



U N I V E R S I D A D E

LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**Fator de Crescimento de Fibroblastos 23 como biomarcador
precoce de hiperfosfatemia em Doença Renal Crónica em
gatos**

Dissertação apresentada a provas públicas para a obtenção do grau de mestre em
Medicina Veterinária, orientada pelo Professor Doutor André Meneses.

Inês Pedro de Almeida, n.º 21901514

2025

www.ulusofona.pt



UNIVERSIDADE
LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**Fator de Crescimento de Fibroblastos 23 como biomarcador
precoce de hiperfosfatemia em Doença Renal Crónica em
gatos**

VERSÃO FINAL

Dissertação defendida em provas públicas na
Universidade Lusófona, Centro Universitário de
Lisboa, no dia 15/01/2025, perante o júri, nomeado
pelo Despacho de Nomeação n.º: 05/2025, de 3 de
janeiro, com a seguinte composição:

Presidente: Prof. Doutora Mariana Batista,

Arguente: Prof. Doutora Sabrina Legatti (Universidade
Lusófona)

Orientador: Prof. Doutor André Meneses

Inês Pedro de Almeida, n.º 21901514

2025

www.ulusofona.pt

Agradecimentos

Agradeço à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, a todos os seus professores e funcionários que contribuíram para a minha formação, pelos conhecimentos e competências que foram transmitindo ao longo deste percurso, que culminaram na elaboração desta tese.

Ao Professor André Meneses, meu orientador, pelo apoio, paciência e confiança que sempre demonstrou durante este projeto e ainda por ser um exemplo a seguir.

A toda a equipa do Laboratório da Universidade que auxiliou este projeto.

A toda a equipa do Hospital Veterinário do Atlântico, em especial ao doutor João Caiano pela paciência, disponibilidade e por todos os ensinamentos.

A toda a minha família, que me apoiou e tornou isto possível e a quem tive de falhar a muitas horas da minha companhia. Em especial aos meus pais, que me proporcionaram este curso, sempre me apoiaram ao longo dele, e que sempre acreditaram que eu ia conseguir.

A todos os colegas, especialmente, à Bá, à Clara, ao Gonçalo, à Mafalda e ao Rodrigo, pelo companheirismo, força e por todos os momentos juntos, o curso não se faz mesmo sozinho.

Ao Afonso, que apesar de ter entrado na minha vida numa fase final deste percurso, foi sem dúvida o meu maior apoio ao longo desta dissertação. Obrigada por me dares a mão e caminhares sempre ao meu lado.

Por fim, ao Dobby, Sasha, Amora, Júlio, Julieta e à Alaska, por todo o amor incondicional e paciência ao longo destes anos. Esta foi por vocês e por mim.

Resumo

A doença renal crônica (DRC) é uma condição comum, irreversível e progressiva em cães e gatos, caracterizada pela perda gradual da função renal e associada a distúrbios metabólicos sistêmicos. Tradicionalmente, biomarcadores como a creatinina sérica e a ureia têm sido utilizados para avaliar a taxa de filtração glomerular (TFG), embora apresentem limitações significativas, especialmente em estádios iniciais da doença. Nos últimos anos, a dimetilarginina simétrica (SDMA) emergiu como um marcador mais sensível para a detecção precoce da disfunção renal. A DRC é frequentemente associada a alterações no metabolismo mineral, incluindo hiperfosfatemia e disfunção mineral óssea, com destaque para o fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23), uma hormona fosfatúrica que desempenha um papel central na regulação do fósforo. Este estudo teve como objetivo avaliar o FGF-23 em gatos com DRC estadiados nos graus I e II, segundo a International Renal Interest Society (IRIS), e correlacioná-lo com outros biomarcadores renais, como creatinina, SDMA e fósforo. A investigação foi conduzida no Hospital Escolar Veterinário de Animais de Companhia da Universidade Lusófona, entre janeiro e agosto de 2024, e incluiu 52 gatos previamente diagnosticados com DRC. Os resultados revelaram que as correlações entre os biomarcadores foram muito fracas, destacando uma relação limitada entre FGF-23, SDMA, creatinina e fósforo nos estádios iniciais da doença. Esses achados sugerem que os biomarcadores analisados avaliam aspetos independentes da função renal, reforçando a importância de seu uso combinado para uma monitorização mais abrangente e precoce. A ausência de correlações fortes também pode estar associada a fatores metodológicos, como a sensibilidade limitada do kit utilizado e o armazenamento prolongado das amostras, que podem ter influenciado os níveis medidos de FGF-23. Conclui-se que, enquanto o FGF-23 pode ser útil como complemento diagnóstico, ele não é suficiente como marcador isolado para avaliar a função renal em gatos com DRC nos estádios iniciais. O uso integrado de biomarcadores tradicionais e emergentes continua a ser essencial para uma abordagem diagnóstica eficaz, permitindo intervenções precoces que possam retardar a progressão da doença e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

Palavras-chave: Fibroblast Growth Factor 23 (FGF-23), disfunção mineral óssea, taxa de filtração glomerular (TFG), hiperfosfatemia, biomarcadores renais, dimetilarginina simétrica (SDMA).

Abstract

Chronic kidney disease (CKD) is a common, irreversible, and progressive condition in dogs and cats, characterized by the gradual loss of renal function and associated with systemic metabolic disorders. Traditionally, biomarkers such as serum creatinine and urea have been used to assess glomerular filtration rate (GFR), although they have significant limitations, particularly in the early stages of the disease. In recent years, symmetric dimethylarginine (SDMA) has emerged as a more sensitive marker for the early detection of renal dysfunction. CKD is often associated with mineral metabolism alterations, including hyperphosphatemia and mineral bone disorder, with fibroblast growth factor 23 (FGF-23) being a key phosphaturic hormone that plays a central role in phosphorus regulation. This study aimed to evaluate FGF-23 in cats with CKD staged in grades I and II, according to the International Renal Interest Society (IRIS), and to correlate it with other renal biomarkers, such as creatinine, SDMA, and phosphorus. The investigation was conducted at the Veterinary Teaching Hospital of Companion Animals at Lusófona University, between January and August 2024, and included 52 cats previously diagnosed with CKD. The results revealed very weak correlations among the biomarkers, highlighting a limited relationship between FGF-23, SDMA, creatinine, and phosphorus in the early stages of the disease. These findings suggest that the biomarkers analyzed assess independent aspects of renal function, emphasizing the importance of their combined use for a more comprehensive and early monitoring. The lack of strong correlations may also be associated with methodological factors, such as the limited sensitivity of the kit used and the prolonged storage of samples, which could have influenced the measured levels of FGF-23. In conclusion, while FGF-23 may be useful as a diagnostic complement, it is not sufficient as a standalone marker for assessing renal function in cats with CKD in its early stages. The integrated use of traditional and emerging biomarkers remains essential for an effective diagnostic approach, enabling early interventions that may slow disease progression and improve patients' quality of life.

Keywords: Fibroblast Growth Factor 23 (FGF-23), mineral bone disorder, glomerular filtration rate, hyperphosphatemia, renal biomarkers, symmetric dimethylarginine (SDMA)

Lista de Abreviaturas

FGF-23 - Fator de Crescimento de Fibroblastos 23, do inglês, fibroblast growth factor 23

CKD - doença renal crónica, do inglês, chronic kidney disease

DRC - doença renal crónica

SDMA - dimetilarginina simétrica, do inglês, symmetric dimethylarginine

PTH - paratormona

TGF - taxa de filtração glomerular

HPSR - Hiperparatiroidismo secundário renal

UPC – proteína/creatinina urinária

DEU - densidade específica da urina

MMA - monometilarginina

ADMA - dimetilarginina assimétrica, do inglês, asymmetric dimethylarginine

NAG - Nacetyl- β -D-glucosaminidase

NGAL - Neutrophil gelatinase-associated lipocalin

RBP - Retinol Binding Protein

GGT - Gama-Glutamil Transferase

DO - Densidade Óptica

Índice

Índice de Figuras	9
Índice de Tabelas	9
Índice de Gráficos.....	9
Parte I – Casuística de Estágio	11
Parte II – Introdução e Revisão Bibliográfica	14
Doença Renal Crônica.....	14
Relevância do Fator de Crescimento de Fibroblastos 23	15
Anatomia e Fisiologia Renal	15
Etiologia	17
Fisiopatologia	17
Apresentação Clínica.....	18
Historial médico	18
Sinais clínicos	18
Exame Físico.....	19
Abordagem diagnóstica.....	19
Estadiamento	22
Estádios	24
Biomarcadores	25
Creatinina.....	26
Ureia	28
Clusterina Urinária.....	28
FGF-23	29
Outros Marcadores.....	30
Tratamento	30
Outros Tratamentos	34
Prognóstico.....	35
Objetivos	36
Parte III - Fator de Crescimento de Fibroblastos 23 como biomarcador precoce de hiperfosfatemia em Doença Renal Crônica em gatos	37

Materiais e Métodos.....	37
1- FGF-23.....	37
2- SDMA - Analizador de Química <i>Catalyst One</i>	38
3- Creatinina e Fósforo.....	38
Resultados.....	42
Discussão	46
Conclusão.....	49
Referências bibliográficas	50

