

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

Estudo da proteinúria em cães com doença renal crônica

Giovanna Sarri Silva
Médica Veterinária

Jaboticabal

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

Estudo da proteinúria em cães com doença renal crônica

Discente: Giovanna Sarri Silva

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Marileda Bonafim Carvalho

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte das exigências para a obtenção do Título de Mestre em Medicina Veterinária.

S586e	Silva, Giovanna Sarri Estudo da proteinúria em cães com doença renal crônica / Giovanna Sarri Silva. -- Jaboticabal, 2021 35 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientadora: Marileda Bonafim Carvalho 1. Proteinúria. 2. Doença renal crônica. 3. Hipertensão arterial. I. Título.
-------	--

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

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal




CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ESTUDO DA PROTEINÚRIA EM CÃES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA


AUTORA: GIOVANNA SARRI SILVA

ORIENTADORA: MARILEDA BONAFIM CARVALHO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Clínica Médica Veterinária pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. MARILEDA BONAFIM CARVALHO (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


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


Profa. Dra. AMANDA LEAL DE VASCONCELLOS (Participação Virtual)
FAVET - UECE / Fortaleza/CE

Jaboticabal, 19 de janeiro de 2021

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

DECLARAÇÃO

Declaramos que o trabalho de pesquisa intitulado "Associação entre o desequilíbrio hidroeletrólítico e disfunção tubular sinalizada por biomarcadores em cães com doença renal crônica", sob a responsabilidade da Prof^a Dr^a Marlieda Bonafim Carvalho e Certificado CEUA protocolo nº 17281/2018, aprovado em reunião ordinária em 06 de dezembro de 2018, teve o seu título alterado para "Estudo da proteinúria em cães com doença renal crônica".

Solicitação aprovada em reunião ordinária de 13 de maio de 2021

Jaboticabal, 13 de maio de 2021.



Profa. Dra. Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

AGRADECIMENTOS

À Deus por mais essa fase em que pude adquirir novos conhecimentos e me desenvolver como profissional.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Marileda Bonafim Carvalho pela orientação acadêmica.

Aos meus familiares pelo apoio necessário para que pudesse continuar nesse propósito.

Aos professores que conheci durante as disciplinas da pós-graduação. Ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, campus de Jaboticabal e a equipe do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”.

Às minhas colegas Ana e Amanda, que ajudaram nos atendimentos e processamento de amostras dos animais do projeto.

A todos os cães e tutores que participaram desse estudo.

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

Estudo da proteinúria em cães com doença renal crônica

RESUMO

A progressão da doença renal crônica (DRC) pode estar envolvida com a ocorrência de proteinúria, porém seus mecanismos fisiopatológicos não estão totalmente esclarecidos. Considerando que a mensuração da proteinúria pode ser usada para diagnóstico, monitoração e tratamento da DRC, buscou-se com o presente estudo correlacionar esse parâmetro com outras variáveis implicadas a doença, como pressão arterial sistólica, densidade urinária e dosagem de creatinina, albumina e fosfato séricos em um grupo de animais controle e nos diferentes estádios da DRC. Para isso foi realizado um estudo prospectivo, onde foram selecionados pacientes caninos hígidos e com DRC naturalmente adquirida que passaram por avaliação clínica no Serviço de Nefrologia e Urologia da Unesp Jaboticabal, tais condições eram estabelecidas por exames clínicos, laboratoriais e de imagem. Não houve restrição quanto à raça, gênero ou idade. Para as avaliações do estudo foi realizada aferição de pressão arterial sistólica, ultrassonografia do trato urinário, hemograma e urinálise, determinação das concentrações séricas de ureia, creatinina, proteína total, albumina, cálcio total e fósforo e determinação da concentração urinária de creatinina e proteína total. Todos os pacientes com DRC que participaram do estudo receberam o tratamento adequado. Para análise dos resultados foi utilizada estatística descritiva e para comparar se os parâmetros analisados tinham diferença estatística entre o grupo controle e os estádios foi utilizado o teste de Kruskal Wallis e Dunn para comparação múltipla. Para correlacionar cada variável foi utilizado o Teste de Spearman. A razão proteína creatinina urinária não mostrou correlação com as outras variáveis testadas. Animais com DRC tiveram valores maiores de pressão arterial sistólica, porém não houve diferença significativa entre os estádios. Tanto a proteinúria, como a pressão arterial se comportaram como variáveis independentes entre si e entre as outras variáveis, indo contra o senso comum de associação entre ambas as variáveis.

Palavras-chave: proteína, pressão arterial, estádios da DRC

ABSTRACT

The progression of chronic kidney disease (CKD) may be involved with the occurrence of proteinuria, but its pathophysiological mechanisms are not fully understood. To analyze that the measurement of the protein can be used for diagnosis, monitoring and treatment of CKD, we sought to correlate this parameter with other variables involved in the disease, such as systolic blood pressure, urinary density and creatinine, albumin measurement and serum phosphates in a group of control animals and in the different stages of CKD. For this, a prospective study was carried out, in which healthy canine patients with naturally acquired CKD were selected and underwent clinical evaluation at the Nephrology and Urology Service of Unesp Jaboticabal, such conditions were constituted by clinical, laboratory and imaging exams. There was no restriction on race, gender or age. For the evaluations of the study, measurement of systolic blood pressure, ultrasound of the urinary tract, complete blood count and urinalysis, determination of the serum standards of urea, creatinine, total protein, albumin, total calcium and phosphorus and determination of the urinary concentration of creatinine and total protein . All patients with RDC who participated in the study received adequate treatment. For the analysis of the results obtained by descriptive statistics and to compare whether the comparison parameters with the difference between the control group and the stages, the Kruskal Wallis and Dunn test was used for multiple comparison. To correlate each variable, it was used in the Spearman test. The urinary creatinine protein ratio does not show a correlation with other tested variables. Animals with CKD had higher values of systolic blood pressure, but there was no difference between the stages. Both proteinuria and blood pressure behaved as independent variables among themselves and among the other variables, going against the common sense of association between both variables.

Keywords: protein, blood pressure, CKD stages

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Representações gráficas das medianas, percentis e valores extremos, distribuídos por grupos de cães controle e doentes, variáveis creatinina sérica, densidade urinária e fosfato sérico.....28
- Figura 2. Representações gráficas das medianas, percentis e valores extremos, distribuídos por grupos de cães controle e doentes, variáveis razão proteína/creatinina urinária, pressão arterial sistólica e albumina sérica.....29
- Figura 3. Representação das distribuições de frequência das categorias da pressão arterial sistólica (porcentagem) dos grupos controle e estádios da doença renal crônica (DRC).....30
- Figura 4. Representação das distribuições de frequência das categorias da proteinúria (porcentagem) dos grupos controle e estádios da doença renal crônica (DRC).....32
- Figura 5. Representação gráfica dos valores individuais de creatinina sérica em conjunto com razão proteína/creatinina urinária, pressão arterial sistólica, albumina sérica, densidade urinária e fosfato sérico, para visualização da distribuição das variáveis analisadas em cães saudáveis e com doença renal crônica.....33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição dos grupos de cães sadios (controle) e cães com doença crônica (DRC) nos diferentes estádios (IRIS staging of 2019).....	21
Tabela 2. Categorias da pressão arterial sistólica.....	22
Tabela 3. Categorias da proteinúria.....	22
Tabela 4. Resultados da estatística descritiva das variáveis obtidas em cães clinicar sadios e com doença renal crônica.....	24
Tabela 5. Resultados da estatística descritiva das variáveis obtidas em cães clinicamente sadios (controle) e cães com doença renal crônica (DRC) nos estádios 1, 2, 3 e 4, de acordo com a <i>IRIS staging of CKD</i> 2019.....	24
Tabela 6. Resultados da estatística descritiva das variáveis obtidas em cães clinicamente sadios (controle) e cães com doença renal crônica (DRC) nos estádios 1, 2, 3 e 4, de acordo com a <i>IRIS staging of CKD</i> - 2019.....	25

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

CEUA	Comissão de tica na utilizao de animais
CV	Coeficiente de variao
DRC	Doença renal crônica
DU	Densidade urinária
GPNUV	Grupo de pesquisa em nefrologia e urologia veterinária
IRIS	<i>International Renal Interest Society</i>
PAS	Pressão arterial sistólica
sAlb	Concentrao sérica de albumina
sCr	Concentrao sérica de creatinina
SNUV	Serviço de nefrologia e urologia veterinária
sP	Concentrao sérica de fósforo
sPt	Concentrao sérica de proteína total
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
TCP	Tbulo contornado proximal
TFG	Taxa de filtrao glomerular
UA/C	Razão albumina/creatinina urinária
uCr	Concentrao urinária de creatinina
UP/C	Razão proteína creatinina urinária
uPT	Concentrao urinária de proteína total

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
..... 2.1 A filtração glomerular e o transporte de proteínas	14
2.2 Classificações da proteinúria	15
2.3 Detecção da proteinúria	16
2.4 Consequências da proteinúria	17
3. MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1 Laboratórios	19
3.2 Animais e aspectos éticos	19
3.3 Metodologia das avaliações	20
3.3.1 Considerações sobre a obtenção e o preparo de amostras	20
3.3.2 Análises laboratoriais	20
3.3.3 Análise estatística	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5. CONCLUSÃO	34
6. REFERÊNCIAS	35

1. INTRODUÇÃO

O termo proteinúria designa a presença de proteína na urina, especialmente a albumina, que é a mais abundante no plasma, e para a qual existe restrição no processo de filtração glomerular. Por ser uma proteína grande e com carga elétrica negativa alta, a albumina é repelida pela barreira glomerular, o que diminui acentuadamente a presença da proteína no ultrafiltrado (Grauer, 2011; Littman, 2011; Vaden, 2016).

