelmente ocorreu em função da substituição de milho por proteína isolada de soja, ingrediente purificado, de granulometria muito reduzida e elevada digestibilidade ^(33, 34). Esta diferença não se deveu, no entanto, à composição química da ração em si, uma vez que a digestibilidade do amido foi semelhante entre rações e superior a 99% em todos os casos. Em relação à digestibilidade da proteína, o coeficiente de digestibilidade aparente pode sofrer influência da quantidade de nutrientes consumidos, como o consumo deste nutriente diferiu entre tratamentos, é necessária cautela na interpretação dos resultados de aqui encontrados.

O consumo das diferentes dietas não resultou em alteração da concentração plasmática de oxalato, de sua excreção fracionada ou da excreção renal do composto. Isto fica evidente à Figura 6, quando se verifica que consumos extremos de amido, variando de 0.68 mg/kg/dia a 7.26mg/kg/dia não alterou a excreção renal do metabólito. Poucos estudos existem sobre os fatores que alteram a produção endógena de oxalato em gatos. É conhecido que a remoção do glioxilato e sua conversão em glicina têm como cofator piridoxina, de modo que a deficiência desta vitamina leva ao aumento da excreção de oxalato nestes animais ⁽³⁵⁾. Para seres humanos e roedores, estudos indicam que a maior parte do oxalato endógeno advém do catabolismo dos açúcares e dos aminoácidos hidroxiprolina, glicina, serina, fenilalanina, tirosina e triptofano ⁽¹³⁻¹⁹⁾. Como em gatos a enzima alanina: glioxilato aminotransferase 1 é apenas encontrada nas mitocôndrias ⁽³⁶⁾ consumo elevado de amido, que é digerido e absorvido como glicose, foi incriminado como possível fator de aumento da produção e excreção de oxalato ⁽⁸⁾. Em situação de consumo elevado de carboidratos, foi estabelecida a hipótese de que no citoplasma dos hepatócitos dos felinos as enzimas glioxilato redutase/hidroxipiruvato redutase e L-lactato desidrogenase, bem como a enzima glicolato desidrogenase nos peroxissomos pudessem favorecer a conversão dos açúcares em oxalato. Isto foi reforçado, também, não só pelas diferenças entre herbívoros e carnívoros quanto à localização intracelular da enzima alanina: glioxilato aminotransferase 1, mas também pelo fato da dieta natural dos gatos ter muito pouco amido em sua composição ⁽²⁾. Esta hipótese, no entanto, não foi confirmada no presente estudo uma vez que a ingestão de amido não elevou a eliminação renal de

oxalato. Outros estudos com felinos também encontraram resultados semelhantes. Substituindo milho por farinha de vísceras de frango e proteínas de origem vegetal, alimentos com 34% a 57% de proteína foram fornecidos tendo se verificado, ao contrário, aumento da excreção renal de cálcio e oxalato com o aumento da ingestão proteica. Com isto os autores concluíram que dietas com elevada proteína não são benéficas para a prevenção da formação de urólitos de oxalato ⁽³⁷⁾. Em estudo anterior, dietas com elevado carboidrato, elevada proteína ou elevada gordura foram comparadas, quando os autores também não encontraram alteração na excreção renal de oxalato em função da composição da ração ⁽⁴⁾.

Outras alterações encontradas, como as maiores ou menores excreções renais e concentrações urinárias de Na, P, S, ácido úrico, Mg, K, Cl e creatinina refletem as variações no consumo destes nutrientes pelos animais, à medida que variaram suas concentrações nas dietas. Houve, também, importante diferença no balanço hídrico dos gatos, com aumentos no consumo de água e produção de urina com a redução da relação amido: proteína. A interpretação dos achados de balanço hídrico, no entanto, tem que considerar os consumos de proteína e de Na dos gatos. Em função das possíveis implicações do consumo de hidroxiprolina na excreção renal de oxalato ⁽²⁰⁾, optou-se no presente estudo por empregar ingrediente de origem vegetal, a proteína isolada de soja, para substituir amido por proteína. Esta, no entanto, pode apresentar em sua composição mais de 12g/kg de Na sobre a matéria seca. Infelizmente isto não foi percebido de início e corrigido na formulação das rações o que resultou em aumento da concentração de Na à medida que se elevou a inclusão proteica. Desta forma, houve duplo aumento, nos consumos de proteína e de Na à medida que se reduziu a relação amido: proteína das rações. Elevada ingestão de proteína aumenta o catabolismo proteico e, a produção endógena de ureia, que passa a ser eliminada em maior proporção pelos rins. No filtrado glomerular a ureia induz aumento de tonicidade, retendo água e com isto promovendo maior eliminação de água e urina pelo animal ⁽³⁸⁾ Ureia, Na, K e amônia são os maiores contribuintes para a osmolalidade da urina, determinando também sua densidade desde que glicosúria e proteinúria não estejam presentes ⁽³⁹⁾. O Na é outro nutriente estreitamente ligado à excreção e ingestão de água, de modo que seu maior consumo também explica a maior produção de urina e consumo de água pelos gatos ⁽⁴⁰⁻⁴¹⁾ Estudo recente demonstrou benefícios para gatos do aumento na ingestão de Na, com potencial diminuição da probabilidade da formação de urólito de oxalato de cálcio ⁽⁴¹⁾. Esta é, portanto, limitação do presente estudo, não sendo possível separar os feitos do consumo de Na ou proteína nos achados de balanço hídrico.