Índice de Figuras

Figura 1 - Representação de um nefrónio (Adaptado de(Evans & De Lahunta, 2012).	16
Figura 2 – Diagrama representativo dos processos a ocorrer em diferentes partes do nefrónio, adaptado de (Aspinall & Campelo, 2020).	18
Figura 3 - Medição da pressão arterial num gato utilizando um monitor de pressão arterial Doppler (Cannon, 2016).	21
Figura 4 - Nefrite intersticial crónica com mineralização distrófica, adaptado de (Holloway & McConnell, 2013).	21
Figura 5 - Vista ventrodorsal do abdómen de um gato com rins pequenos e irregulares (setas). RD = rim direito; RE= rim esquerdo. Adaptado de (Holloway & McConnell, 2013).	22
Figura 6 - Estomatite e glossite urémica numa gata com DRC (Bartges, 2012).	32
Figura 7 - Retinopatia hipertensiva e cegueira numa gata com DRC, pupila direita está dilatada devido ao descolamento da retina e hifema (Bartges, 2012).	33
Figura 8 - Diálise Peritoneal, adaptado de(Ross & Labato, 2013).	35
Figura 9 - Representação do processamento da amostra de FGF-23.	38
Figura 10 - Dispersão da luz branca	39
Figura 11 - Princípios da Fotometria de Absorção	39
Figura 12 - Fórmulas relativas à Absorvância	40
Figura 13 - Absorbâncias e percentagens de transmitância	40
Figura 14 - Sistema de Fotometria.	40

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Distribuição das consultas acompanhadas por especialidade	13
Tabela 2- Sinais específicos de DRC e Sinais de Doença Renal	19
Tabela 3 - Estadiamento da DRC com base nas concentrações de creatinina sanguínea e SDMA, adaptado de IRIS 2023.	23
Tabela 4 - Subestadiamento com base na proteinúria, adaptado de IRIS 2023.	23
Tabela 5 - Subestadiamento com base na pressão arterial, adaptado de IRIS 2023.	24
Tabela 6 – Vantagens e Desvantagens dos Biomarcadores.	26

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Representação gráfica da dispersão mostrando a relação entre creatinina e SDMA, junto com a linha de regressão linear (em vermelho).	43
Gráfico 2 - Representação gráfica da dispersão mostrando a correlação entre as concentrações de fósforo e creatinina nos gatos dos estadios I e II de DRC. A linha vermelha representa a linha de regressão linear, que modela a relação entre essas variáveis.	43

Gráfico 3 - Representação gráfica da correlação entre FGF-23 e creatinina. ($r=-0.08$; $p=0,699$)

..... 44

Gráfico 4 - Representação gráfica da correlação entre FGF-23 e fósforo. ($r=0.11$; $p=0,616$) 45

Gráfico 5 - Representação gráfica da correlação entre FGF-23 e SDMA. ($r=0.02$; $p=0,928$) 45

Parte I – Casuística de Estágio

A autora realizou o estágio curricular no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, no Anicura Hospital Veterinário do Atlântico, em Mafra, sob a orientação do Dr. João Caiano. O mesmo teve uma duração de seis meses, com uma carga horária total de 1010 horas, e decorreu entre os dias 18 de setembro de 2023 e 18 de março de 2024. Durante o período de estágio a autora assistiu a consultas de diversas especialidades.

O estágio decorreu de acordo com um sistema de rotações pelos vários serviços de que o Hospital dispõe, com uma distribuição horária específica. Em média, foram realizadas 8 horas diárias, com horários variáveis em cinco turnos tanto em dias úteis como em fins de semana. Os turnos foram distribuídos da seguinte forma: manhã no internamento (8:30-16:30 horas), manhã (09-17 horas), intermédio (11-19 horas), tarde (14-22 horas) e noite (20-09 horas). Este horário abrangeu seis rotações de áreas, com a duração de duas semanas em cada rotação. As áreas incluíram Internamento e Urgências, Consultas e Imagiologia, Cirurgia Geral, Cirurgia Ortopédica e Cirurgia Minimamente Invasiva, Cirurgia Oncológica e, por fim, Oncologia. Esta rotatividade permitiu vivenciar casuísticas específicas de cada área, abrangendo os vários horários, exceto as noites, que apenas pertenciam à área de Internamento e Urgências. Todas as atividades desempenhadas foram supervisionadas pela equipa médica e/ou de enfermagem.

Ao todo foram realizados 120 turnos, sendo que 50 destes foram realizados no horário da tarde (41%) e 55 foram realizados em Internamento e Urgência (46%). Na área de Internamento e Urgências, a autora realizou várias atividades essenciais. O dia no Internamento iniciava com a passagem dos casos clínicos ao Médico Veterinário e enfermeiro que iam iniciar o serviço. Após a passagem eram sempre realizados os exames clínicos objetivos aos animais internados, bem como a administração das respetivas medicações. Havia ainda outros procedimentos, caso fossem necessários, entre eles a troca de cateter endovenoso, troca de pensos, suplementação de fluidoterapia e colheitas de sangue. Consoante o motivo do internamento, alguns animais necessitavam de exames ou monitorizações mais específicas. A autora teve ainda a oportunidade de discutir a terapêutica prescrita nos vários casos e de elaborar o documento de alta. Outras atividades realizadas pela autora foram: prestação de cuidados de higiene e alimentação, administração de fármacos por diversas vias, colocação, manutenção e remoção de cateteres venosos, colocação de sondas alimentares (esofágicas e nasais), de sondas nasais para oxigenoterapia e respetiva manutenção das mesmas, realização de exames complementares imagiológicos como radiografias e auxílio em ecografias (abdominais e torácicas), toracocentese, abdominocentese e cistocentese para drenagem e recolha de líquidos livres e urinas para análise posterior, colocação e mudança de pensos tal como limpeza e desinfeção

de feridas, além de outros procedimentos necessários para o acompanhamento de cada caso. Em caso de urgências os serviços prestados foram adaptados, sendo que, basearam-se maioritariamente na colocação de cateteres venosos, administração de fármacos de urgência, entubações endotraqueais e gástricas, manobras de ressuscitação cardiorrespiratória e algalias. A oportunidade permitiu participar na passagem e revisão de casos clínicos, bem como na discussão e desenvolvimento de protocolos terapêuticos e ainda um aprimoramento significativo do raciocínio clínico.

Na área de Medicina e Imagiologia foram prestados serviços nas diversas áreas da medicina de animais de companhia sendo que a casuística de cada um dos tipos de consultas é relativamente diferente. A autora teve oportunidade de iniciar as consultas, realizar a anamnese e o exame clínico objetivo do animal consultado, elaborar a lista de problemas e discutir com o Médico Veterinário assistente qual a abordagem ao diagnóstico bem como o plano diagnóstico e terapêutico mais adequado a cada caso. Teve ainda a oportunidade de administrar fármacos por diversas vias e realizar exames complementares, como análises sanguíneas, citologias e exames imagiológicos, e ajudar na contenção dos animais. Na tabela 1 é possível visualizar a distribuição das consultas acompanhadas por especialidade, tendo sido observadas no total 264 consultas, a maioria de Medicina Interna (26,5%) e de Imagiologia (19,6%).

No serviço de Oncologia, para além da consulta de oncologia são realizados protocolos de quimioterapia. A autora teve oportunidade de, em várias consultas, auxiliar na realização da anamnese e exame clínico objetivo dos animais consultados bem como discutir com o Médico Veterinário assistente os protocolos terapêuticos a instituir consoante o caso e a requisição de análises sanguíneas e/ou histopatológicas e ainda a realização de diversos exames complementares (maioritariamente análises sanguíneas, radiografias torácicas, ecografias abdominais e citologias por punções aspirativas de agulha finas). Nestas consultas, foi possível observar a realização de diversos diagnósticos oncológicos, a realização de planos de tratamento e a realização de quimioterapias.

Nas diferentes áreas de cirurgia, Cirurgia Geral, Cirurgia Ortopédica, Mínima Invasiva e Cirurgia Oncológica, o apoio dado, foi igual em todas. A autora teve oportunidade de acompanhar os casos a nível pré-cirúrgico, intra-cirúrgico e pós-cirúrgico. Antes da cirurgia, as funções da autora consistiam em receber os animais, confirmar o seu peso e prepará-los para o procedimento. A preparação incluía a colocação do cateter endovenoso adequado e subsequente administração de fluidoterapia, administração da pré-medicação e indução anestésica, entubação endotraqueal, tricotomia e assepsia da região a ser intervencionada. As principais funções assumidas durante as cirurgias foram como circulante, ajudante na

monitorização anestésica e ajudante de cirurgião. No recobro, o apoio baseava-se na monitorização do animal e na realização de exames necessários.

Tabela 1 - Distribuição das consultas acompanhadas por especialidade

Especialidade	Frequência absoluta	Frequência Relativa
Medicina Interna	70	26,5%
Imagiologia	52	19,6%
Dermatologia	43	16,3%
Urgências	25	9,5%
Medicina Preventiva	23	8,7%
Cardiologia	19	7,2%
Ortopedia	14	5,3%
Oncologia	11	4,2%
Oftalmologia	6	2,3%
Exóticos	1	0,4%
Total	264	100%

Resumindo, ao longo de todo o estágio foi sempre oferecida a oportunidade de participar em todos os procedimentos realizados e foi concedida autonomia na execução de muitos destes procedimentos. Este estágio proporcionou uma oportunidade para aplicar os conhecimentos adquiridos ao longo do curso, através de discussões interativas que estimularam o raciocínio clínico, essencial para a prática futura da profissão. Além disso, ajudou no desenvolvimento de habilidades de comunicação com os tutores, adaptando o discurso aos diferentes tutores de acordo com a sua apresentação emocional ou contexto socioeconómico, algo fundamental nesta área profissional.

A escolha do local de estágio foi motivada pelo facto de se tratar de um dos maiores Hospitais Veterinários de referência de Portugal, conhecido pelo serviço de excelência, ampla variedade de casos e diversos meios complementares de diagnóstico disponíveis. Ainda pelo facto de integrar uma equipa multidisciplinar e aprender a trabalhar em equipa num ambiente de trabalho onde uma boa coordenação é fundamental, sendo uma grande mais valia para o futuro profissional da autora.

Parte II – Introdução e Revisão Bibliográfica

Doença Renal Crônica

A doença renal crônica (DRC) caracteriza-se por anormalidades estruturais e/ou funcionais de um ou ambos os rins, continuamente, durante três meses ou mais, e, é a doença renal mais frequentemente diagnosticada em gatos. Os rins de animais com DRC apresentam diminuição permanente no seu número de nefrônios funcionais (Polzin, 2011).