Em condições fisiológicas, as proteínas presentes no ultrafiltrado glomerular são quase completamente reabsorvidas pelas células epiteliais do túbulo contornado proximal (TCP). Contudo, em condições de anormalidades funcionais dos glomérulos pode haver filtração excessiva de proteínas em quantidade que ultrapassa a capacidade máxima de reabsorção tubular, resultando em proteinúria patológica (Grauer, 2011; Vaden, 2016). A albuminúria, particularmente, é um marcador de doença renal com destaque para as glomerulopatias (Grauer, 2011; Littman, 2011; Vaden, 2016). As lesões glomerulares geralmente resultam em proteinúria mais grave que as das lesões tubulointersticiais (Grauer, 2011).

A doença renal crônica (DRC) tem natureza irreversível e progressiva com perda gradual do parênquima renal funcional, que resulta em insuficiência renal crônica (Polzin, 2011a; Polzin 2011b). Vários fatores e mecanismos possivelmente implicados na fisiopatologia do processo de progressão da DRC, vêm sendo investigados. Entretanto, faltam evidências conclusivas. Como exemplo, há cerca de três décadas investiga-se a possibilidade de que o aumento de oferta de proteínas para o TCP possa estar implicado na geração de uma sucessão de eventos: lesões tubulares, tubulointersticiais e fibrose (Jacob et al., 2005; Harris & Nielson, 2006). Há alguma evidência de que a reabsorção de proteínas e lipídios causa toxicidade para células tubulares, desencadeando inflamação e apoptose (Vaden, 2016). Porém, ainda não se sabe ao certo se a proteinúria colabora para declínio do quadro ou se atua apenas como um marcador de progressão da lesão renal (Polzin, 2011a). Contudo, sabe-se que a frequência e gravidade das lesões no TCP estão relacionadas com o avanço da DRC.

O objetivo do trabalho foi realizar um estudo prospectivo em cães com DRC naturalmente adquirida, para avaliar as possíveis correlações entre a proteinúria e

outras variáveis implicadas na doença, como densidade urinária, dosagem de creatinina, albumina e fosfato séricos e especialmente a pressão arterial sistólica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A filtração glomerular e o transporte de proteínas

As diversas funções renais envolvem uma variedade de mecanismos, além de uma arquitetura parenquimal complexa na qual se destacam os néfrons com seus pólos vasculares, denominados glomérulos, e respectivos túbulos. Os glomérulos recebem cerca de 20% do débito cardíaco e produzem litros de ultrafiltrado plasmático, diariamente (Littman, 2011). O ultrafiltrado, ao longo de sua passagem pelos segmentos tubulares e ducto coletor, é transformado em urina caracterizada por redução intensa de volume e aumento das concentrações dos solutos não reabsorvidos.

O sistema de filtração glomerular é composto por glicocálix (Singh, 2007), endotélio fenestrado, membrana basal e podócitos. A filtração glomerular é seletiva; o sistema é permeável à água e aos solutos pequenos, mas tem capacidade de reter macromoléculas, como as proteínas (Vaden, 2016). A seletividade da filtração é baseada no peso molecular e carga elétrica. O glicocálix que recobre a superfície luminal do endotélio glomerular tem carga elétrica negativa e pode impedir a filtração de moléculas com carga negativa. A albumina é uma proteína grande (60 kDa) e com carga elétrica negativa, mas, diferentemente do que se assumia, esta molécula atravessa a barreira glomerular e é prontamente recuperada. A albumina filtrada, já no início do TCP, é captada pela via transcelular pós-glomerular por meio do receptor-mediador de endocitose de albumina. Cerca de 90 % da albumina é recuperada e retorna de forma intacta à circulação, o restante (<5%) passa por degradação lisossomal e retornam ao lúmen tubular para ser excretado em sua forma fragmentada (Eppel et al., 1999). As proteínas de tamanho pequeno e com carga elétrica positiva, que atravessam a barreira glomerular, são reabsorvidas em praticamente sua totalidade pelas células epiteliais tubulares do TCP (Grauer, 2011; Littman, 2011).

Contudo, pode haver proteinúria quando é excedida a capacidade máxima de reabsorção tubular, seja por produção ou filtração excessiva de proteínas ou devido a déficit funcional das células epiteliais tubulares. (Grauer, 2011; Littman, 2011; Vaden, 2016).

2.2. Classificações da proteinúria

A proteinúria pode ser fisiológica ou patológica. A forma fisiológica geralmente é passageira, de baixa intensidade e tem tendência a diminuir quando a causa é removida. São exemplos de proteinúria transitória as causadas por exercício extremo, convulsões, febre, exposição ao calor ou frio intenso e estresse. Os mecanismos pelos quais esse tipo de proteinúria ocorre não estão totalmente esclarecidos, mas envolve vasoconstrição renal transitória, isquemia com ou sem congestão.

A proteinúria patológica pode ser causada por alterações urinárias ou extraurinárias. Dentre as causas extraurinárias estão as disproteinemias, associadas à produção de proteínas de baixo peso molecular em quantidade que excede a capacidade reabsortiva tubular (por exemplo, quando há produção de proteínas de Bence Jones por células neoplásicas) e aos processos inflamatórios do trato genital. A proteinúria de causa urinária pode ter origem renal ou pós-renal. A forma pós-renal ocorre quando a proteína presente na urina é originada do trato urinário inferior (infecção, inflamação ou hemorragia).

A proteinúria renal pode ter origem glomerular ou tubular. Sendo que a glomerular ocorre pelo aumento da filtração de proteínas, associada com hipertensão glomerular, presença de imunocomplexos, inflamação dos capilares ou defeito estrutural na membrana basal. A magnitude da proteinúria glomerular pode variar desde grau muito baixo como na microalbuminúria até proteinúria de proporção que pode causar síndrome nefrótica (Less et al., 2005).

Quanto à proteinúria tubular, a causa pode ser defeito na reabsorção (como na síndrome de Fanconi) ou consequência de lesões tubulointersticiais; geralmente é de intensidade baixa, tipicamente persistente e pode ou não ser acompanhada de glicosúria normoglicêmica e excreção anormal de eletrólitos, pode ocorrer na ausência desses achados também (Less et al., 2005).

A presença de proteínas de alto peso molecular na urina, como imunoglobulinas, é indicativo de lesão glomerular. Proteínas de baixo peso e enzimas tubulares são mais específicas para indicar alteração tubular. A biópsia renal é o padrão ouro para determinar o tipo de lesão (glomerular ou tubular), entretanto é um procedimento invasivo, de alto custo e pode trazer riscos à saúde do animal (Hokamp, 2016). A proteinúria renal também pode ser causada por desordens inflamatórias ou

infiltrativas no rim, como nos casos de pielonefrite, leptospirose e neoplasias (Grauer, 2011; Harley, 2012).

2.3 Detecção da proteinúria

A presença de proteína na urina pode ser detectada por meio de métodos semiquantitativos, como o das fitas reagentes ou por métodos quantitativos descritos a seguir. A fita reagente (método de bioquímica seca) é mais sensível à albumina, que tem mais grupos amina, entretanto, esse método tem baixa sensibilidade pois só detecta proteína na urina se as concentrações forem ≥ 30 mg/dL. Podem ocorrer falsos negativos em urina alcalina, com alta turbidez ou em pacientes que fizeram uso recente de certos medicamentos (Carvalho, 2020; Grauer, 2015). Apesar da falta de precisão, o teste com tiras reagentes oferece resultado imediato, tem custo baixo e é muito útil para a investigação inicial, particularmente se fizer parte da urinálise completa.

Entretanto, o diagnóstico de proteinúria requer testes quantitativos e metodologia específica. Na medicina veterinária a coleta de urina de 24 horas tem uma série de inconveniências na prática clínica. Assim, a razão proteína/creatinina urinária (UP/C) é o teste padrão para determinar a magnitude da proteinúria (Harley, 2012; Littman, 2011) uma vez que os resultados são fortemente correlacionados com a excreção de proteínas em uma urina de 24 horas (Moyle, 2018).