É de se notar que a densidade urinária não se alterou. Deste modo o consumo de proteína e Na não resultaram em maior excreção de água livre, mas sim, no aumento da carga de solutos e com isto no volume produzido de urina. O aumento da ingestão de água foi compensatório à maior perda de água pela urina, já que as perdas fecais não se alteraram. Esta maior produção de urina

pode aumentar a frequência de micção e com isto reduzir as possibilidades de retenção e crescimento de cristais, reduzindo as chances da ocorrência de urolitíase⁽⁴²⁾. Mais relevante do que isto, o aumento de volume de urina promoveu diluição com redução linear do oxalato na urina. Como a saturação depende da concentração dos metabólitos, justifica assim a redução quadrática da SSR OxCa. Além da redução do oxalato, verificou-se tendência à redução da concentração de cálcio na urina, também colaborando para a menor SSR OxCa da urina dos gatos alimentados com a ração com menor relação amido: proteína. A SSR OxCa é também influenciada pelo pH da urina, aumentando quando este se reduz a valores menores do que 6,29⁽⁴³⁾. Houve, no presente estudo, aumento linear no pH da urina dos gatos, o que pode ser explicado pelo aumento dos cátions⁽⁴⁴⁾ verificado com o aumento do teor proteico do alimento, notadamente do sódio presente da proteína isolada de soja. Considerando-se, no entanto, que o pH se elevou de 6,57 para 7,31, não é provável que este seja a causa da redução na SSR OxCa, embora este não possa ser excluído como fator contribuinte.

7. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos não deram suporte à hipótese original da pesquisa. Mesmo com elevado consumo de amido, os gatos foram capazes de realizar adequado metabolismo do glioxilato, não resultando em alteração da produção ou eliminação renal de oxalato. Por outro lado, elevado consumo de Na e proteína elevam a diurese e o consumo de água, com diluição do oxalato urinário e redução da supersaturação relativa da urina para oxalato de cálcio. Dietas com elevada proteína e Na mostram-se benéficas, desta forma, na prevenção da urolitíase por oxalato em felinos.