É uma doença irreversível, progressiva e com elevada morbidade em animais, sendo que, até 80% dos gatos com mais de 15 anos são afetados, considerando-se uma das principais causas de morte em gatos geriátricos (Chen et al., 2020; Grelová et al., 2022).

Fatores de risco demográficos anteriormente identificados para DRC incluem idade avançada e a doença periodontal (O'Neill et al., 2013). Outros fatores incluem: vacinas, hipertensão, proteinúria e doença renal aguda. Devido à falta de marcadores sensíveis precoces da diminuição da função renal, a DRC em gatos é frequentemente diagnosticada tardiamente, quando o comprometimento funcional excede os mecanismos compensatórios e já ocorreram danos irreversíveis no parênquima renal (Chen et al., 2020).

A DRC com disfunção mineral e óssea é um distúrbio sistêmico que afeta o metabolismo hormonal e mineral devido a um distúrbio na homeostase do cálcio-fósforo que ocorre como resultado da perda da capacidade de excreção renal de fósforo. A perda de nefrônios funcionais resulta numa redução na taxa de filtração glomerular, levando à diminuição da excreção plasmática de fósforo. Nos estádios iniciais da DRC, um mecanismo de compensação mantém as concentrações de fósforo plasmáticas dentro dos limites fisiológicos pelo aumento da produção de paratormona (PTH) e fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23), aumentando a excreção renal de fósforo (Grelová et al., 2022). A hiperfosfatemia é um distúrbio metabólico, conhecido por ser um fator de prognóstico negativo na DRC, daí a importância da prevenção e do manejo para o aumento de esperança de vida (Miyakawa et al., 2021). Os rins estão envolvidos na homeostase de todo o corpo, motivo pelo qual a DRC afeta muitos sistemas orgânicos, está associada a muitos distúrbios metabólicos e afeta o bem-estar (Bartges, 2012).

A doença renal aguda (DRA) é caracterizada por deterioração abrupta da função renal e as principais causas incluem medicamentos nefrotóxicos, como anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) e quimioterápicos, infecções, vasculite, cirurgia, neoplasia e bloqueio do trato urinário por cálculos. Após DRA, a função renal pode ser totalmente recuperada nos pacientes sobreviventes; pode haver recuperação incompleta resultando em DRC; pode haver exacerbação da DRC preexistente, acelerando a sua progressão; ou pode não ocorrer

recuperação completa sendo necessária terapia de substituição renal permanente; ou morte (Yerramilli et al., 2016).

Relevância do Fator de Crescimento de Fibroblastos 23

O fator de crescimento de fibroblastos 23 (“fibroblast growth factor-23”, FGF-23) funciona como uma hormona reguladora do fósforo em resposta à hipofosfatemia e hiperfosfatemia. Portanto, um distúrbio do metabolismo do fósforo pode aparecer antes que a hiperfosfatemia relacionada à DRC seja aparente. A medição do FGF-23 sérico pode ser uma ferramenta útil para monitorizar a homeostase do fósforo e distúrbios hipofosfatêmicos ou hiperfosfatêmicos (Lin et al., 2021).

O marcador FGF-23 é agora oferecido como análise diagnóstica por laboratórios comerciais para auxiliar na monitorização do tratamento da DRC (Elliott et al., 2023).

Todos os pacientes diagnosticados no estadio I da DRC e uma alta proporção de gatos diagnosticados no estadio II da DRC apresentam concentrações plasmáticas de creatinina dentro do intervalo de referência laboratorial, sendo o diagnóstico da DRC feito com base noutros achados clínicos e laboratoriais. A maioria destes animais terá concentrações plasmáticas de fósforo abaixo do limite superior do intervalo alvo (2,7 - 4,6mg/dl) da *Sociedade Internacional de Interesse Renal* (IRIS) para o seu estadio. As concentrações plasmáticas de FGF-23 poderiam assim ser usadas para ajudar a determinar quais destes gatos beneficiarão da restrição dietética de fósforo. Além disso, a medição basal do FGF-23 plasmático nestes pacientes permite avaliar a sua resposta ao tratamento (Elliott et al., 2023). Estudos realizados em 2013, demonstraram que gatos azotêmicos normofosfatêmicos, quando transferidos para uma dieta restrita em fósforo, tiveram uma redução na concentração plasmática de FGF-23 em 4 a 8 semanas depois. (Elliott et al., 2023).

Anatomia e Fisiologia Renal

Os rins são órgãos pares situados a nível retroperitoneal no abdômen cranial, cada um deles latero-ventral à coluna vertebral, geralmente entre as terceira e quinta vértebras lombares, apresentando um formato aproximadamente oval e dimensões do eixo crânio-caudal entre os 3 cm e os 4,5 cm (Aspinall & Cappello, 2020; Griffin, 2020). Em animais saudáveis, o rim direito apresenta-se ligeiramente cranial e à esquerda, porque o estômago evoluiu para ficar no lado esquerdo do abdômen, empurrando o rim esquerdo caudalmente (Aspinall & Cappello, 2020).

Os rins apresentam um lado convexo e outro côncavo, no qual se situa o hilo, onde entram e saem vasos sanguíneos, entram nervos e saem os ureteres. É coberto por uma cápsula, de tecido conjuntivo denso e à secção longitudinal apresenta duas regiões distintas: córtex - região mais externa e medula - região mais interna (Dyce et al., 2010; Junqueira &

Carneiro, 2013) A medula é constituída por pirâmides medulares, de cujas bases saem os raios medulares em direção à região cortical. Um lobo é formado por cada pirâmide medular em junção com a região cortical que lhe está adjacente (Dyce et al., 2010). Um lóbulo é constituído por um raio medular e pelo tecido cortical adjacente e é delimitado pelas artérias interlobulares. Cada túbulo urinífero é composto por duas porções funcionais: o nefrónio e o túbulo coletor (Junqueira & Carneiro, 2013). É no córtex que está presente a unidade funcional do rim onde ocorre o processo de filtração e produção da urina, o nefrónio. O rim canino e felino pode conter até 400.000 e 500.000 destas unidades, respetivamente (König & Liebich, 2005). O nefrónio inclui o corpúsculo renal (composto pelo glomérulo renal e pela cápsula de Bowman), o tubo contornado proximal, porção espessa e fina da ansa de Henle e o tubo contornado distal. Cada corpúsculo renal apresenta dois polos: o pólo vascular ou proximal que permite a entrada da arteríola aferente e a saída da arteríola eferente, e o pólo urinário ou distal por onde surge o tubo contornado distal (Junqueira & Carneiro, 2013).

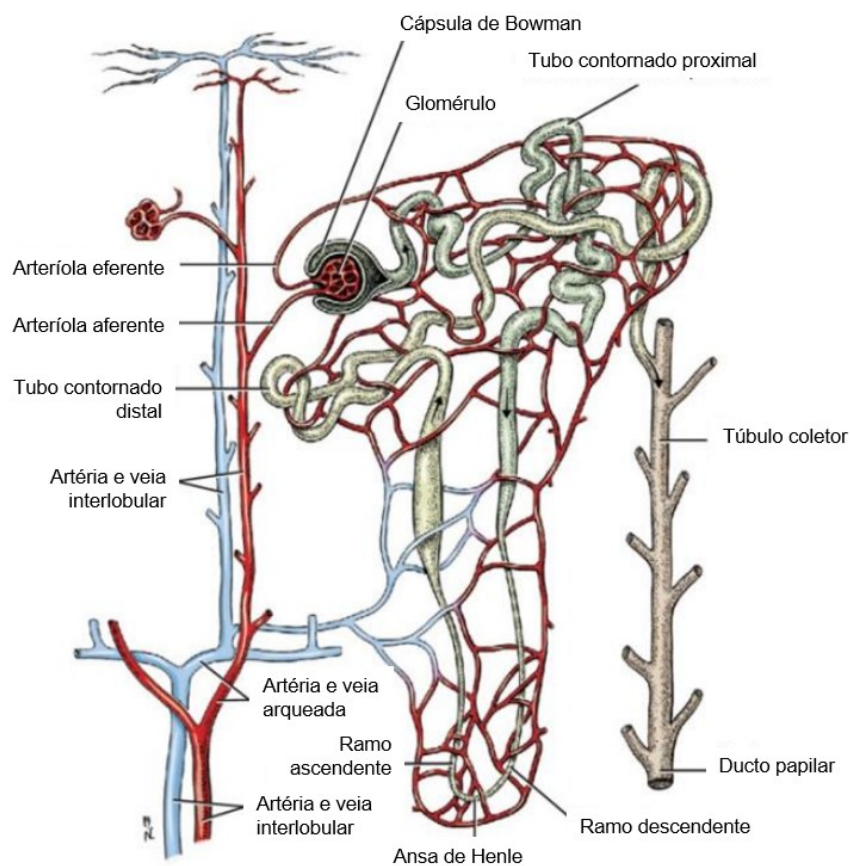


Figura 1 - Representação de um nefrónio (Adaptado de(Evans & De Lahunta, 2012).

Etiologia

A DRC é um processo fisiopatológico multifatorial que resulta na perda progressiva de nefrônios em número e função, culminando frequentemente em doença renal terminal (Khan & Khan, 2015). Noutras espécies, pensa-se geralmente que uma doença renal primária é o fator iniciador da DRC e esta doença primária é frequentemente referida como a causa da DRC. Em gatos foram identificadas uma variedade de doenças renais primárias que podem causar DRC, por exemplo: amiloidose, displasia renal juvenil, alimentação prolongada com dietas desequilibradas, linfoma, doença renal poliquística, pielonefrite bacteriana, nefrolitíase e ureterolitíase, infeção crónica devido a imunodeficiência felina, leucemia felina, vírus da peritonite infecciosa felina, glomerulonefrite por imunocomplexos e ainda doença renal aguda (Brown et al., 2016).