As concentrações de creatinina e de proteína urinária são influenciadas pelo volume e densidade urinária, porém a razão entre elas não são. O sinal mais precoce de doença glomerular é a microalbuminúria, que acontece quando as concentrações de albumina urinária excedem o valor normal, mas estão abaixo do limite para serem detectadas na fita reagente (Vaden, 2016). A microalbuminúria pode ser quantificada pela razão albumina/creatinina urinária (UA/C) e pode refletir a presença de hipertensão glomerular com o aumento da filtração e comprometimento da barreira de filtração (Grauer, 2011). Para cães clinicamente sadios descreve-se como referência de UA/C valores entre 0,03 a 0,3 (Bacic et al, 2010). Em estudo realizado por esse mesmo autor, foi observado que cães hipertensos com DRC tinham valores maiores de UA/C que cães normotensos. A maioria dos cães com UP/C entre 0,5 e 1, tinha microalbuminúria e a maior parte dos que tinham UP/C $< 0,5$ não eram albuminúricos. Alguns estudos mostram que a UA/C é mais acurada que os ensaios que detectam microalbuminúria (Whittemore, 2006).

A macroalbuminúria geralmente é mensurada pela UP/C. Quando o valor da UP/C é maior que 2, existem fortes indícios de que a proteinúria seja principalmente composta por albumina e tenha origem glomerular (Grauer, 2011).

2.4. Consequências da proteinúria

A DRC, em função de se tratar de doença renal irreversível e progressiva, tipicamente, é a condição patológica propensa para diversas consequências da proteinúria.

As proteínas séricas podem causar lesão celular tanto no mesângio quanto no TCP. A lesão nas células mesangiais causa o acúmulo de lipoproteínas e produtos da oxidação, havendo maior produção de matriz, ativação de monócitos e geração de fatores de crescimento que provocam esclerose. As células tubulares ficam sobrecarregadas pela grande quantidade de proteínas, com isso há ativação de genes que expressam endotelina, quimiocinas e citocinas; ocorre também formação de cilindros proteináceos que causam obstrução tubular. A inflamação também atinge o interstício e causa fibrose. Mesmo que a lesão tenha se originado em uma porção específica do néfron, outras partes serão comprometidas em algum momento (Wehner, 2008; Maniaki & Finch, 2018).

Ao se detectar proteinúria, é muito importante investigar sua origem, magnitude e persistência. De acordo com Lees et al. 2005 e Polzin 2008, valores da UP/C entre 1 e 2 podem estar relacionados a perda de proteínas tanto por lesão glomerular quanto por disfunção tubular. A magnitude da proteinúria pode sugerir a origem, mas não pode ser usada como método definitivo para determiná-la (Maniaki & Finch, 2018).

Segundo Harley (2012) a DRC proteinúrica progride mais rapidamente que a não proteinúrica. A UP/C pode diminuir com o aumento da azotemia, mas não é necessariamente um bom sinal, isso ocorre porque há poucos néfrons funcionais, assim a perda de proteína está diminuída.

A proteinúria persistente, definida por resultados positivos em três ou mais ocasiões, com duas ou mais semanas de intervalo (Vaden, 2016), está associada com aumento da taxa de progressão da DRC e do risco de morte, em humanos (Marynissen, 2016). A magnitude da proteinúria é correlacionada com a progressão da DRC, tanto em ratos, como em humanos (Tryggvason & Pettersson, 2003; Bacic, 2010). De maneira semelhante, em cães e gatos, aumenta o risco de crises urêmicas e mortalidade (Jacob, 2005, Rudinsky et al 2018).

Até o momento, existem dúvidas sobre o papel da proteinúria em relação à possibilidade de ela ser a causa ou ser a consequência das lesões glomerulares e tubulares. Do mesmo modo, há dúvida sobre a relação de causa-efeito entre a proteinúria e a hipertensão sistêmica.

A hipertensão arterial é frequente em pacientes com DRC, independentemente do estágio da doença. Há chances maiores de ocorrer lesão em órgãos alvos, como coração, cérebro, olhos, artérias, incluindo os rins, quando a PAS excede 160 mmHg (Brown, 2007). Na DRC ocorre diminuição na taxa de filtração glomerular (TFG), o que estimula o sistema renina-angiotensina-aldosterona. Os efeitos da ativação incluem vasoconstrição de arteríola eferente dado pela angiotensina e aumento da volemia pela retenção de sódio e água por ação da aldosterona. Estes eventos resultam em aumento da pressão intraglomerular, que provoca alterações glomerulares morfológicas e funcionais progressivas, além de hipertensão sistêmica (Finco, 1999; Maniaki & Finch, 2018).

A hipertensão é considerada uma causa importante de proteinúria em seres humanos. De maneira semelhante pode-se observar que em cães com proteinúria limítrofe ou evidente, ocorre aumento moderado ou grave da PAS (Marynissen, 2016). E ainda JACOB et al. (2005) descrevem relação direta entre hipertensão e proteinúria intensa. Contudo, em estudo com ratos, RUSSO et al. (2003) não confirmam a relação entre hipertensão e proteinúria.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Laboratórios

O estudo foi realizado no Laboratório de Nefrologia e Urologia do Grupo de Pesquisa em Nefrologia e Urologia Veterinária (GPNUV) do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp - *campus* de Jaboticabal-SP e no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp - *campus* de Jaboticabal-SP.

3.2 Animais e aspectos éticos

O estudo foi realizado no Laboratório de Nefrologia e Urologia do Grupo de Pesquisa em Nefrologia e Urologia Veterinária (GPNUV) do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp - *campus* de Jaboticabal-SP e no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp - *campus* de Jaboticabal-SP.

Pacientes - Foram avaliados animais da espécie canina, sem restrição quanto à raça, gênero ou idade, atendidos pelo Serviço de Nefrologia e Urologia Veterinária (SNUV) - UNESP - Jaboticabal. O projeto foi executado após aprovação da Comissão de ética na utilização de animais (CEUA) e a inclusão dos pacientes se realizou sob consentimento livre e esclarecido dos seus tutores.

Elegibilidade e critérios para inclusão dos pacientes - Foram elegíveis para o estudo, pacientes aparentemente saudáveis encaminhados para check-up. Também foram elegíveis os pacientes que apresentavam sinais sugestivos de DRC. As condições dos pacientes incluídos no projeto - sadio ou com DRC - foram confirmadas por meio de exames clínicos e laboratoriais.

Crítérios de exclusão - Os fatores que determinaram a exclusão dos pacientes foram: ocorrências de complicações clínicas, diagnóstico clínico inconclusivo, amostras de sangue ou urina impróprias para avaliação laboratorial sem a possibilidade de nova coleta e desistência do tutor.

Avaliação preliminar e constituição dos grupos - As avaliações dos pacientes foram feitas de acordo com o protocolo do SNUV - resenha, anamnese, exame físico

e exames complementares - patologia clínica e diagnóstico por imagem e outros para diagnóstico diferencial ou refinamento do diagnóstico.

Protocolo de avaliações para o estudo - dos pacientes que atenderam aos critérios de inclusão foram de interesse do estudo os resultados de aferição da pressão arterial sistólica (PAS) não invasiva (sistema doppler), densidade urinária (DU), concentrações séricas de creatinina (sCr), proteína total (sPt), albumina (sAlb), fosfato (sP) e concentrações urinárias de creatinina (uCr) e proteína total (uPt) para o cálculo da UP/C.

Para os pacientes com ingestão alimentar regular, as coletas de amostras de sangue e urina foram realizadas após 8 a 10 horas de jejum alimentar (com água *ad libitum*). Pacientes em estado crítico foram incluídos no estudo se, após tratamento, retornaram a uma condição estável.

Todos os pacientes diagnosticados com DRC, passaram a receber os cuidados e tratamentos, de acordo com a condição médica de cada indivíduo.

3.3 Metodologia das avaliações

3.3.1 Considerações sobre a obtenção e o preparo de amostras - Foram coletados 6 mL de sangue, por punção de veia jugular ou cefálica. Para o hemograma foram utilizados 2 mL de sangue envasado em tubo contendo anticoagulante (ácido etilenodiamino tetra-acético a 10 % - EDTA). Os 4 mL restantes foram acondicionados em tubo sem anticoagulante, para obtenção de soro, por centrifugação da amostra a 1800 g por 5 minutos, destinado às análises bioquímicas. As amostras de urina (10 mL) obtidas por cistocentese ou cateterização transuretral, foram destinadas à realização imediata da urinálise. O excedente de material (sobrenadante obtido por centrifugação a 1800 g por 5 min.) foi empregado para as análises bioquímicas.

3.3.2 Análises laboratoriais

Análises bioquímicas séricas e urinárias - Nas amostras de soro foram analisadas as concentrações de creatinina (método Jaffé modificado), albumina (método verde de Bromocresol), proteína total (método do biureto) e fosfato (método do Fosfomolibdato). Nas amostras de urina foram analisadas as concentrações de creatinina (método Jaffé modificado) e proteína total (método do vermelho de pirogalol). As análises bioquímicas foram feitas com os conjuntos de reagentes do

sistema Labtest¹ para diagnóstico e para as leituras foi utilizado espectrofotômetro² semiautomático.

Cães incluídos no estudo

Foram incluídos no estudo um total de 191 cães, sendo 51 cães aparentemente saudáveis (controle) e 140 cães com DRC nos diferentes estádios, segundo as diretrizes da *IRIS* 2019 (**Tabela 1**). Os resultados de PAS foram subestadiados de acordo com a proposição da *IRIS* 2019 (**Tabela 2**). E o subestadiamento da UP/C *IRIS* 2019 com ampliação das categorias (**Tabela 3**).