8. Referências

1. Zoran, D.L. (2002) The carnivore connection to nutrition in cats. *J Am Vet Med Assoc* **221**, 1559-1567.
2. Plantinga E.A., Bosch B, Hendriks W.H. (2011) Estimation of the dietary nutrient profile of free-roaming feral cats: possible implications for nutrition of domestic cats. *Br J of Nutri* **106**, 35–48.
3. De Oliveira, L. D. ; Carciofi, A. C. ; Oliveira, M. C. C. ; Vasconcellos, R. S. ; Bazolli, R. S. ; Pereira, G. T. ; Prada, F .(2008) Effects of six carbohydrate sources on diet digestibility and postprandial glucose and insulin responses in cats. *J of Ani Sci*, **86**, 2237-2246.
4. Dijcker JC, Hagen-Plantinga EA & Hendriks WH (2012) Changes in dietary macronutrient profile do not appear to affect endogenous urinary oxalate excretion in healthy adult cats. *Vet J* **194**, 235–239.
5. Osborne CA, Lulich JP, Kruger JM, et al. (2009) Analysis of 451,891 canine uroliths, feline uroliths, and feline urethral plugs from 1981 to 2007: perspectives from the Minnesota Urolith Center. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* **39**, 183–197.
6. Lekcharoensuk C, Osborne CA, Lulich JP, et al. (2001) Association between dietary factors and calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate urolithiasis in cats. *J Am Vet Med Assoc* **219**, 1228–1237.
7. Holmes RP, Goodman HO & Assimios DG (2001) Contribution of dietary oxalate to urinary oxalate excretion. *Kidney Int* **59**, 270–276.
8. Dijcker JC, Plantinga EA, van Baal J, et al. (2011) Influence of nutrition on feline calcium oxalate urolithiasis with emphasis on endogenous oxalate synthesis. *Nutr Res Rev* **24**, 96–110.
9. Passlack N & Zentek J (2013) Urinary calcium and oxalate excretion in healthy adult cats are not affected by increasing dietary calcium levels. *PLoS ONE* **8**, e70530.
10. Behnam JT, Williams EL, Brink S, et al. (2006) Reconstruction of human hepatocyte glyoxylate metabolic pathways in stably transformed Chinese-hamster ovary cells. *Biochem J* **394**, 409–416.
11. Williams HE & Smith LH Jr (1968) L-Glyceric aciduria. A new genetic variant of primary hyperoxaluria. *N Engl J Med* **278**, 233–238.
12. Danpure CJ, Jennings PR, Mistry J, et al. (1989) Enzymological characterization of a feline analogue of primary hyperoxaluria type 2: a model for the human disease. *J Inherit Metab Dis* **12**, 403–414.
13. Nguyen NU, Dumoulin G, Henriët MT, et al. (1995) Increase in urinary calcium and oxalate after fructose infusion. *Horm Metab Res* **27**, 155–158.
14. Nguyen NU, Dumoulin G, Henriët MT, et al. (1998) Effects of i.v. insulin bolus on urinary calcium and oxalate excretion in healthy subjects. *Horm Metab Res* **30**, 222–226.
15. Nguyen UN, Dumoulin G, Henriët MT, et al. (1998) Aspartame ingestion increases urinary calcium, but not oxalate excretion, in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* **83**, 165–168.
16. Knight J, Holmes RP & Assimios DG (2007) Intestinal and renal handling of oxalate loads in normal individuals and stone formers. *Urol Res* **35**, 111–117.
17. Ribaya, J.D., Gershoff, S.N., 1981. Effects of hydroxyproline and vitamin B-6 on oxalate synthesis in rats. *Journal of Nutrition* **111**, 1231–1239.
18. Takayama T, Fujita K, Suzuki K, et al. (2003) Control of oxalate formation from L-hydroxyproline in liver mitochondria. *J Am Soc Nephrol* **14**, 939–946.
19. Gambardella RL, Richardson, KE, (1978). The formation of oxalate from hydroxypyruvate, serine, glycolate and glyoxylate in the rat. *Biochimica et Biophysica Acta* **544**, 315–328.
20. Zentek J & Schulz A (2004) Urinary composition of cats is affected by the source of dietary protein. *J Nutr* **134**, 2162S–2165S.
21. Danpure CJ, Guttridge KM, Fryer P, et al. (1990) Subcellular distribution of hepatic alanine:glyoxylate aminotransferase in various mammalian species. *J Cell Sci* **97**, 669–678.

22. Danpure CJ, Fryer P, Jennings PR, et al. (1994) Evolution of alanine:glyoxylate aminotransferase 1 peroxisomal and mitochondrial targeting. A survey of its subcellular distribution in the livers of various representatives of the classes Mammalia, Aves and Amphibia. *Eur J Cell Biol* **64**, 295–313.
23. Laflamme, DP, Hanna, S.S (2005) Increased dietary protein promotes fat loss and reduces loss of lean body mass during weight loss in cats. *Intern J Appl Res Vet Med* **3**, 62-68.
24. National Research Council (NRC) (2006) *Nutrient Requirements of Dogs and Cats*. Washington, DC: The NationalAcademic Press.
25. Lefebvre H P, Dossin O, Trumel C, Braun, JP. (2008) Fractional excretion test: a critical review of methods and application in domestic animals. *Veterinary Clinical Pathology* **37**, 4-20.
26. AAFCO. (2014) Official Publication. *Association of American Feed Control Officials Inc.*, West Lafayette, IN.
27. Carciofi AC (2008) Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. *Revista Brasileira de Zootecnia*.**37**, suplemento especial .28-41.
28. AOAC, (2010) Official Methods of Analysis, 16th ed. *Association of Analytical Chemists*, Washington, DC, USA.
29. Prosky, L, Asp, NG, Schweizer, TF, Devries, JW, Furda, I.(1992) Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: *Colaborative Study. J. AOAC. Int.*, **75**,360 – 7
30. Hendrix, DL (1993) Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. *Crop Science*, Madison, **25**, 1306-1311.
31. Pond, WG, Church, DC, Pond, K R (2005) *Basic animal nutrition and feeding*, **4ed**, New York: John Wiley & Sons 615.
32. Carciofi AC, Bazzoli, RS, Zanni A (2005) Influence of water content and the digestibility of pet foods on the water balance of cats. *Braz J Vet Res Ani Scie.* **42**,429-434.
33. Tortola L, Souza NG, Zaine L, Gomes M.O.S, Matheus LFO, Vasconcellos RS, Pereira, G.T, Carciofi, AC. (2013) Enzyme effects on extruded diets for dogs with soybean meal as a substitute for poultry by-product meal. *J of Ani Phy and Ani N* **97** 39–50.
34. Kinsella JE (1979) Functional Properties of Soy Proteins. *J. Am. Oil chemists' soc.*, **56**, 242-258
35. Bai SC, Sampson DA, Morris JG, et al. (1989) Vitamin B-6 requirement of growing kittens. *J Nutr* **119**, 1020–1027.
36. Lumb MJ, Purdue PE & Danpure CJ (1994) Molecular evolution of alanine/glyoxylate aminotransferase 1 intra-cellular targeting. Analysis of the feline gene. *Eur J Biochem* **221**, 53–62.
37. Passlack, N; Burmeier, H; Brenten T; Neumann, K ; Zentek, J.(2014) Relevance of dietary protein concentration and quality as risk factors for the formation of calcium oxalate stones in cats. *Journal of Nutritional Science*, **3** , 1 -10
38. Hashimoto M, Funaba M, Abe M, et al. (1995) Dietary protein levels affect water intake and urinary excretion of magnesium and phosphorus in laboratory cats. *Exp Anim* **44**, 29–35
39. Morais, HA.; Dibartola, SP (2008) *Advances in Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders*. **38** N°3 503-510.
40. Luckschander, N., Iben, C., Hosgood, G., Gabler, C., Biourge, V., (2004) Dietary NaCl does not affect blood pressure in healthy cats. *J of Vet Inter Med* **18**, 463–467.
41. Passlack, N; Burmeier H; Brenten T; et al (2014) Short term effects of increasing dietary salt concentration on urine composition in healthy cats. *The veterinary journal* **201**, 401-405
42. Dibartola, S. P. (2006) *Fluid therapy in small animal practice*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
43. Kirk CA, Ling GV, Franti CE, et al. (1995) Evaluation of factors associated with development of calcium oxalate urolithiasis in cats. *J Am Vet Med Assoc* **207**, 1429–1434.