O envelhecimento apresenta várias evidências, talvez causais, que suportam a sua ligação com a DRC: aumento da prevalência de DRC em gatos mais velhos, aumento da prevalência de esclerose glomerular nos rins de gatos geriátricos, comprimento reduzido dos telómeros em gatos idosos com DRC, aumento da prevalência de comorbilidades em gatos mais velhos, particularmente as que afetam os rins, como o hipertiroidismo, a hipertensão sistémica, as doenças dentárias e as doenças inflamatórias intestinais (IRIS, 2023).

Fisiopatologia

Em gatos, o modelo de patogenia da DRC propõe que o início da doença se deve à ação de um ou mais estímulos que despoletam alterações estruturais e funcionais no rim. Não ocorrendo resolução destes estímulos, há comprometimento do equilíbrio homeostático e são ativados mecanismos de compensação devido à perpetuação das agressões (Brown et al., 2016).

A fisiopatologia da DRC pode ser considerada tanto a nível orgânico como sistémico. A nível renal, o mais comum é a perda de nefrônios e consequente diminuição da taxa de filtração glomerular. A redução da taxa de filtração glomerular resulta num aumento das concentrações plasmáticas de substâncias que são normalmente eliminadas por via de excreção renal (Figura 2). Visto que, além de excretarem resíduos metabólicos e permitirem a manutenção de fluidos e equilíbrio de eletrólitos, os rins também funcionam como órgãos endócrinos, distúrbios hormonais fazem parte da patogénese de distúrbios sistémicos associados à DRC. Parte da fisiopatologia da DRC é também provocada por mecanismos compensatórios. A taxa de filtração glomerular de nefrônios intactos aumenta na tentativa de manter uma função renal adequada, isto resulta num aumento da pressão intraglomerular, levando a danos glomerulares e intersticiais (Grauer, 2015).

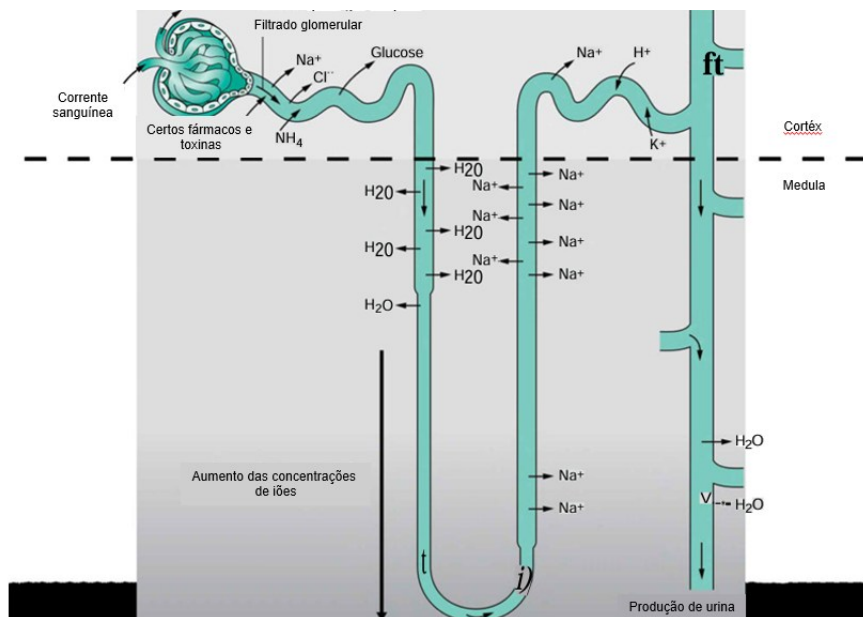


Figura 2 – Diagrama representativo dos processos a ocorrer em diferentes partes do nefrônio, adaptado de (Aspinall & Campelo, 2020).

Apresentação Clínica

Historial médico

A realização de uma anamnese e de um exame físico completos e minuciosos é imprescindível para um correto diagnóstico destes animais, tendo também em conta que a maioria dos sinais por estes exibidos são inespecíficos e que estes sinais se evidenciam com a progressão da doença (Cannon, 2016). Normalmente na anamnese é apresentada a poliúria (PU) e a polidipsia (PD) compensatória, sendo esta o estímulo iatrotrópico mais comum. Estas surgem na sequência da incapacidade em concentrar a urina que ocorre quando a perda de nefrônios é de cerca de 67% (Polzin D., 2017). Um historial médico completo desempenha duas funções essenciais: ajuda a determinar um plano de ação avaliando a gravidade da poliúria e polidipsia, dieta, apetite, alterações da massa corporal e nível de energia, e fornece uma linha de base – o grau de doença inicial, para usar como comparação após a implementação de terapêutica (Foster, 2013).

Sinais clínicos

Os sinais clínicos da DRC podem não estar presentes nos estádios iniciais e, quando presentes em estádios mais tardios, geralmente são inespecíficos (Grauer, 2015). Como a isostenúria e a azotemia não se desenvolvem até 66% e 75% de perda de nefrônios, respetivamente, a maior parte da função renal foi perdida quando o início dos sinais clínicos. Sinais específicos de DRC, contrastando com doença renal aguda, incluem uma longa história perda de peso, polidipsia/poliúria e baixa condição corporal (Grauer, 2015). Alguns sinais clínicos de DRC são relacionados com o trato gastrointestinal, por exemplo, anorexia, náusea,

vômito, melena, halitose e diarreia. Outros sinais clínicos inespecíficos incluem perda muscular e perda de peso, letargia, fraqueza e incontinência urinária. (Grelová et al., 2022).

(Tabela 2).

Tabela 2- Sinais específicos de DRC e Sinais de Doença Renal

Sinais Inespecíficos de DRC (Grauer, 2015)	Sinais de Doença Renal (Grelová et al, 2022)
Perda de peso	Anorexia
Polidipsia	Náusea
Poliúria	Diarreia
Baixa condição corporal	Vômito
-	Fraqueza
-	Letargia
-	Incontinência Urinária

Exame Físico

Durante um exame físico em pacientes com suspeita, ou com DRC confirmada, é necessária especial atenção ao índice de condição corporal, estado cardiovascular, sinais de desidratação e palpação renal. A perda muscular pode indicar mau estado nutricional. Novos sopros cardíacos podem indicar um sopro fisiológico devido a anemia ou hipertensão. A desidratação é comum em estádios mais avançados da DRC, normalmente resultando da incapacidade dos pacientes em ingerir água suficiente para compensar o aumento das perdas urinárias. A avaliação do tamanho e formato renal e da presença de dor deve ser sempre realizada (não pela DRC mas para doenças concomitantes), mas pode ser difícil em cães de raças médias ou grandes (Foster, 2013).

Abordagem diagnóstica

A *International Renal Interest Society* (IRIS) foi criada para um avanço na compreensão científica das doenças renais em pequenos animais. Um dos principais objetivos da organização é estabelecer um conjunto de diretrizes reconhecido internacionalmente sobre o diagnóstico e avaliação de doenças renais em pequenos animais e em conjunto com estas, foram também desenvolvidas orientações sobre o tratamento de casos de DRC (IRIS, 2023). A IRIS recomenda nas suas normas de orientação que a abordagem ao diagnóstico da DRC inclua a realização de anamnese e exame físico geral,

exames laboratoriais, nomeadamente análise de urina do tipo II e rácio proteína: creatinina urinária (UPC), hemograma e perfil bioquímico; avaliação da pressão sanguínea sistólica; e exames complementares de diagnóstico, como ecografia ou, em casos particulares, biópsia renal. Além de permitirem chegar ao diagnóstico, estes procedimentos têm também utilidade na identificação e tratamento de possíveis comorbilidades e complicações decorrentes da doença (Sparkes et al., 2016).

A base de dados laboratorial mínima para triagem de DRC consiste em creatinina sérica, SDMA, densidade específica da urina (DEU), medições de proteinúria e de pressão arterial. Os parâmetros físicos e laboratoriais devem ser comparados com valores obtidos em exames anteriores de modo a detetar alterações clinicamente relevantes. O aumento das concentrações séricas de creatinina, mesmo dentro do intervalo de referência, pode indicar doença renal, particularmente em gatos com perda de peso ou perda muscular ou DEU consistentemente abaixo de 1.035. No entanto, muitos fatores influenciam a DEU e as flutuações diárias podem ser encontradas em animais saudáveis. Assim, baixa DEU sem outros indicadores de DRC não sugere necessariamente doença renal (Paepe & Daminet, 2013).

Historial médico e achados clínicos sugestivos da DRC, como perda de peso, desidratação, poliúria e polidipsia, hipertensão ou baixa DEU, justificam investigação (Sparkes et al., 2016). Um biomarcador simples e preciso para avaliar a função renal não existe atualmente. Assim, na prática clínica, a combinação de azotemia e uma DEU inadequadamente baixa, são rotineiramente utilizadas para diagnosticar DRC (Sparkes et al., 2016).

A medição da pressão arterial (Figura 3), um hemograma completo, com contagem de reticulócitos, perfil bioquímico sérico com eletrólitos e medição ácido-base, urianálise e rácio proteína creatinina na urina, cultura de urina e teste de suscetibilidade a antimicrobianos, recurso a imagens (ecografia e/ou radiografias), são ainda complementos ao diagnóstico (Foster, 2013).



Figura 3 - Medição da pressão arterial num gato utilizando um monitor de pressão arterial Doppler (Cannon, 2016).

Uma vez diagnosticada a DRC, o recurso a imagiologia pode revelar uma causa subjacente, particularmente em gatos com renomegália unilateral ou bilateral ou óbvia assimetria no tamanho dos rins. Causas que podem ser detetadas são rins poliquísticos, nefrocalcinose e neoplasia renal (Paepe & Daminet, 2013).