Tabela 1. Composição dos grupos de cães saudáveis (Controle), e cães com doença renal crônica (DRC) nos diferentes estádios (*IRIS staging of CKD 2019*).

Grupos	n	Características
Sadio	51	Cães controle
DRC 1	29	<u>Estádio 1</u> - não azotêmico; creatinina sérica <1,4 mg/dL; diminuição da capacidade de concentrar a urina e existência de lesões renais crônicas.
DRC 2	46	<u>Estádio 2</u> - azotemia renal leve; creatinina sérica 1,4 a 2,8 mg/dL; diminuição da capacidade de concentrar a urina e existência de lesões renais crônicas.
DRC 3	36	<u>Estádio 3</u> - azotemia renal moderada; creatinina sérica 2,9 a 5,0 mg/dL; diminuição da capacidade de concentrar a urina e existência de lesões renais crônicas.
DRC 4	29	<u>Estádio 4</u> - azotemia renal severa; creatinina sérica >5 mg/dL; existência de lesões renais crônicas; risco aumentado de sinais sistêmicos e crise urêmica.

¹ LABTEST - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa – MG.

² LABQUEST - Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa – MG.

Tabela 2. Categorias da pressão arterial sistólica (PAS) empregadas no estudo.

Valores da PAS (mmHg)	Categorias
<140	Normotensão
140 a 159	Pré-hipertensão
160 a 179	Hipertensão
≥180	Hipertensão grave

Tabela 3. Categorias de proteinúria empregadas no estudo.

Valores da UP/C	Categorias da proteinúria
< 0,2	Não proteinúrico
0,2 a 0,5	Proteinúria limítrofe
0,6 a 1,9	Proteinúria leve
2,0 a 4,9	Proteinúria moderada
≥ 5,0	Proteinúria grave

3.3.3 Análise estatística

As variáveis analisadas incluíram: concentrações de sCr, sP e sAlb, densidade urinária, UP/C e pressão arterial sistólica. O estudo seguiu delineamento em blocos casualizados. Os resultados foram avaliados por estatística descritiva e por análise de variância (One-way ANOVA) para dados não paramétricos (Kruskal-Wallis para a ANOVA e Dunn para a comparação múltipla). Para correlacionar cada variável foi usado o Teste de correlação de Spearman. Também foram analisadas as frequências de distribuição das categorias de UP/C e PAS. As análises estatísticas e os gráficos foram feitos utilizando-se o software *GraphPad Prism* versão 9.0.0 (121), San Diego, Califórnia, USA.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da estatística descritiva dos dados obtidos nos cães saudáveis e nos com DRC estão apresentados na **Tabela 4**. Chama a atenção os resultados de coeficiente de variação (CV), que é uma medida padronizada de dispersão. Geralmente, quanto menor o CV, maior a precisão dos dados (Vieira, 2003). Entretanto, a depender do tipo de estudo, valores altos de CV ocorrem em função da natureza das variáveis estudadas e da dispersão ampla, que já é esperada. Na DRC, os valores de sCr, sP e principalmente de UP/C têm variações amplas, pois derivam de eventos patológicos marcados por déficit funcional dos néfrons, praticamente sem possibilidade de recuperação na DRC, e cuja gravidade é particular para cada paciente e da doença renal de base. Por outro lado, o CV dos dados de DU é sempre baixo (1,2% nos cães saudáveis), mas quando se apresenta extremamente baixo (0,6% nos cães DRC), indica perda da capacidade renal de concentrar a urina apropriadamente. Os cães saudáveis atendem plenamente a capacidade de concentrar ou diluir a urina, de modo a manter o equilíbrio hidrossalino, pois podem produzir urina com densidade de 1,001 até 1,065 (Carvalho, 2020).

Quando as mesmas variáveis foram analisadas em subgrupos de acordo com o estágio da DRC (**Tabelas 5 e 6**), as dispersões foram sensivelmente reduzidas por força das limitações impostas pela classificação (*IRIS staging of CKD - 2019*).

Os resultados da estatística descritiva dos dados obtidos nos cães clinicamente saudáveis se destacam por apresentarem valores de CV sensivelmente distintos daqueles relativos aos cães com DRC. Para os cães saudáveis o CV da sCr é 3 vezes menor do que nos com DRC; o CV da DU é 1 vez maior; o CV do sP é 2,6 vezes menor; o CV da UP/C é 3,3 vezes menor; o CV da sAlb é 1,4 vezes menor; o CV da PAS é 1,9 vezes menor.

Tabela 4. Resultados da estatística descritiva das variáveis obtidas em 51 cães clinicamente saudáveis e 140 cães com doença renal crônica.

	sCr (mg/dL)	DU	sP (mg/dL)	UP/C	sAlb (g/dL)	PAS (mmHg)
Sadios						
Mínimo	0,44	1,010	2,3	0,04	2,01	80
Mediana	1,00	1,035	3,9	0,11	3,32	130
Máximo	1,66	1,060	5,9	0,21	4,38	160
IC da mediana						
Limite inferior	0,93	1,030	3,3	0,07	3,04	130
Limite superior	1,10	1,040	4,4	0,14	3,57	140
CV	24,5%	1,2%	25,1%	48,5%	15,6%	12,7%
DRC						
Mínimo	0,65	1,005	2,4	0,04	1,31	80
Mediana	2,65	1,015	5,8	0,98	2,84	151
Máximo	14,6	1,032	32,9	25,0	4,10	280
IC da mediana						
Limite inferior	2,20	1,012	5,2	0,76	2,73	140
Limite superior	2,91	1,015	6,0	1,19	2,99	165
CV	74,2%	0,6%	66,4%	161,8%	22,4%	24,3

IC, intervalo de confiança; CV, coeficiente de variação

Tabela 5. Resultados da estatística descritiva das variáveis obtidas em cães clinicamente saudáveis (controle) e cães com doença renal crônica (DRC) nos estádios 1, 2, 3 e 4, de acordo com a *IRIS staging of CKD - 2019*.

Grupos	n	DRC 1 29	DRC 2 46	DRC 3 36	DRC 4 29
Creatinina sérica (mg/dL)					
Mínimo		0,65	1,40	2,23	5,10
Mediana		1,06	1,89	3,72	6,97
Máximo		1,45	3,34	4,99	14,60
IC da mediana					
Limite inferior		0,81	1,78	3,20	5,90
Limite superior		1,17	2,23	4,14	7,68
CV		23,00%	22,67%	19,73%	31,72%
Densidade urinária					
Mínimo		1,010	1,005	1,005	1,005
Mediana		1,020	1,010	1,010	1,010
Máximo		1,032	1,032	1,020	1,020
IC da mediana					
Limite inferior		1,015	1,015	1,010	1,010
Limite superior		1,025	1,019	1,014	1,012
CV		0,66%	0,63%	0,33%	0,28%
Fosfato sérico (mg/dL)					
Mínimo		2,40	2,40	3,70	4,60
Mediana		4,05	5,15	5,83	11,10
Máximo		6,20	11,11	18,41	32,86
IC da mediana					
Limite inferior		3,9	4,72	5,00	8,00
Limite superior		5,76	5,80	7,60	15,00
CV		28,03%	32,48%	46,86%	51,85%

IC, intervalo de confiança; CV, coeficiente de variação

Tabela 6. Resultados da estatística descritiva das variáveis obtidas em cães clinicamente saudáveis (controle) e cães com doença renal crônica (DRC) nos estádios 1, 2, 3 e 4, de acordo com a *IRIS staging of CKD - 2019*.

Grupos	n	DRC 1	DRC 2	DRC 3	DRC 4
		29	46	36	29
Razão proteína/creatinina urinária					
Mínimo		0,09	0,04	0,09	0,26
Mediana		0,88	0,71	0,99	1,29
Máximo		5,51	7,67	25,00	16,45
IC da mediana					
Limite inferior		0,52	0,60	0,71	0,74
Limite superior		1,21	1,49	1,89	2,92
CV		107,70%	116,90%	188,20%	129,40%
Albumina sérica (g/dL)					
Mínimo		1,86	1,44	1,46	1,31
Mediana		3,01	3,00	2,65	2,66
Máximo		3,98	4,10	3,90	4,03
IC da mediana					
Limite inferior		2,77	2,79	2,30	2,28
Limite superior		3,20	3,21	2,91	3,09
CV		17,58%	22,44%	22,50%	25,26%
Pressão arterial sistólica (mmHg)					
Mínimo		110	90	80	100
Mediana		160	140	150	160
Máximo		280	260	240	250
IC da mediana					
Limite inferior		140	130	140	140
Limite superior		180	160	180	180
CV		25,43%	22,31%	25,18%	24,15%

IC, intervalo de confiança; CV, coeficiente de variação

As concentrações de creatinina sérica do grupo DRC 1 não diferiram significativamente do grupo controle ($p > 0,999$), uma vez que não há azotemia. E o mesmo ocorreu entre os DRC 3 e 4, não houve diferença ($p 0,137$), apesar de serem, numérica e graficamente distintos *IRIS 2019*. (**Figura 1**).