44. Jeremias JT, Nogueira SP, M.A.Brunetto MA, Pereira GT, Loureiro BA, Ferreira CS, Gomes MOS, Carciofi AC, (2013). Predictive formulas for food base excess and urine ph estimations of cats. *Ani F Sci andTech* **182**, 82–92.

Tabela 1. Fórmula dos alimentos para felinos com diferentes relações amido: proteína.

Item	Dietas*			
	A 47	A32	A19	A8
Milho	529.6	370.5	192.0	23.1
Prot Isolada Soja (84% proteína) †	0.0	162.6	343.3	514.2
Farinha de vísceras de aves	261.5	261.5	261.5	261.5
Gordura de aves	85.0	82.2	80.0	78.0
Arroz Quirera	50.0	50.0	50.0	50.0
Palatabilizante liq. ‡	20.0	20.0	20.0	20.0
Fibra de cana §	25.0	25.0	25.0	25.0
Palatabilizante pó ‡	10.0	10.0	10.0	10.0
Cloreto de potássio	4.0	4.0	4.0	4.0
Sal comum	3.5	3.5	3.5	3.5
Premix Vit/Min	3.0	3.0	3.0	3.0
Cloreto de colina	2.7	2.7	2.7	2.7
Óleo de peixe	2.0	2.0	2.0	2.0
Taurina	1.5	1.5	1.5	1.5
Antifungico¶	1.0	1.0	1.0	1.0
Antioxidante**	0.5	0.5	0.5	0.5
L-lisina HCl	0.5	0.0	0.0	0.0
DL-Metionina	0.2	0.0	0.0	0.0

*A47: ração com 47% de amido e 25% de proteína; A32: ração com 32% de amido e 37% de proteína; A19: ração com 19 % de amido e 50% de proteína; A8: ração com 8 % de amido e 60% de proteína.

†Proteína isolada de soja, Solae, Esteio, Brasil.

Vit2be Fiber, Dilumix, Leme, SP, Brasil, Diâmetro geométrico médio=188±1,8microns.

‡SPF do Brasil, Descalvado, Brasil.

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

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

**Banox: BHA, BHT, galato de propila e carbonato de cálcio - Alltech do Brasil Agro.

Tabela 2. Composição química analisada dos alimentos extrusados para felinos com diferentes relações de amido: proteína. Valores sobre a matéria seca.