A ecografia (Figura 4) oferece informações detalhadas sobre a arquitetura renal interna. Achados ecográficos tipicamente encontrados em gatos com DRC: rins de tamanho pequeno e de contorno irregular, aumento da ecogenicidade cortical e/ou medular, perda da diferenciação corticomedular, áreas de mineralização e pobre visualização da arquitetura interna. No entanto, não há correlação entre achados ecográficos e o grau de doença renal. Além disso, porque anormalidades ecográficas renais são frequentemente observadas em gatos saudáveis, mais pesquisas sobre a relevância clínica dessas alterações renais são necessárias.

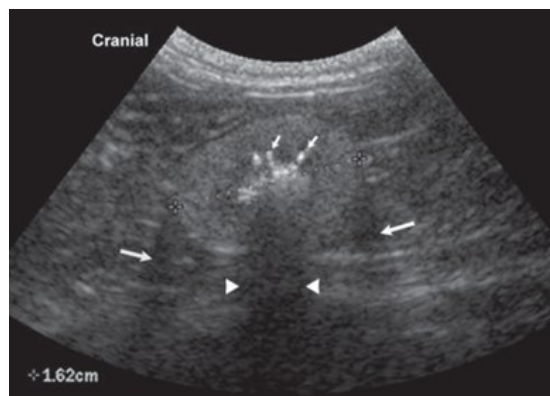


Figura 4 - Nefrite intersticial crónica com mineralização distrófica num gato, adaptado de (Holloway & McConnell, 2013).

A radiografia abdominal (Figura 5) permite avaliar o tamanho renal e pode revelar urólitos, sendo que, radiografia contrastada (não em doentes renais) pode melhorar a detecção e localização dos urólitos (Paepe & Daminet, 2013).

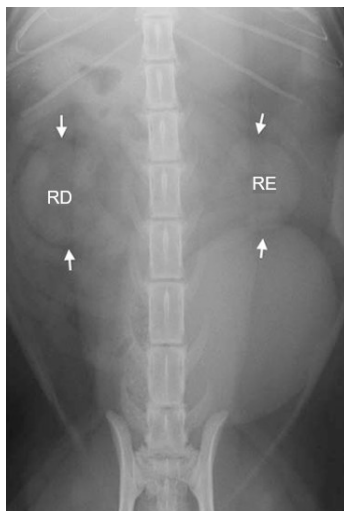


Figura 5 - Vista ventrodorsal do abdômen de um gato com rins pequenos e irregulares (setas). RD = rim direito; RE= rim esquerdo. Adaptado de (Holloway & McConnell, 2013).

Estadiamento

A IRIS é composta por um painel de veterinários especialistas, na área da nefrologia, cujo objetivo é ajudar os veterinários a melhorar o diagnóstico e tratamento das doenças renais do cão e do gato (IRIS, 2023). Com esse objetivo, tem vindo a desenvolver *guidelines* internacionalmente reconhecidas para o diagnóstico e tratamento da doença renal em animais de companhia. À data estão disponíveis *guidelines* para classificação da IRA e para o estadiamento e tratamento da DRC. Estes são considerados trabalhos em progresso, e como tal são regularmente atualizados na sua página de internet (IRIS, 2023). Foi desenvolvido um sistema de classificação para estadiar cães e gatos com DRC e adotado pelas Sociedades Americana e Europeia de Nefrologia e Urologia Veterinária (Paepe & Daminet, 2013). O sistema de quatro níveis é baseado nos níveis séricos de creatinina e SDMA e o subestadiamento pela proteinúria e pressão arterial (Polzin, 2011). O sistema define quatro estadios de DRC sendo o estadio I o mais brando e o estadio IV o mais grave ou doença em fase terminal (tabela 3) (Cannon, 2016). Deste modo, facilita um diagnóstico, prognóstico e tratamento apropriados (Polzin, 2011). Os objetivos do estadiamento são padronizar e simplificar a nomenclatura, facilitar o tratamento e monitorização, fornecendo recomendações terapêuticas direcionadas em cada estadio da doença e para auxiliar no prognóstico de pacientes com DRC (Paepe & Daminet, 2013). O estadio da DRC é baseado na função renal

medida pelas concentrações séricas de creatinina e SDMA do paciente. Apenas pacientes estáveis podem ser estadiados (ou seja, hidratados, com comportamento alimentar/bebida normal), preferencialmente após 12 horas de jejum com livre acesso à água (Paepe & Daminet, 2013; Polzin, 2011). A azotemia pré-renal ou pós-renal necessita ser corrigida antes do estadiamento para evitar a classificação incorreta de gatos em um estadio mais elevado da doença com pior prognóstico (Paepe & Daminet, 2013). O estadio de DRC, pode ser ainda, caracterizado pela amplitude da proteinúria, medido pela UPC e pressão arterial (tabelas 4 e 5) (Polzin, 2011). Para o subestadiamento da proteinúria, apenas a proteinúria renal persistente é de importância. O sistema de subestadiamento da pressão arterial reflete o risco de lesão de órgão-alvo que surge nos olhos, cérebro, rins ou coração. Devem ser tomados esforços minimizar a hipertensão causada pelo stress da consulta e a pressão arterial deve ser medida duas a três vezes durante várias semanas (Paepe & Daminet, 2013).

Tabela 3 - Estadiamento da DRC em gatos com base nas concentrações de creatinina sanguínea e SDMA, adaptado de IRIS 2023.

Estadio	Creatinina mg/dl	SDMA µg/dl
I	<1,6	<18
II	1.6 – 2.8	18 - 25
III	2.9 – 5.0	26 – 38
IV	>5.0	>38

Tabela 4 – Subestadiamento em gatos com base na proteinúria, adaptado de IRIS 2023.

Rácio Proteína/Creatinina Urinária	Subestadio
<0.2	Não proteinúrico
0.2-0.4	<i>Borderline</i> proteinúrico
>0.4	proteinúrico

Tabela 5 - Subestadiamento com base na pressão arterial, adaptado de IRIS 2023.

Pressão Arterial Sistólica	Subestadio	Risco de Lesão em Órgãos-Alvo
<140	Normotenso	Mínimo
140-159	Pré Hipertenso	Baixo
160-179	Hipertenso	Moderado
>180	Severamente Hipertenso	Alto

Estádios

Estadio 1: Doença renal assintomática e não azotêmica. Creatinina inferior a 1,6 mg/dl, mas danos renais estão presentes. Nesta fase o tratamento visa reverter a principal causa da doença renal, se esta for conhecida (Cannon, 2016).

Estadio 2: Estadio que demonstra os primeiros sinais de doença renal. Creatinina na faixa de 1,6 a 2,8 mg/dl, incluindo gatos com creatinina no topo do intervalo de referência até a gatos com azotemia leve a moderada. O tratamento visa reverter a causa primária se for conhecida, e também prevenir a progressão da doença – com particular referência para identificar e gerir a hiperfosfatemia, proteinúria e hipertensão. É importante uma monitorização regular (por exemplo, cada três a seis meses) dos principais parâmetros clínicos, de modo a permitir que o plano de tratamento seja ajustado à medida que a doença progride (Cannon, 2016).

Estadio 3: Doença renal crónica com azotemia moderada a grave. Creatinina na faixa de 2,9 a 5,0 mg/dl $\mu\text{mol/l}$. O tratamento visa prevenir a progressão, igual ao estadio 2 da doença, mas porque neste estadio a azotemia se torna mais grave, começa a produzir sinais por si só e estes necessitam também de ser abordados. Por exemplo, através de dietas com restrição de proteína, fluidoterapia subcutânea, antieméticos e assim por diante (Cannon, 2016).

Estadio 4: Doença renal grave a terminal. Creatinina acima de 5 mg/dl. A prevenção da progressão é menos provável, e menos relevante, o tratamento visa principalmente

controlar a azotemia e complicações associadas e melhorar a qualidade de vida (Cannon, 2016).

Biomarcadores

Um biomarcador é definido como um indicador físico, funcional ou bioquímico de um processo fisiológico ou de doença que tem utilidade diagnóstica e/ou prognóstica com a capacidade de ser medido com precisão e reprodutibilidade (Yerramilli et al., 2016).

Os biomarcadores tradicionais de doença renal são úteis no diagnóstico e monitorização da doença, no entanto, todos eles têm uma série de limitações. Eles podem ser geralmente divididos em marcadores de taxa de filtração glomerular (TFG) ou marcadores de dano e/ou disfunção glomerular ou tubular (Nabity, 2018).

A medição direta da TFG é o padrão ouro para avaliação quantitativa da filtração renal, mas não é realizada rotineiramente em cães e gatos devido à necessidade de administrar um marcador de filtração adequado e obter múltiplas amostras de sangue cronometradas e/ou amostras de urina, que são difíceis para o animal e demoradas (Relford et al., 2016).

Marcadores da TFG, como creatinina sérica e ureia, são atualmente usadas para diagnóstico, no entanto, cada uma com as suas limitações. Nos últimos anos, um novo biomarcador, dimetilarginina simétrica, SDMA, tem sido utilizado para medição indireta da TFG. (Grelová et al., 2022).

Marcadores tradicionais de dano glomerular e tubular incluem proteinúria renal, densidade específica da urina, glicosúria em animais normoglicêmicos e cilindros. A proteinúria é a mais comumente utilizada como marcador de dano e disfunção renal, embora primeiro requeira que causas pré-renais (por exemplo, hemoglobinúria) e pós-renais (por exemplo, infecção do trato urinário) de proteinúria sejam excluídas. A proteína da urina pode então ser quantificada e normalizada para concentração de creatinina para fornecer rácio UPC. Quanto maior o UPC, maior a probabilidade de a perda de proteína ser causada por dano glomerular em vez de (ou além de) danos tubulares (Nabity, 2018).