Para a variável DU, os grupos com DRC apresentaram diferenças significativas em relação valores controle ($p 0,004$ para o DRC 1 e $p < 0,0001$ para os demais). Não houve diferença significativa entre DRC 1 e o DRC 2 ($p 0,917$), o DRC 2 e o DRC 4 ($p 0,642$) e entre o DRC 3 e o DRC 4 ($p > 0,999$). Contudo, a tendência dos dados é de diminuição gradativa com estabilização nos últimos dois estádios (**Figura 1**).

A diminuição persistente da DU é o primeiro sinal de DRC, uma vez que tenham sido descartadas as causas extrarrenais (como nos casos de hiperidratação ou diabetes insipidus). Na DRC 1, a perda de capacidade de concentrar a urina pode ser o único sinal identificado pelo cliente que percebe aumento de volume de urina e aumento da ingestão de água (poliúria/polidipsia). À medida em que se agravam as lesões renais aumenta o declínio da DU e comumente, os valores mínimos já nos estádios 2 ou 3 (Bartges, 2012; Carvalho, 2020; Finco et al., 1999; Polzin, 2011; Polzin, 2011b)

A concentração de fosfato sérico apresentou tendência crescente com o avançar dos estádios. Porém, o grupo DRC 1 não diferiu significativamente do controle e do grupo DRC 2, mas houve diferença significativa entre DRC 3 e DRC 4, o DRC 2 e DRC 4. O grupo DRC 3 diferiu significativamente dos outros grupos, assim como o DRC 4. (**Figura 1**). A hiperfosfatemia está relacionada à queda da TFG, que limita a excreção do fosfato. Em cães com DRC experimental a hiperfosfatemia é associada à progressão mais rápida da doença e diminuição da sobrevida (Bartges, 2012). Cortadellas et al. (2010) observaram que animais com hiperfosfatemia encontravam-se principalmente nos estádios 3 e 4. Em estudo desse mesmo autor a prevalência de hiperparatireoidismo secundário renal nos estádios 3 e 4 foi igual ou superior a 96%, estudos anteriores mencionam até 100% de prevalência. Entretanto, o controle do fosfato sérico é bastante importante e deve ser monitorado uma vez que o aumento crítico pode se iniciar já na DRC 2 (Polzin, 2011a). Nesse estudo foram observados casos de hiperfosfatemia em pacientes DRC 2, o que resultou na ausência de diferença significativa entre DRC 2 e DRC 3.

Os valores da UP/C dos grupos DRC diferiram significativamente do grupo controle ($p < 0,0001$). Embora não tenha havido diferença significativa entre os grupos DRC, é possível observar a tendência crescente da UP/C. Segundo LESS et al. (2005), a proteinúria persistente indica presença de DRC. JACOB (2005), afirma que animais $UP/C > 1$ têm aumentados os riscos de crises urêmicas e de óbito. E de acordo com GRAUER (2005), proteinúria de origem glomerular é mais prejudicial que a tubular. Além da magnitude da proteinúria, é importante buscar identificar a origem e monitorar persistência. Segundo LITTMAN (2011), é possível observar proteinúria glomerular persistente já no DRC 1, e mesmo antes, cuja magnitude inicial é compatível com microalbuminúria (< 30 mg/dL), mas que progride para macroalbuminúria.

Albumina sérica apresentou tendência decrescente, de modo que os valores do grupo controle, foram significativamente maiores do que os dos DRC 3 e DRC 4 manifestada sendo estatisticamente diferente do controle, exceto no grupo DRC 1. No trabalho de KLOSTERMAN et al. (2011), foi observado que cães com síndrome nefrótica que apresentavam valores da UP/C maiores possuíam menores valores de albumina sérica, podendo até apresentar hipoalbuminemia e ascite.

A pressão arterial sistólica foi significativamente menor no grupo controle, em relação aos DRC, com exceção do grupo DRC 2. Os estádios não apresentaram diferença entre si (**Figura 2**), como apresentado por WEHNER 2008, porém nos estádios essa diferença não foi significativa.

BROWN (2007) menciona que a prevalência da hipertensão pode variar muito em animais com DRC. No estudo de BACIC et al. (2010) a hipertensão foi diagnosticada em 60% dos cães com DRC, concordando com outros estudos prévios. JACOB 2003 menciona que o aumento da pressão é mais comum nos estados avançados da doença. Nesse estudo (**Figura 3**), a avaliação das frequências de distribuição das categorias de hipertensão em cada estágio de DRC, também evidenciaram muita variação de da PAS nos cães DRC com tendência de aumento da magnitude em função do aumento da gravidade da DRC.

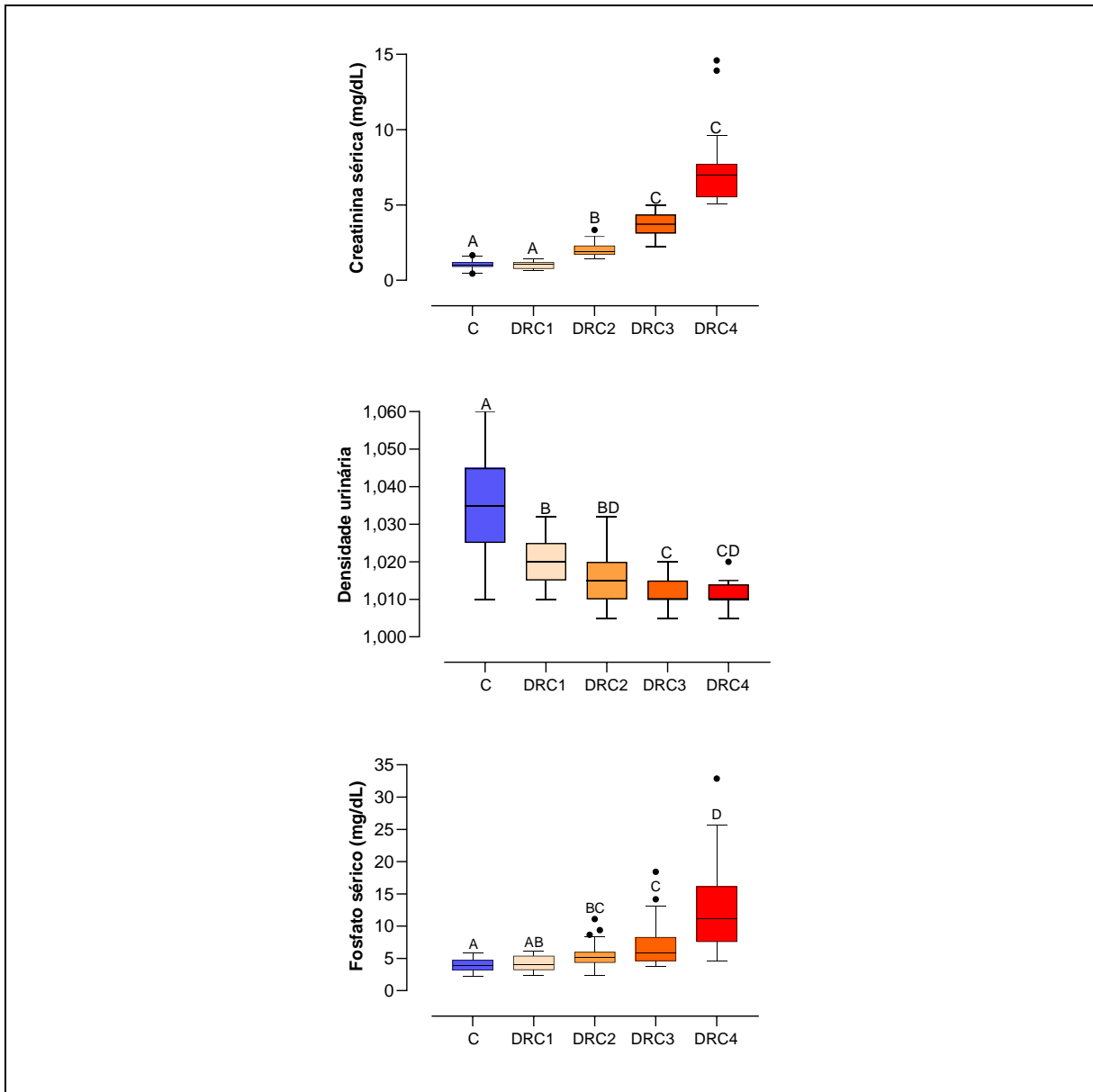


Figura 1. Representações gráficas (Tukey boxplots) das medianas, percentis (75% e 25%), e valores extremos, distribuídos por grupos de cães controle (C, n: 51), e doentes (DRC 1, n: 29), (DRC 2, n: 46), (DRC 3, n: 36), (DRC 4 n: 29). As diferenças significativas estão sinalizadas por letras maiúsculas, acima de cada box. A existência de pelo menos uma letra em comum, indica que não houve diferença significativa entre os grupos (teste Kruskal-Wallis - ANOVA).