Item	Dietas*			
	A47	A32	A19	A8
Umidade (g/kg)	65.4	59.2	57.7	54.8
Proteína bruta (g/kg MS)	248.4	366.1	498.5	604.9
Aminoácidos (g/kg MS)				
Arginina	14.72	23.96	32.03	42.24
Histidina	4.91	8.22	10.68	13.18
Isoleucina	8.02	14.44	19.93	26.54
Metionina	4.86	6.02	7.05	8.73
Metionina + Cistina	7.29	9.7	11.77	14.85
Leucina	18.29	28.16	36.15	46.74
Lisina	12.66	20.62	27.33	36.35
Fenilalanina	9.81	16.67	22.70	29.98
Fenilalanina + tirosina	16.66	28.31	38.08	49.84
Treonina	8.76	13.64	17.90	22.92
Valina	10.21	16.07	21.29	27.56
Amido (%)	469.48	319.47	192.40	83.35
Extrato etéreo hidrólise ácida (g/kg MS)	117.0	137.5	131.4	139.0
Fibra dietética total (g/kg MS)	107.9	111.0	109.3	101.7
Matéria mineral (g/kg MS)	63.7	77.0	79.7	89.9
Ca	16.7	15.7	15.0	16.6
P	12.7	11.9	13.7	13.7
K	5.8	5.6	4.8	4.2
Mg	1.0	0.9	0.8	0.8
Na	4.7	6.3	8.9	10.8
Cl	2.0	2.8	3.1	4.3
S	5.0	6.1	7.1	7.1

* A47: ração com 47% de amido e 25% de proteína; A32: ração com 32% de amido e 37% de proteína; A19: ração com 19 % de amido e 50% de proteína; A8: ração com 8 % de amido e 60% de proteína.

Tabela 3. Peso corporal inicial e final e consumo de matéria seca e energia metabolizável (EM) de gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações de amido: proteína.

	Dietas*				EPM [†]	P value
	A47	A32	A19	A8		
Peso Corporal (kg)						
Inicial	5.02	5.14	5.14	4.67	0.173	0.759
Final	4.99	5.21	5.24	4.98	0.174	0.926
Valor de P	0.477	0.452	0.412	0.425	-	-
Consumo (média dos 18 dias)						
MS (g/kg/dia)	10.60	11.51	11.24	10.98	0.329	0.729
EM (kcal/kg ^{0.67} /dia)	74.96	82.61	86.15	85.83	2.205	0.112

* A47: ração com 47% de amido e 25% de proteína; A32: ração com 32% de amido e 37% de proteína; A19: ração com 19 % de amido e 50% de proteína; A8: ração com 8 % de amido e 60% de proteína.

† Erro padrão da média (n = 8 gatos por ração).

Tabela 4. Consumo, coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes, energia metabolizável e balanço de nitrogênio de gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações de amido: proteína.

Item	Dieta [*]				EMP†	P valor	Contrastes	
	A47	A32	A19	A8			Linear‡	Quadráticos§
Ingestão durante o ensaio (g/kg/dia)								
Matéria seca	10.92	12.07	11.88	11.12	0.367	0.644	-	-
Proteína bruta	2.71	4.42	5.92	6.72	0.320	<0.001	<0.001	0.203
Extrato etéreo hidrólise ácida	1.37	1.65	1.56	1.54	0.053	0.029	0.073	0.028
Amido	5.12	3.85	2.28	0.92	0.304	<0.001	<0.001	<0.001
Coeficientes de digestibilidade aparente (%)								
Matéria seca	80.13	80.52	83.54	82.59	0.495	0.032	0.013	0.472
Matéria orgânica	84.16	84.78	87.11	86.71	0.426	0.024	0.006	0.523
Proteína bruta	82.33	87.68	90.96	91.73	0.751	<0.001	<0.001	0.004
Extrato etéreo hidrólise ácida	87.13	89.37	89.27	89.42	0.481	0.111	-	-
Amido	99.77	99.87	99.90	99.90	0,028	0.226	-	-
Energia Metabolizável (kJ/g MS)	15.77	16.57	17.57	18.45	0.048	<0.001	<0.001	0.724
Balanço de nitrogênio (mg/kg/dia)	248.33	240.29	478.57	274.47	65.261	0.594	-	-

^{*} A47: ração com 47% de amido e 25% de proteína; A32: ração com 32% de amido e 37% de proteína; A19: ração com 19 % de amido e 50% de proteína; A8: ração com 8 % de amido e 60% de proteína.

† Erro padrão da média (n = 8 gatos por ração).

‡ Efeito linear da relação amido: proteína

§ Efeito quadrático da relação amido: proteína

Tabela 5. Balanço hídrico e características da urina e das fezes de gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações de amido: proteína.