Tabela 6 – Vantagens e Desvantagens dos Biomarcadores

Marcador	Vantagem	Desvantagem
Creatinina	Excretada pelos rins, quase exclusivamente por filtração glomerular Taxa de excreção é relativamente constante (DiBartola, 2010) Análise laboratorial prontamente disponível (Ulleberg et al., 2011) Afetada por um menor número de fatores não renais (Sparkes et al, 2016)	Dependente da massa muscular Intervalos de referência para populações de pacientes amplamente díspares (Nabity, 2018)
SDMA	Precoce em relação à creatinina (Grauer, 2018) Exato e preciso (Hall et al, 2014)	Mais dispendioso (Hall et al, 2014)
Ureia	Excreção é feita primariamente através de filtração glomerular (DiBartola, 2010)	Relação com a TFG não é linear Afetada por uma ampla gama de fatores não renais (Cannon, 2016)

Nos últimos anos, esforços crescentes de pesquisa têm sido realizados para identificar biomarcadores renais sensíveis e específicos (Tabela 6). Um biomarcador deve atender a vários requisitos para ser considerado um marcador ideal, incluindo: ser detetável na urina e/ou sangue, usando métodos prontamente disponíveis e de baixo custo, ser altamente preditivo de lesão renal (com alta sensibilidade e especificidade), fornecer informações sobre a etiologia e localização (isto é, glomérulos e/ou túbulos) da lesão, refletir a gravidade da lesão, indicar lesão renal. Ainda não foi determinado quando e se os biomarcadores podem satisfazer todos estes requisitos, mas é improvável que um único biomarcador forneça toda esta informação. É mais provável que seja necessária uma série de biomarcadores (Segev, 2018).

Creatinina

A creatinina é produzida através da degradação da fosfocreatina muscular e a sua produção diária é determinada, em grande parte, pela massa muscular do indivíduo. Não sofre metabolização e é excretada pelos rins, quase exclusivamente por filtração glomerular. A taxa de excreção é relativamente constante e os níveis séricos possuem uma relação inversa com a TFG (DiBartola, 2010).

A taxa de filtração glomerular é geralmente considerada o parâmetro mais útil para avaliação global da função renal e pode ser estimada pelo uso de urina ou plasma. A creatinina plasmática é comumente usada como um indicador prático de TFG. Uma grande vantagem da creatinina plasmática é que a análise laboratorial está prontamente disponível. A creatinina plasmática tem limitações no que diz respeito à previsão precisa da TFG, visto que, é um parâmetro híbrido influenciado tanto pela produção endógena no músculo, volume de distribuição no corpo e depuração no rim por filtração glomerular (Ulleberg et al., 2011). Como a creatinina é produzida pelo músculo, a massa muscular é o fator mais importante que determina a concentração basal de creatinina. Por causa disso, intervalos de referência para populações de pacientes amplamente díspares são insensíveis a diminuições iniciais da TFG. Isto é particularmente um problema para os pacientes veterinários, onde os intervalos de referência específicos para idade e raça ainda não existem (Nabity, 2018).

Embora muitas vezes medidas em conjunto, a creatinina é preferida à ureia como marcador indireto da TFG, pois é afetada por um menor número de fatores não renais (Sparkes et al., 2016). A taxa diária de produção de creatinina depende da massa muscular, que pode ter importância clínica em gatos geriátricos com perda muscular relacionada com a idade ou quando a massa muscular diminui gradualmente durante a progressão da doença (Paepe & Daminet, 2013). Em casos de doença avançada, pequenas alterações na TFG têm um grande impacto no nível da creatinina sérica, mas pode ter menos implicações clínicas. Foi demonstrado que o nível de creatinina sérica não aumenta além dos intervalos de referência laboratorial até 75% da massa renal funcional ser perdida. A sensibilidade do nível da creatinina sérica pode ser melhorada estabelecendo uma linha de base para cada animal de estimação individual, enquanto estiver em boa saúde (Relford et al., 2016). Mesmo com todas estas limitações significativas, a avaliação da creatinina ainda continua a ser o padrão para a avaliação da função renal em medicina humana e veterinária porque encontrar novos marcadores que ofereçam melhorias significativas de desempenho em comparação com a creatinina provou ser extremamente desafiador (Yerramilli et al., 2016).

SDMA

O SDMA é uma arginina metilada que é libertada durante a proteólise em todas as células (Nabity, 2018). É um subproduto de metilação de proteínas. Existem 3 tipos principais de arginina metilada: monometilarginina (MMA), dimetilarginina assimétrica (ADMA) e SDMA. O SDMA é excretado principalmente ($\geq 90\%$) pela depuração renal e, como é eliminado pelos rins, as concentrações plasmáticas são afetadas por alterações na TFG (Hall et al., 2014).

É um novo marcador de função renal que pode auxiliar no diagnóstico precoce da DRC em gatos. Num estudo, em gatos que desenvolveram DRC, as concentrações de SDMA aumentaram acima do limite de referência aproximadamente 17 meses antes das

concentrações de creatinina sérica aumentarem acima do limite de referência (Grauer, 2015). O SDMA demonstrou ser um biomarcador exato e preciso para calcular a TFG estimada em humanos, bem como um biomarcador mais sensível que a creatinina para avaliar a doença renal. As concentrações plasmáticas de SDMA também demonstraram estar aumentadas em gatos com DRC e correlacionar-se com a concentração plasmática de creatinina (Hall et al., 2014).

Ureia

A ureia é sintetizada pelo fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo dos aminoácidos, procedentes do catabolismo proteico exógeno, a dieta, e endógeno. A excreção da ureia é feita primariamente através de filtração glomerular, e daí a sua excreção surgir afetada pela redução da TFG que decorre na doença renal (DiBartola, 2010). Embora a azotemia renal seja uma potencial causa de ureia sérica elevada, este é um marcador menos confiável para DRC do que a creatinina. Isto, porque é afetada por uma ampla gama de fatores não renais (Cannon, 2016). Tem um papel funcional na manutenção da capacidade renal de concentração de urina. A desidratação estimula reabsorção renal de ureia para permitir o aumento da reabsorção de água do filtrado glomerular. A ureia pode estar significativamente aumentada devido à desidratação, redução da TFG, aumento do catabolismo proteico (condições que causam perda de peso), uma refeição recente rica em proteínas e pela presença de sangramento gastrointestinal. Além disso, assim como acontece com a creatinina, a relação entre um declínio na TFG e uma elevação na ureia não é linear, de modo a que alterações menores nos estádios iniciais de DRC, são mais significativas do que alterações maiores em estádios mais avançados da doença (Cannon, 2016).

Clusterina Urinária

A clusterina, também conhecida como apolipoproteína J, é expressa num amplo espectro de tecidos e faz parte de muitos processos fisiológicos, incluindo maturação do esperma, transporte lipídico e remodelação tecidual. Embora as concentrações urinárias de clusterina estejam aumentados em danos tubulares renais, as concentrações séricas de clusterina são afetadas em vários processos fisiológicos e fisiopatológicos. A clusterina urinária surge em concentrações bastante baixas, por vezes indetetáveis, em animais saudáveis e a contaminação das amostras de urina com sangue, mesmo que em pequenas quantidades, pode conduzir a falsos positivos (Yerramilli et al., 2016).

Um estudo avaliou os níveis de clusterina em beagles com DRA induzida pela gentamicina, e os resultados mostraram um aumento significativo nas concentrações de clusterina após a lesão induzida pelo fármaco. A clusterina urinária tem a maioria das

características exigidas de um biomarcador de dano ou doença renal. É expresso na urina em níveis baixos a indetectáveis no rim saudável, mas os seus níveis aumentam significativamente em resposta a uma lesão. Além disso, descobriu-se que os níveis de clusterina urinária diminuem em resposta à recuperação por lesão renal (Yerramilli et al., 2016).

FGF-23

O FGF-23 é uma hormona fosfatúrica, sintetizada e excretada pelos osteócitos e osteoblastos, atuando a nível dos túbulos proximais renais. Esta hormona mantém os níveis séricos de fósforo dentro do limite fisiológico normal, sendo excretada principalmente pelos osteócitos e osteoblastos, em resposta à hiperfosfatemia e ao aumento das concentrações plasmáticas de calcitriol. Atua reduzindo a reabsorção de fósforo no rim através da inibição dos co-transportadores de sódio-fósforo nos túbulos proximais. Além disso, o FGF-23 atua na glândula paratiroide e reduz a síntese e secreção de PTH (Geddes et al., 2013). Foi pela primeira vez identificado em humanos com alterações na homeostasia do fósforo. Desde então que mostrou ter um papel fisiológico importante na sua regulação e no metabolismo da vitamina D (Finch et al., 2013).

O FGF-23 é uma hormona chave na regulação do cálcio-fósforo, liga-se ao seu recetor ligado à membrana, formando um complexo com o co-recetor α -Klotho nas células alvo para aumentar a excreção renal de fósforo e reduzir a produção de calcitriol no rim. O conhecimento tradicional do distúrbio no metabolismo mineral, na DRC, sugeriu que a hiperfosfatemia e a diminuição da massa renal resultaram na redução da produção renal de calcitriol e a subsequente desenvolvimento de hiperparatiroidismo renal secundário. Assim, as concentrações de FGF-23 no sangue aumentam precocemente em pessoas com DRC e antes do desenvolvimento de massa renal diminuída ou hiperfosfatemia. Por isso, uma concentração sanguínea elevada de FGF-23 foi proposta como um potencial indicador de desregulação de fósforo e desencadeador de distúrbios no metabolismo mineral pela inibição da síntese renal de calcitriol, resultando em hipocalcemia e aumento da síntese de PTH (Summers et al., 2024).

A concentração plasmática de FGF-23 surge aumentada em diferentes estudos realizados com pacientes humanos, afetados por DRC. Este aumento pode surgir como um mecanismo compensatório, secundariamente a alterações dos níveis séricos de fósforo, ou poderá ser simplesmente um marcador da TFG reduzida nos pacientes com DRC (Finch et al., 2013).