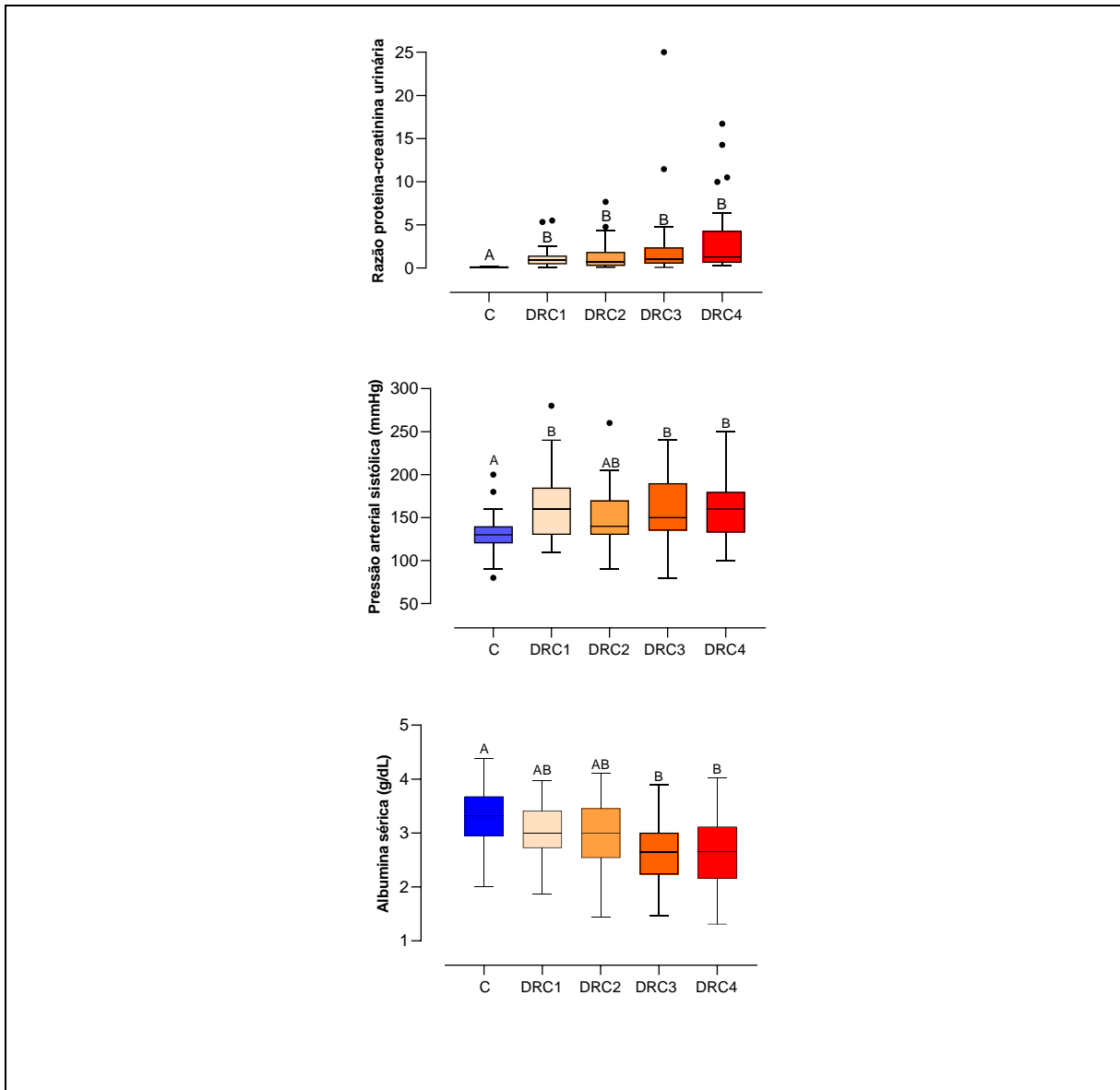


Figura 2. Representações gráficas (Tukey boxplots) das medianas, percentis (75% e 25%), e valores extremos, distribuídos por grupos de cães controle (C, n: 51), e doentes (DRC 1, n: 29), (DRC 2, n: 46), (DRC 3, n: 36), (DRC 4 n: 29). As diferenças significativas estão sinalizadas por letras maiúsculas, acima de cada box. A existência de pelo menos uma letra em comum, indica que não houve diferença significativa entre os grupos (teste Kruskal-Wallis - ANOVA).

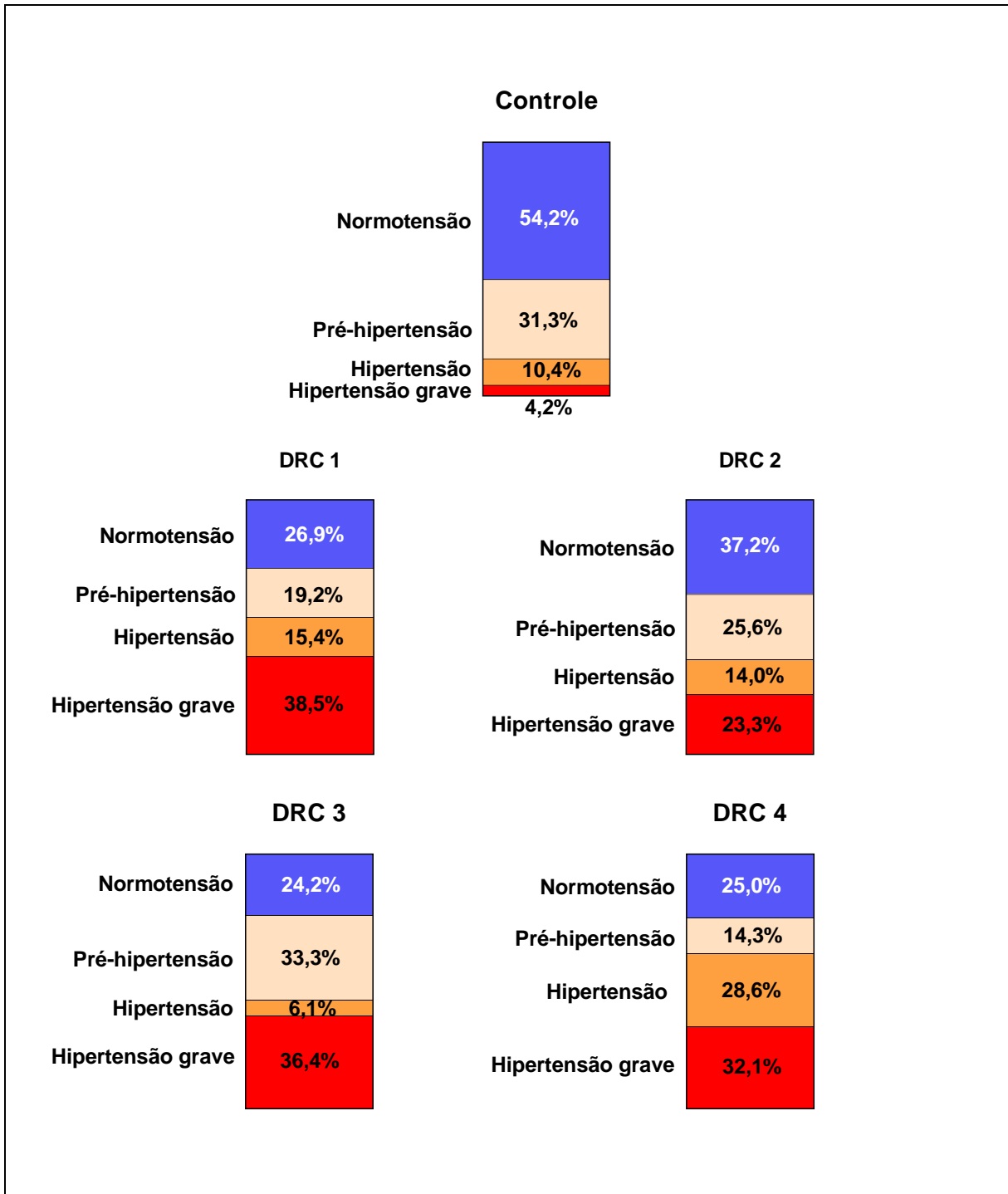


Figura 3. Representação das distribuições de frequência das categorias da pressão arterial sistólica (porcentagem) dos grupos controle e estádios da doença renal crônica (DRC).

Dada a importância da proteinúria como agente causador de lesões adicionais nos glomérulos e túbulos, a UP/C é classificada em categorias de proteinúria para subestadiamento da *IRIS staging of CKD* - 2019. Para esse estudo foi utilizada uma classificação ampliada com intuito de abranger os valores de UP/C >0,5, que são correntes na nefrologia veterinária (**Tabela 2**). Com base nesse subestadiamento foi feita análise de frequência, dos cinco intervalos de magnitude da UP/C, dentro dos estádios da DRC, que estão ilustrados na **Figura 4**. Nota-se o aumento gradativo da intensidade da proteinúria a cada estágio da DRC.