Item	Dietas*				EPM†	P valor	Contrastes	
	A47	A32	A19	A8			Linear‡	Quadráticos§
Características da urina								
pH	6.57	7.16	6.97	7.31	0.062	<0.001	<0.001	0.094
Densidade	1.054	1.051	1.056	1.059	0.003	0.821	-	-
Características das fezes								
Produção (g/kg/dia, MO)	7.51	5.91	5.25	6.16	0.351	0.121	-	-
Escore	3.38	3.13	3.57	3.35	0.117	0.692	-	-
Ingestão de água (ml/kg/dia)								
Água do bebedouro	16.92	23.94	28.98	25.90	1.396	0.008	0.004	0.045
Água do alimento	0.761	0.762	0.729	0.647	0.024	0.301	-	-
Água metabólica	5.14	5.48	5.09	4.58	0.168	0.329	-	-
Água Total Ingerida	22.83	30.19	34.80	31.14	1.481	0.020	0.014	0.046
Excreção de água (ml/kg/dia)								
Excreção urinária de água	9.23	17.43	18.67	19.83	1.199	0.001	<0.001	0.081
Excreção fecal de água	3.99	4.23	3.42	3.35	0.231	0.482	-	-
Perdas insensíveis	9.61	8.53	12.72	7.95	0.746	0.111	-	-

^{*}A47: ração com 47% de amido e 25% de proteína; A32: ração com 32% de amido e 37% de proteína; A19: ração com 19 % de amido e 50% de proteína; A8: ração com 8 % de amido e 60% de proteína

[†]Erro padrão da média (n = 8 gatos por ração).

[‡]Efeito linear da relação amido: proteína

[§]Efeito quadrático da relação amido: proteína

^{||} Dados transformados ($\sqrt{x}$) para análise estatística;

Tabela 6. Excreção renal de macromelementos, oxalato e citrato de gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações de amido: proteína.

Item	Dietas*				EPM†	P valor	Contrastes	
	A47	A32	A19	A8			Linear‡	Quadráticos§
Excreção urinária (mg/kg/dia)								
Oxalato	3.27	3.54	2.18	2.62	0.339	0.502	-	-
Citrato	0.39	1.24	0.68	0.90	0.144	0.093	-	-
Na	365.7	618.0	754.8	817.3	37.353	<0.001	<0.001	0.034
K	559.	615.1	537.4	396.2	24.389	0.007	0.006	0.025
Cl	911.8	1312.2	1276.4	992.2	69.124	0.085	-	-
Ca	1.96	3.42	2.39	1.92	0.316	0.326	-	-
P	284.7	316.8	400.6	330.2	17.227	0.016	0.070	0.046
Mg	12.9	11.7	8.38	4.41	1.054	0.012	<0.001	0.452
S	213.4	278.9	369.8	312.1	14.744	<0.001	<0.001	0.011
Ác. Úrico	82.2	119.4	150.8	147.5	9.250	<0.001	<0.001	0.643
Ureia	683.9	1055.6	1738.3	1628.4	101.528	<0.001	<0.001	0.014

* A47: ração com 47% de amido e 25% de proteína; A32: ração com 32% de amido e 37% de proteína; A19: ração com 19 % de amido e 50% de proteína; A8: ração com 8 % de amido e 60% de proteína.

† Erro padrão da média (n = 8 gatos por ração).

‡ Efeito linear da relação amido: proteína

§ Efeito quadrático da relação amido: proteína

Tabela 7. Supersaturação para oxalato de cálcio (SSR OxCa) e concentração de macromelementos, oxalato e citrato na urina de gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações amido: proteína

Item	Dietas*				EPM†	P valor	Contrastes	
	A47	A32	A19	A8			Linear‡	Quadrático§
Concentração na urina (mg/dL)								
SSR OxCa	0.62	0.52	0.19	0.22	0.057	0.005	<0.001	0.445
Oxalato	2.92	1.85	1.10	1.37	0.180	<0.001	<0.001	0.021
Relação creatinina: oxalato	160	172	241	176	19.8	0.499	-	-
Citrato	0.33	0.56	0.36	0.49	0.06	0.115	-	-
Na	377	401	436	479	20.190	0.308	-	-
K	603	400	308	232	34.477	<0.001	<0.001	0.209
Cl	933	783	721	584	37.736	0.004	<0.001	0.916
Ca	1.88	1.76	1.37	1.14	0.117	0.083	-	-
P	290	200	242	193	12.882	0.017	0.016	0.363
Mg	13.3	6.4	4.6	2.7	0.934	0.056	<0.001	0.052
S	221	178	213	182	9.968	0.326	-	-
Ác. Úrico	82.8	75.2	82.3	100.8	4.277	0.191	-	-
Ureia	6779	6930	9612	9502	379.180	0.021	0.002	0.346

* A47: ração com 47% de amido e 25% de proteína; A32: ração com 32% de amido e 37% de proteína; A19: ração com 19 % de amido e 50% de proteína; A8: ração com 8 % de amido e 60% de proteína.