Em medicina humana, a carga dietética de fósforo aumenta a produção de FGF-23 e em pacientes com doença renal crónica demonstraram-se elevados níveis de FGF-23 circulante, o que poderia ser um mecanismo para compensar distúrbios no metabolismo do fósforo. Além disso, o FGF-23 demonstrou ser um novo preditor independente de progressão

da doença renal em pacientes humanos (Lin et al., 2021). Num estudo realizado por Lin *et al* em 2021 em ratinhos com sobre-expressão de FGF-23, estes apresentaram hipofosfatemia, indicando que o FGF-23 participa da regulação do fósforo.

Em gatos geriátricos sabe-se que há um aumento de FGF-23 plasmático antes do aparecimento da azotemia, e progressivamente, com o avançar da DRC. Existe uma correlação positiva entre o FGF-23 e a paratormona, o que sugere uma relação deste com o hiperparatiroidismo renal secundário (Geddes, Finch, et al., 2013). Gatos que apresentam hiperfosfatemia, possuem concentrações plasmáticas de FGF-23 superiores quando comparados a gatos normofosfatêmicos, do mesmo estágio de DRC da IRIS (Hokamp & Nabity, 2016).

O FGF-23 é um biomarcador de interesse na medicina veterinária, e ao longo da última década vários grupos de pesquisa publicaram estudos sobre concentrações plasmáticas ou séricas de FGF-23 medidas em gatos saudáveis não azotêmicos e em gatos diagnosticados com DRC (Summers et al., 2024).

Outros Marcadores

Atualmente estão a ser estudados marcadores urinários de dano e função renal que possam auxiliar na localização do dano na parte afetada do rim. Em geral a presença de proteínas de peso molecular alto e intermediário na urina, como por exemplo imunoglobulinas e proteína C reativa, são indicativas de dano glomerular, enquanto proteínas e enzimas de baixo peso molecular, por exemplo *N-acetyl-β-D-glucosaminidase* (NAG), *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL), *Retinol Binding Protein* (RBP) e gama-glutamil transferase (GGT), na urina sugerem dano tubular devido à diminuição da reabsorção de proteínas (Hokamp & Nabity, 2016).

Tratamento

Ao contrário de doenças agudas, o manejo de pacientes com doença crônica requer um envolvimento contínuo com o tutor do animal meses a anos após o diagnóstico inicial. A gestão bem-sucedida de doenças crônicas deve ser melhorada através do desenvolvimento de um plano a longo prazo. Este deve incluir: educação do tutor sobre a doença do seu animal e seu manejo, um plano específico para monitorizar a progressão da doença e a resposta ao tratamento e envolvimento contínuo do dono do animal no plano de tratamento (Polzin, 2013).

O tratamento da DRC deve ser adaptado individualmente para cada paciente. Embora nem todas as intervenções tenham sido avaliadas por ensaios clínicos, algumas informações baseadas em evidências apoiam o seu papel no tratamento da DRC (Foster, 2013; Polzin,

2013). O tratamento tem como objetivo corrigir os desequilíbrios causados pela doença e desacelerar progressão e é vitalício porque a DRC é irreversível (Bartges, 2012). O manejo de DRC é largamente focado no tratamento sintomático e de suporte, com o principal objetivo de melhorar a qualidade de vida (Sparkes et al., 2016). Alguns objetivos do tratamento são: nutrição, manter a hidratação, tratar as complicações gastrointestinais secundárias à urémia, tratar a hiperfosfatemia, tratar a acidose, tratar a hipocalémia e hipercalémia, tratar a anemia, tratar a hipertensão, tratar a proteinúria e tratar o hiperparatireoidismo secundário renal (Bartges, 2012; Foster, 2013; Polzin, 2013).

O principal objetivo do suporte nutricional de qualquer paciente com doença crônica é a manutenção da massa muscular magra e da condição corporal ideal, tal como sucede na DRC. É recorrente que estes pacientes apresentem algum grau de anorexia dependendo do estadio da doença. As causas de anorexia e náusea incluem retenção de toxinas urêmicas, desidratação, alterações bioquímicas (azotemia, acidose metabólica, desequilíbrios eletrolíticos e desequilíbrios minerais), anemia, hiperparatireoidismo renal secundário e gastroenterite. Deve-se aumentar a palatabilidade da dieta, promover o consumo de dietas com maior densidade calórica, visto que há uma ingestão adequada de energia com menor ingestão de volume, resultando num estômago menos distendido e conseqüentemente menos náusea (Bartges, 2012).

A desidratação pode ser minimizada aumentando a ingestão de água por via oral, com água limpa disponível em todos os momentos, alimentando com dietas formuladas em lata ou adicionando água para dietas secas. No caso dos gatos, podem beber mais se houver fontes de água circulantes (Bartges, 2012). Também é possível prescrever uma dieta renal, colocação de sondas de alimentação, que podem fornecer acesso à água, medicamentos e alimentação. Fluidoterapia subcutânea pode ser útil, mas contém grandes quantidades de sódio, que alguns pacientes com DRC podem não tolerar, contribuindo para a hipertensão (Foster, 2013; Polzin, 2013).

Inibidores da bomba de prótons, antagonistas dos receptores H₂, sucralfato e antieméticos são utilizados no tratamento das complicações gastrointestinais secundárias à urémia (Figura 6)(Foster, 2013; Polzin, 2013).



Figura 6 - Glossite urêmica numa gata com DRC (seta branca) (Bartges, 2012).

Os quelantes de fósforo são usados em combinação com uma dieta renal prescrita quando a dieta por si só é insuficiente para controlar a hiperfosfatemia. Alguns dos quelantes usados são: hidróxido de alumínio, frequentemente utilizado como medicamento de primeira linha e sais de cálcio (Foster, 2013; Polzin, 2013).

A acidose, ocorre muitas vezes devido à retenção de ácidos que são normalmente excretados pelos rins, sendo que, na DRC há um aumento de produção de amónia e diminuição da reabsorção de bicarbonato (Bartges, 2012). De modo a ser travada, deve utilizar-se uma dieta que produza um pH neutro, e, se mesmo com uma dieta apropriada, a acidose persistir, pode ser necessária a utilização de terapia com recurso a bicarbonato de sódio ou citrato de potássio (Foster, 2013; Polzin, 2013).

A hipocalémia pode ocorrer devido a hiporexia ou anorexia, perdas renais excessivas e alterações a nível transcelular devido a doenças crónicas. Frequentemente manifesta-se como miopatia (Bartges, 2012). A suplementação oral é o tratamento preferido. Os aglutinantes orais de potássio podem impedir a absorção do potássio dietético (Foster, 2013; Polzin, 2013).

Na anemia moderada a avançada deve ser considerada a suplementação hormonal com darbepoietina e suplementação com ferro e monitorizações regulares e, no caso de anemia grave, deve ser considerada uma transfusão de sangue (Foster, 2013; Polzin, 2013).

No caso da hipertensão, se existirem evidências de risco em órgãos-alvo (Figura 7), os gatos devem ser tratados mesmo sem demonstrarem um aumento persistente da pressão arterial sistólica. Este é um objetivo a longo prazo na gestão do doente com DRC e uma redução gradual e sustentada deve ser o objetivo, evitando quaisquer diminuições súbitas ou

graves levando à hipotensão. Por passos, deve ser reduzido do sódio na dieta, mesmo que não haja evidência de que reduzirá a pressão arterial. De seguida, utilizar um bloqueador dos canais de cálcio, como a amlodipina (utilizado como preferência em gatos), ou um bloqueador dos recetores da angiotensina, telmisartan. Caso o tratamento não tenha o efeito desejado, duplicar a dose de amlodipina, se este for o tratamento selecionado. Combinar amlodipina e telmisartan se algum dos medicamentos por si só não permitir o controlo adequado da pressão arterial (IRIS 2023).



Figura 7 - Retinopatia hipertensiva e cegueira numa gata com DRC, pupila direita está dilatada devido ao descolamento da retina e hifema (Bartges, 2012).

A proteinúria é considerada uma consequência marcante na doença glomerular, e ao reduzir a proteinúria atrasa a progressão da doença. Pode promover lesão renal progressiva através de vários mecanismos, incluindo toxicidade mesangial, sobrecarga e hiperplasia tubular, toxicidade de proteínas filtradas específicas e indução de moléculas pró-inflamatórias (Bartges, 2012). Quanto à proteinúria, o primeiro passo na terapia é uma dieta renal com restrição de proteínas, além disso, controlar a hipertensão ajuda na minimização da proteinúria. Está comprovado também que ácidos gordos como o ômega 3, diminuem a proteinúria. (Foster, 2013; Polzin, 2013). Segundo a IRIS, após os passos já referidos, deve ser utilizado um bloqueador dos recetores da angiotensina, como o telmisartan, e monitorizar a resposta ao tratamento/progressão da doença (IRIS 2023).

Como a DRC é uma doença dinâmica e progressiva, a monitorização regular deve ser realizada em todos os pacientes para ajuste do tratamento. Esta deve incluir condição

corporal, condição muscular, auscultação torácica, avaliação do estado de hidratação, medição indireta da pressão arterial sistêmica, hemograma completo, análise bioquímica e exame de urina. A frequência e a extensão da monitorização dependem da rapidez de progressão da doença, satisfação do tutor e finanças (Bartges, 2012).