Ao analisar as distribuições dos valores individuais das variáveis tendo como base os dados da sCr apresentados em ordem crescente (**Figura 5**), nota-se que a partir do ponto onde a curva da sCr se acentua a UP/C tende a ter um número maior de valores mais altos. De fato, os percentuais de frequência (**Figura 3**) de proteinúria moderada somado ao de proteinúria grave é 0% no grupo controle e perfazem 16% no DRC 1; 23,9% no DRC 2; 31,4% no DRC 3 e 48,2% no DRC 4. Segundo LESS et al. (2005) e LITTMAN (2011), a perda de néfrons com diminuição da TFG dos doentes próximos do estado terminal, causa redução da proteinúria. Nesse estudo, os pacientes entraram em tratamento imediatamente após a conclusão diagnóstica, portanto o desenho experimental não foi longitudinal. Contudo, foram avaliados pacientes dos quatro estádios da DRC e os resultados não corroborariam a afirmativa de redução da magnitude da proteinúria). Por outro lado, no grupo DRC 4 (Fig. 3) onde se encontram os dados dos pacientes que podem estar em estado terminal, 51,7% apresentavam proteinúria limítrofe ou leve e, pelo menos em parte deles, pode ter havido redução da proteinúria, como já relatado.

Valores de UP/C >2,0 são altamente sugestivos de doença glomerular (Grauer, 2011; Less et al., 2005). Nesse estudo, UP/C >2,0 ocorreu em 28,78% dos cães com DRC, distribuídos nos quatro estádios, perfazendo 12,5% no DRC 1, 27,5% no DRC 2, 27,5% no DRC 3 e 32,5% no DRC 4. Entretanto, considerando as afirmativas sobre a diminuição da magnitude da proteinúria nos casos próximos do estado terminal (Less et al. 2005; Littman, 2011) é plausível supor a existência de um número maior de cães com doença glomerular.

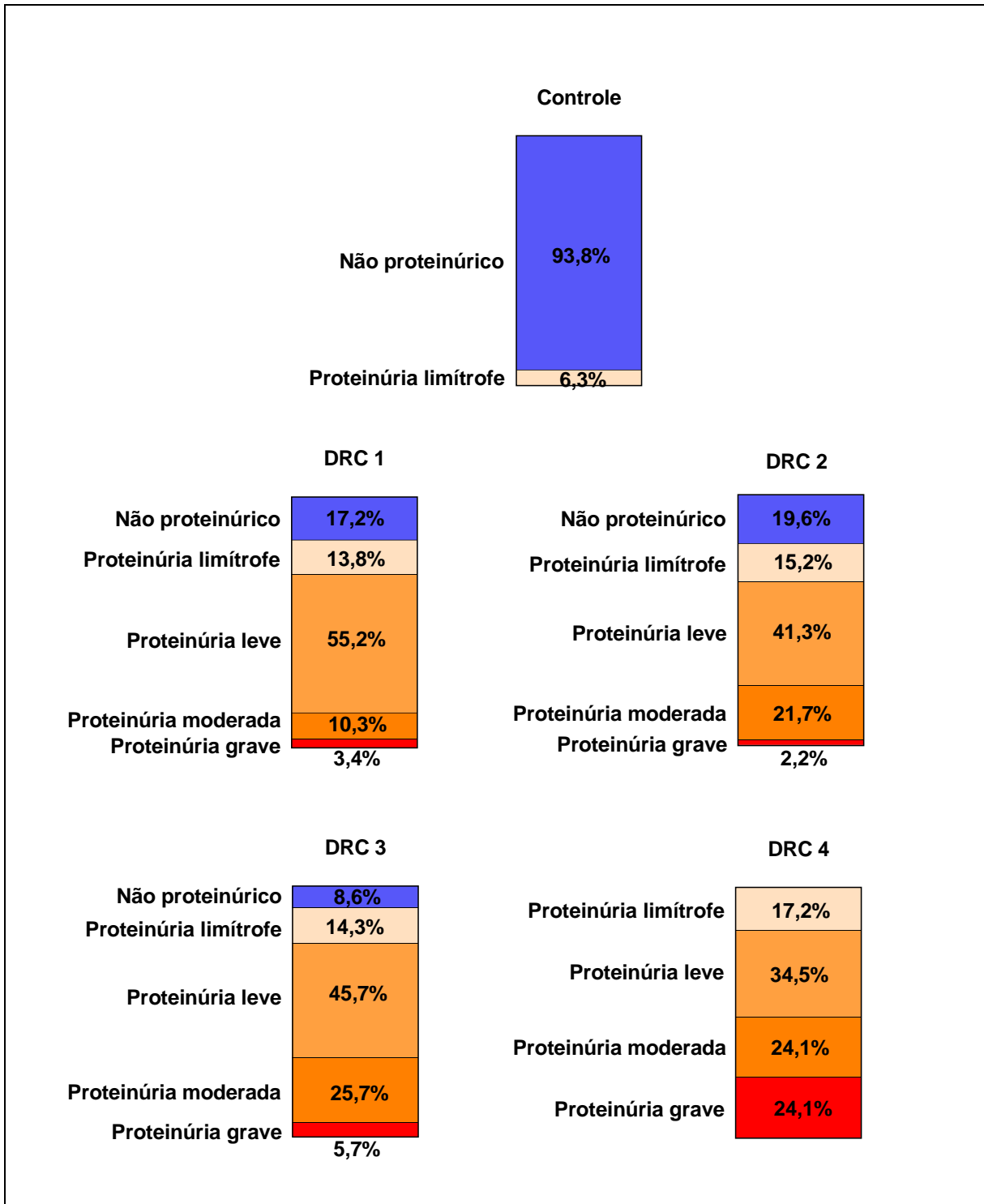


Figura 4. Representação das distribuições de frequência das categorias da proteinúria (porcentagem) dos grupos controle e estádios da doença renal crônica (DRC).

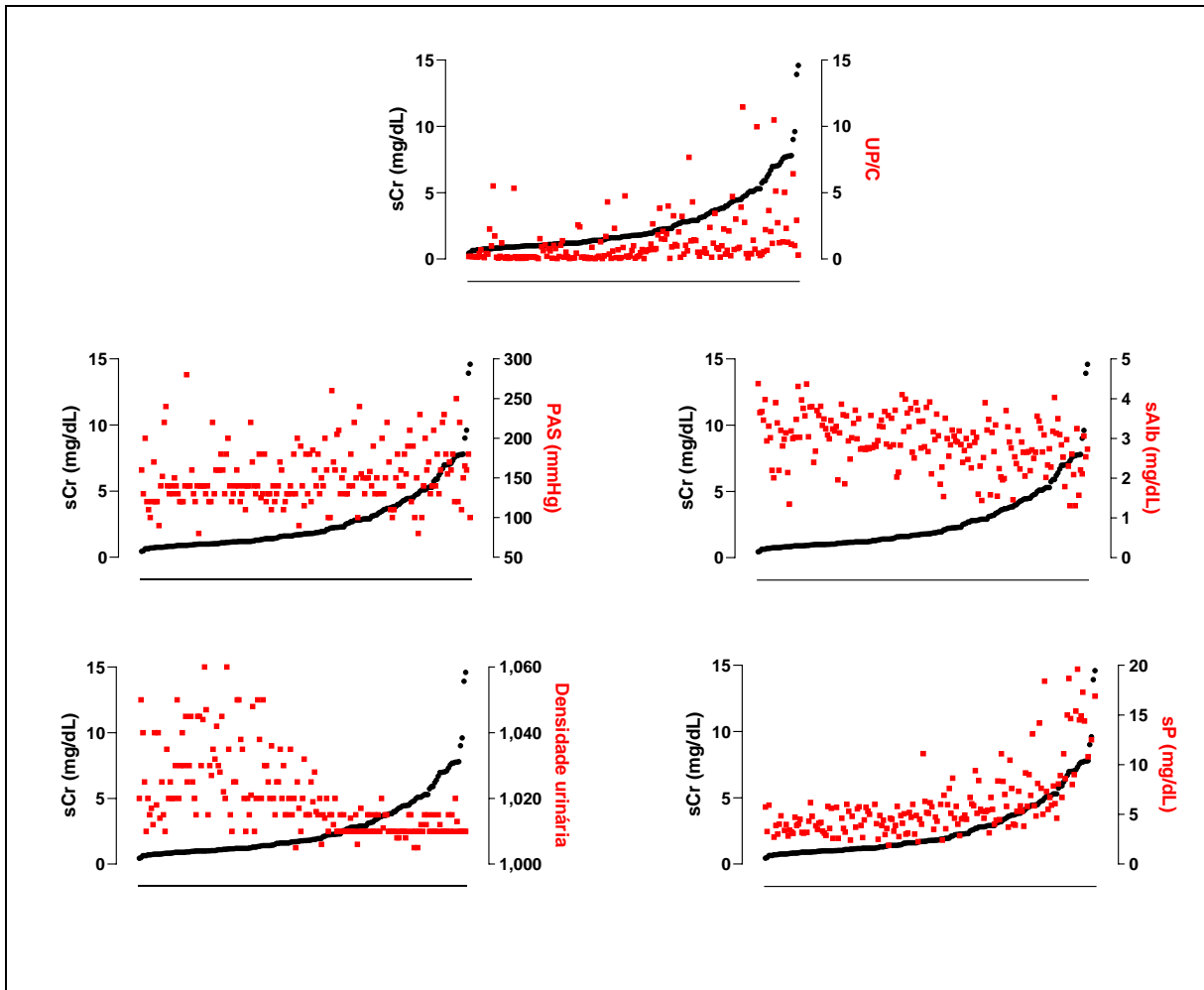


Figura 5. Representação gráfica dos valores individuais de creatinina sérica (sCr) em conjunto com razão proteína/creatinina urinária (UP/C), pressão arterial sistólica (PAS), albumina sérica (sAlb), densidade urinária (DU) e fosfato sérico (sP), para visualização da distribuição das variáveis analisadas em 51 cães saudáveis e 140 cães com doença renal crônica. Os dados foram organizados com base na sCr em ordem crescente.