† Erro padrão da média (n = 8 gatos por ração).

‡ Efeito linear da relação amido: proteína

§ Efeito quadrático da relação amido: proteína

Tabela 8. Concentração de oxalato e creatinina no plasma e excreção fracionada de oxalato em gatos alimentados com alimentos extrusados com diferentes relações amido: proteína.

	Dietas [*]				EPM [†]	P valor	Contrastes	
	A47	A32	A19	A8			Linear [‡]	Quadráticos [§]
Concentração no plasma (mg/dl)								
Oxalato	3.16	3.46	3.46	3.41	0.121	0.797	-	-
Creatinina	1.69	1.52	1.30	1.25	0.054	0.007	<0.001	0.524
Excreção fracionada de oxalato (%)	0.50	0.43	0.24	0.34	0.060	0.467	-	-

^{*} A47: ração com 47% de amido e 25% de proteína; A32: ração com 32% de amido e 37% de proteína; A19: ração com 19 % de amido e 50% de proteína; A8: ração com 8 % de amido e 60% de proteína.

[†] Erro padrão da média (n = 8 gatos por ração).

[‡] Efeito linear da relação amido: proteína

[§] Efeito quadrático da relação amido: proteína

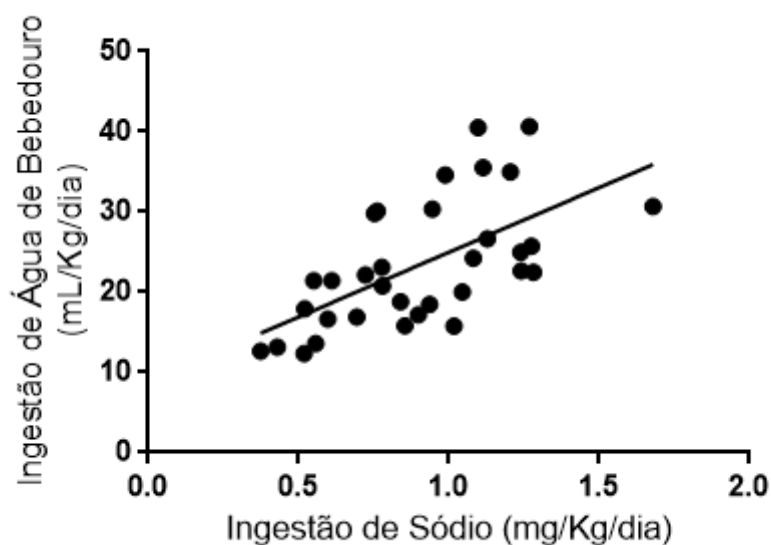


Figura 2: Correlação entre a ingestão de sódio e o consumo de água no bebedouro de gatos alimentados com rações com diferentes relações proteína: amido e teores crescentes de sódio ($y = 16.117x + 8.8533$; $R^2 = 0.3814$; $P=0.0001$).

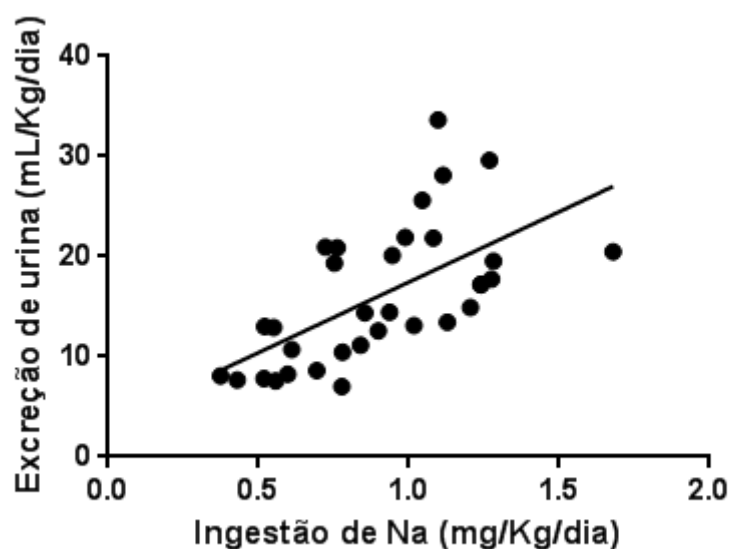


Figura 3: Correlação entre a ingestão de sódio e a produção de urina de gatos alimentados com rações com diferentes relações proteína: amido e teores crescentes de sódio ($y = 14,066x + 3,382$; $R^2 = 0,3806$; $P=0.0001$).

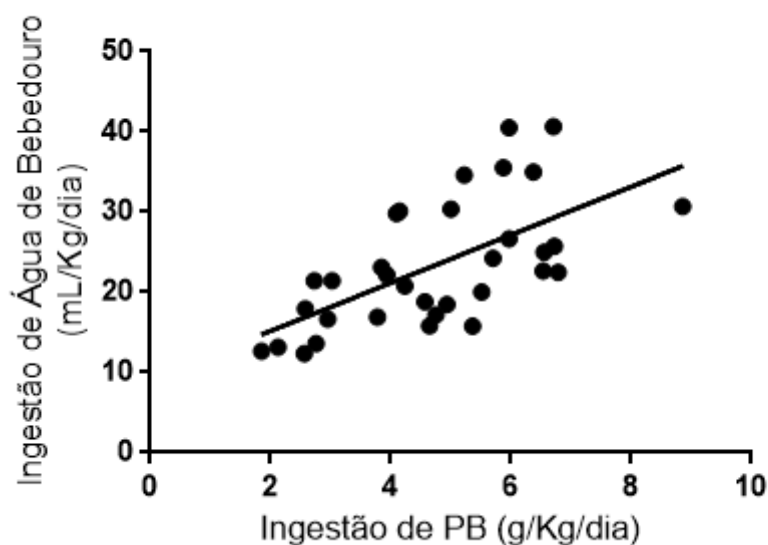


Figura 4: Correlação entre a ingestão de proteína e o consumo de água no bebedouro de gatos alimentados com rações com diferentes relações proteína: amido e teores crescentes de sódio ($y = 2.9988x + 9.1563$; $R^2 = 0.3924$ $P < 0.0001$).

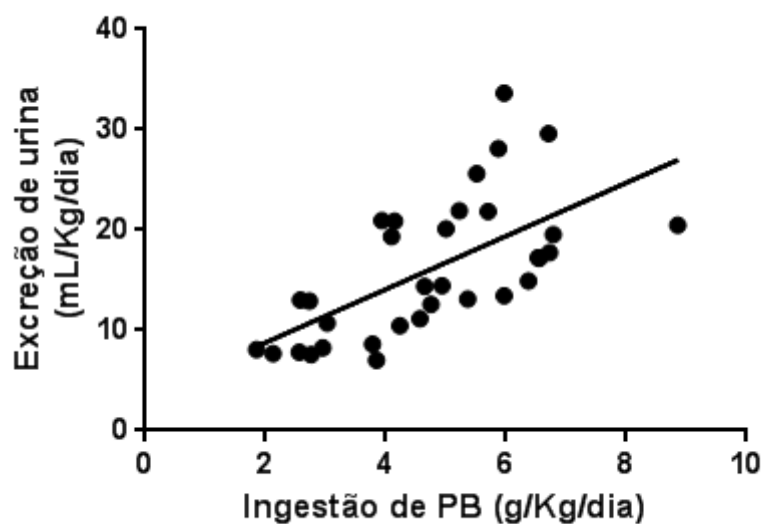


Figura 5: Correlação entre a ingestão de proteína e a produção de urina de gatos alimentados com rações com diferentes relações proteína: amido e teores crescentes de sódio ($y = 2.1657x + 5.5161$; $R^2 = 0.3319$; $P < 0.0001$).

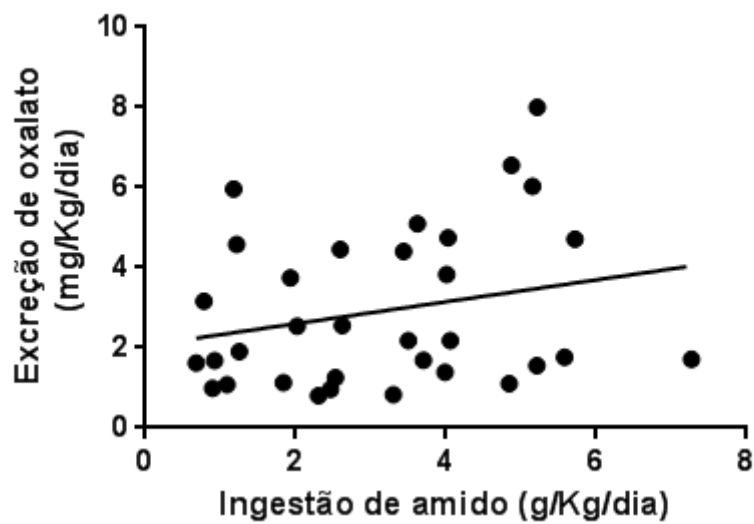


Figura 6: Correlação entre a ingestão de amido e a excreção urinária de oxalato em gatos alimentados com rações com diferentes relações proteína: amido e teores crescentes de sódio ($y = 0,1097x + 2,5206$; $R^2 = 0,009$; $P=0.1738$).