Como já esperado, houve correlações significativas da creatinina sérica *versus* densidade urinária ($r -0.677$) e creatinina sérica *versus* fosfato sérico ($r 0.684$). Ou seja, em cães com DRC, o aumento da concentração de creatinina sérica cursa com diminuição da densidade urinária e aumento da concentração de fosfato sérico.

Contudo, o teste de correlação de Spearman revelou que a variável proteinúria não mostrou correlação com nenhuma das demais variáveis analisadas. No estudo de BACIC et al. (2010), não foi observada diferença na UP/C de cães normotensos e hipertensos com DRC.

5. CONCLUSÃO

Os resultados desse estudo mostraram que a proteinúria e a pressão arterial sistólica se comportaram como variáveis independentes entre si e em relação às outras variáveis, indo de encontro ao senso comum de associação entre ambas as variáveis.

As variações da magnitude da proteinúria não se mostraram vinculadas ao estágio da DRC

6. REFERÊNCIAS

1. BACIC A., KOGIKA M.M., BARBARO K.C., IUAMOTO C.S., SIMÕES D.M.N. & SANTORO M.L. 2010. Evaluation of albuminuria and its relationship with blood pressure in dogs with chronic kidney disease. **Veterinary Clinical Pathology**, 32 (2), 203-209. doi: 10.1111/j.1939-165x.2009.00207.x.
2. BARTGES J.W. 2012. Chronic kidney disease in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, p. 669-692.
3. BROWN S., ATKINS C., BAGLEY, R., CARR, A., COWGILL, L., DAVIDSON, M., EGNER, B., ELLIOTT, J., HENIK, R., LABATO, M., LITTMAN, M., POLZIN, D., ROSS, L., SNYDER, P. & STEPIEN, R. 2007. Guidelines for the identification, evaluation and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n.3, p. 542-558.
4. CARVALHO M.B. 2020. Semiologia do sistema urinário. In: FEITOSA F.L.F. **Semiologia Veterinária – a arte do diagnóstico**. 4. ed. Rio de Janeiro: Roca. cap. 10, p.364-380.
5. CORTADELLAS O., DEL PALACIO M.J.F., TALAVERA J. & BAYÓN A. 2010. Calcium and phosphorus homeostasis in dogs with spontaneous chronic kidney disease at different stages of severity. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p 73-79.
6. EPPEL G.A., OSICKA T.M., PRATT L.M., JABLONSKI P., HOWDEN B.O., GLASGOW E.F. & COMPER W.D. 1999. The return of glomerular-filtered albumina to the rat renal vein. **Kidney International**, v. 55, p.1861-1870.
7. FINCO D.R., BROWN S.A., BROWN C.A., CROWELL W.A., COOPER T.A. & BARSANTI J.A. 1999. Progression of chronic renal disease in the dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 13, p. 516-528.
8. GRAUER, G. F. 2007. Measurement, Interpretation, and Implications of Proteinuria and Albuminuria. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 37(2), 283–295. doi:10.1016/j.cvsm.2006.11.003
9. GRAUER G.F. 2011. Proteinuria: Measurement and Interpretation, Elsevier, 26, p. 121-127. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2011.04.002>.
10. HARLEY L. & LANGSTON C. 2012. Proteinuria in dogs and cats. **Canadian Veterinary Journal**, 53, p. 631–638.

11. HARRIS R.C. & NEILSON G.E. 2006. Toward a unified theory of renal progression. **Annual Reviews of Medicine**, Palo Alto, v. 57, p. 365-380.
12. HOKAMP J.A., CIANCIOLO R.E., BOGGESS M., LEES G.E., BENALY S.L., KOVARSKY M. & NABITY M.B. 2016. Correlation of Urine and Serum Biomarkers with Renal Damage and Survival in Dogs with Naturally Occurring Proteinuric Chronic Kidney Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.30, p. 591-601.
13. IRIS. International Renal Interest Society. 2019. **Staging Chronic Kidney Disease (CKD) 2019**. Disponível em: < <http://www.iris-kidney.com/pdf/staging-of-ckd.pdf>>.
14. JACOB, F., POLZIN, D. J., OSBORNE, C. A., NEATON, J. D., LEKCHAROENSUK, C., ALLEN, T. A., KIRK, C. A. & SWANSON, L. L. 2003. Association between initial systolic blood pressure and risk of developing a uremic crisis or of dying in dogs with chronic renal failure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 222, p. 322-329
15. JACOB F., POLZIN D.J., OSBORNE C.A., NEATON J.D., KIRK C.A., ALLEN T.A. & SWANSON L.L. 2005. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 226, n. 3, p. 393-400.
16. KLOSTERMAN, E. S. et al. 2011. Comparison of Signalment, Clinicopathologic Findings, Histologic Diagnosis, and Prognosis in Dogs with Glomerular Disease with or without Nephrotic Syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 2, p. 206–214.
17. LESS G.E., BROWN S.A., ELLIOTT J., GRAUER G.F. & VADEN S. L. 2005. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (Small Animal). **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.19, n.3, p. 377-385.
18. LITTMAN, M.P. 2011. Protein-losing nephropathy in small animals. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 41, 31-62. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.09.006>.
19. MANIAK E. & FINCH N. 2018. Chronic kidney disease in cats and dogs: managing proteinúria. **In Practice**. v. 40, p. 266-280.
20. MARYNISSEN S.J.J., WILLENS A. L., PAEPE D., SMETS P.M.Y., PICALET P., DUCHATEAU L., & DAMINET S. 2016. Proteinuria in apparently healthy elderly

- dogs: persistency and comparison between free catch and cystocentesis urine. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 1-9. DOI: 10.1111/jvim.14635.
21. MOYLE P.S., SPECHT A. & HILL R. 2018. Effect of common storage temperatures and container types on urine protein-creatinine ratios in urine samples of proteinuric dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 32, 1652–1658. DOI: 10.1111/jvim.15232.
22. O'NEILL D.G., ELLIOTT J., CHURCH D.B., McGREEVY P.D., THONSON P.C. & BRODBELT, D.C. 2013. Chronic kidney disease in dogs in UK Veterinary Practices: Prevalence, risk factors and survival. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Wiley Library, 27, p.814-821.
23. POLZIN D.J. 2008. Diagnosing & Staging of Chronic Kidney Disease. Disponível em: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11290&catId=33330&id=4252604> . Acesso em 07 Out 2020.
24. POLZIN D.J. 2011a. Chronic kidney disease. In: BARTGES, J.; POLZIN, D. J. **Nephrology and urology of small animals**. Hoboken: Wiley-Blackwell, cap. 48, p. 433-471.
25. POLZIN D.J. 2011b. Chronic kidney disease in small animals. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia. v. 41, p. 15-30.
26. RUDINSKY A.J., HARJES L.M., BYRON J., CHEW D.J., TORIBIO R.E., LANGSTON C. & PARKER V.J. 2018. Factors associated with survival in dogs with chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal medicine**, Ohio. v.32, p. 1977-1982.
27. RUSSO L. M., OSICKA T. M., BRAMMAR G.C., CANDIDO R., JERUMS G. & COMPER, W.D. 2003. Renal processing of Albumin in Diabetes and Hypertension in rats. **American Journal of Nephrology**, Australia, 23: 61-70. doi: 10.1159/000068039.
28. SINGH A., SATCHELL S.C., NEAL C.R., MCKENZIE E.A., TOOKE J.E. & MATHIESON P.W. 2007. Glomerular endotelial glycocalyx constitutes a barrier to protein permeability. **Journal of American Society Nephrology**, 18, p 2885-2893. doi: 10.1681/ASN.2007010119.
29. TRYGGVASON K. & PETTERSSON E. 2003. Causes and consequences of proteinuria: the kidney filtration barrier and progressive renal failure. **Journal of Internal Medicine**, v.254, p. 216-224.

30. VADEN S.L. & ELLIOT J. 2016. Management of proteinuria in dogs and cats with chronic kidney disease. **Veterinary Clinics of Small Animals**, v. 46, p. 1115–1130. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.06.009>.
31. VIEIRA S. 2003. **Bioestatística: tópicos avançados**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 216 p.
32. WEHNER A., HARTMANN J. & HIRSCHBERGER J. 2008. Associations between proteinuria, systemic hypertension and glomerular filtration rate in dogs with renal and non-renal diseases. **Veterinary Record**, v.162, p. 141-147.
33. WHITTEMORE, J.C., GILL, V.L., JENSEN, W.A., RADEKI, S.V. & LAPIN, M.R. 2006. Evaluation of the association between microalbuminuria and the urine albumin-creatinine ratio and systemic disease in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 229(6), 958-963.