Segundo a IRIS, na atualização de 2023 quatro mudanças principais foram introduzidas nas recomendações de tratamento para gatos. A recomendação de que o clopidogrel seja o medicamento de primeira linha recomendado para gatos com nefropatia com perda de proteínas considerados em risco de doença tromboembólica e a remoção da albumina sérica (<2,0 g/dl) como gatilho definitivo para a terapia. A introdução do FGF-23 como meio de avaliar gatos com concentrações séricas de fósforo dentro da faixa alvo do IRIS para cada estadio para determinar a necessidade de restrição dietética de fósforo (nos estadios I e II, onde o fósforo está na faixa alvo no estadio inicial) ou para aumento da restrição quando o tratamento dietético inicial reduziu o fósforo sérico para a faixa alvo. A remoção da menção ao tratamento com calcitriol para gatos no tratamento da DRC nos estadios III e IV devido à falta de qualquer evidência de efeito benéfico. E por fim, a introdução de uma recomendação para tratar gatos em estadio II com vômitos/anorexia/náuseas/perda de peso e/ou muscular, embora reconhecendo que o SDMA pode ser usado para estadiar gatos com perda muscular significativa e que investigações para doenças concomitantes que levam a vômitos também devem ser realizadas (IRIS, 2023).

Outros Tratamentos

Esteroides anabolizantes

Faltam informações sobre a eficácia dos esteroides anabolizantes para gatos com DRC e, como há relatos de hepatotoxicidade, o seu uso atualmente não é recomendado (Sparkes et al., 2016).

Terapia com células estaminais

Há estudos piloto a investigar o uso de células estaminais para DRC felina, que não têm até agora efeitos benéficos demonstrados e, visto que, com algumas das técnicas ocorrem efeitos adversos, este tratamento não é atualmente recomendado (Sparkes et al., 2016).

Os organoides, com a sua robusta integridade genômica, poderão ser uma ferramenta para a medicina regeneração e investigação biomédica e, num futuro próximo, criar tecidos para transplante autólogo. No futuro, os organoides permitirão compreendermos o desenvolvimento de todas as espécies, incluindo os animais de companhia, e das doenças

em profundidade, possibilitando novas opções terapêuticas e uma melhor compreensão da fisiopatologia de várias doenças (Meneses et al., 2016).

Transplante renal

Os transplantes renais de dadores vivos podem estar disponíveis para tratar gatos com DRC. Este procedimento tem inúmeras implicações, incluindo éticas, considerações financeiras, de bem-estar e de monitorização (Sparkes et al., 2016).

Terapia Renal Substitutiva

A hemodiálise e a diálise peritoneal (Figura 8) são técnicas que podem ser aplicadas com sucesso em gatos, embora possam surgir complicações. As suas principais indicações são para o manejo da doença renal aguda ou agudização na doença renal crónica (Sparkes et al., 2016).



Figura 8 - Diálise Peritoneal, adaptado de (Ross & Labato, 2013).

Prognóstico

Embora nenhum tratamento, atualmente, possa corrigir as lesões renais irreversíveis da DRC, as consequências clínicas e bioquímicas da função renal reduzida, podem muitas vezes ser aliviadas através de tratamento de suporte e sintomático. Além disso, a progressão da DRC pode ser atrasada através de intervenção terapêutica precoce (Grelová et al., 2022). A progressão da DRC em gatos varia, alguns gatos têm doença progressiva semelhante aos cães, mas normalmente progride mais lentamente nos gatos. Além disso, alguns gatos com DRC parecem ter uma função renal estável por meses ou anos, muitas vezes acabando por morrer de causas não relacionadas. Tal como acontece com os cães, a proteinúria indica um pior prognóstico. O estadio da DRC demonstrou estar relacionado com o desfecho (Polzin, 2011).

Objetivos

Objetivo Geral:

Investigar a relação entre os biomarcadores FGF-23, SDMA, creatinina e fósforo em gatos com doença renal crônica (DRC) estadiados nos graus I e II, de acordo com as diretrizes da International Renal Interest Society (IRIS, 2023), a fim de compreender melhor sua utilidade na detecção precoce e monitorização da progressão da disfunção renal.

Objetivos Específicos:

1. Avaliar a correlação entre os níveis séricos de creatinina e SDMA nos estadios iniciais de DRC para explorar a complementaridade desses biomarcadores na detecção de alterações sutis na taxa de filtração glomerular (TFG).
2. Examinar a relação entre fósforo e creatinina em gatos com DRC nos estadios I e II, analisando o papel potencial do fósforo como marcador de progressão renal em estadios iniciais.
3. Investigar a associação entre os níveis séricos de FGF-23 e fósforo, com o objetivo de compreender como a regulação hormonal influencia a homeostase mineral nos estadios iniciais da DRC.
4. Determinar a correlação entre FGF-23 e SDMA em gatos com DRC nos estadios iniciais, avaliando a utilidade combinada desses biomarcadores para uma avaliação mais abrangente da função renal.
5. Identificar as possíveis limitações do uso de FGF-23 como biomarcador nos estadios iniciais de DRC, considerando fatores metodológicos, como armazenamento, sensibilidade do kit e variabilidade das amostras.

Parte III - Fator de Crescimento de Fibroblastos 23 como biomarcador precoce de hiperfosfatemia em Doença Renal Crónica em gatos

Materiais e Métodos

Este estudo decorreu no Hospital Escolar Veterinário de Animais de Companhia da Universidade Lusófona. A recolha da casuística teve lugar entre janeiro e agosto de 2024 e a componente experimental foi realizada no laboratório da Universidade, em agosto de 2024. Os dados tinham sido previamente recolhidos, ou seja, não foram recolhidos pela autora deste estudo, sendo que, foram gentilmente fornecidos pelo Hospital. Os dados foram recolhidos do software BVET e todos os resultados de exames complementares de diagnóstico presentes nesta dissertação foram também gentilmente cedidos pelo Hospital Escolar. A população do estudo foi composta por 52 gatos com doença renal previamente diagnosticada e estadio I e II. As análises laboratoriais foram realizadas no laboratório interno do próprio hospital com recurso ao equipamento FGF23 (C-terminal) multi-matrix ELISA Kit, comercializado pela Biomedica. Foi feito o doseamento plasmático de ureia, creatinina, SDMA, fósforo e FGF23 e as amostras de sangue foram colhidas através de venopunção periférica, veia cefálica ou femoral, ou venopunção central, veia jugular, e armazenadas em tubos de heparina para posterior processamento. Este projeto foi aprovado pelo Comité de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade. Nenhum procedimento desnecessário foi realizado nos animais com o objetivo de desenvolver e concluir este relatório, sendo que, as amostras foram recolhidas durante consultas de reavaliação ou acompanhamento.

1- FGF-23

Multi-matriz ELISA para a determinação quantitativa de FGF-23 humano (C-terminal) em soro, plasma em EDTA, plasma em heparina e plasma em citrato (imunoensaios biomédicos):

Um ensaio imunoenzimático de *sandwich* para a determinação direta de FGF-23 em amostras de soro e plasma humanos:

Num primeiro passo, o padrão/amostra/controlo e o anticorpo de deteção são pipetados nos poços das tiras de microtitulação, que estão pré-revestidas com anticorpo anti-FGF23. O FGF-23 presente no padrão/amostra/controlo liga-se ao anticorpo pré-revestido no poço e forma uma *sandwich* com o anticorpo de deteção. Na etapa de lavagem, todo o material não ligado não específico é removido. Num segundo passo, o conjugado (Streptavidina HRPO) é pipetado nos poços e reage com o anticorpo de deteção. Após outra etapa de lavagem, o substrato (TMB Tetrametilbenzidina) é pipetado nos poços. A alteração de cor catalisada pela enzima do substrato é diretamente proporcional à quantidade de FGF-23 (Figura 9). Esta alteração de cor é detetável com um leitor de placas de microtitulação ELISA padrão. Uma

curva de dose-resposta da absorvância (densidade óptica (DO) a 450 nm) vs. concentração padrão é gerada, utilizando os valores obtidos do padrão. A concentração de FGF-23 na amostra é determinada diretamente a partir da curva de dose-resposta.

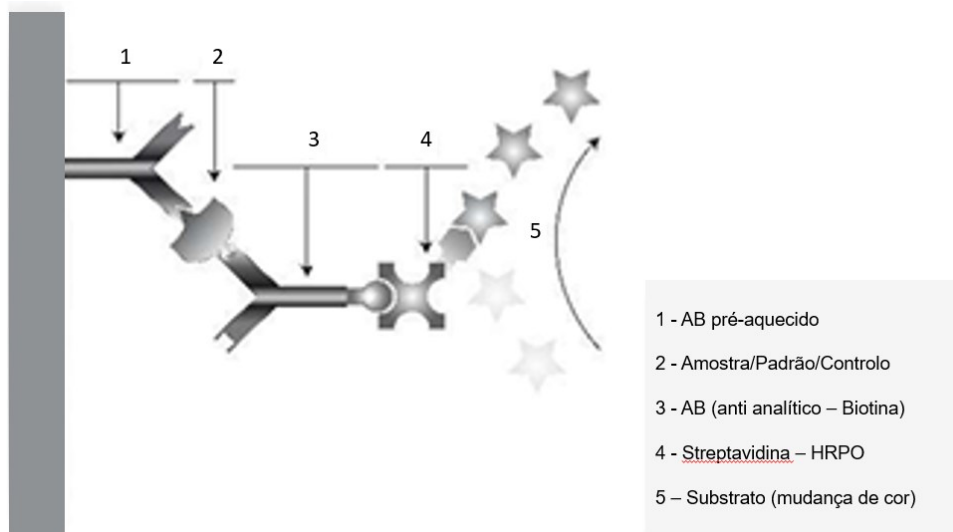


Figura 9 - Representação do processamento da amostra de FGF-23

2- SDMA - Analizador de Química *Catalyst One*

Propriedades tecnológicas nos slides *Catalyst* minimizam substâncias interferentes:

- A tecnologia de slide seco IDEXX utiliza múltiplas tecnologias que minimizam substâncias interferentes à medida que a amostra se move da camada superior para a inferior, onde é analisada.
- As camadas de captura e/ou dispersão filtram interferentes de outros componentes da química sanguínea para garantir a qualidade da amostra.
- Um processo de lavagem integrado é utilizado com slides específicos para remover detritos da amostra, maximizando a sensibilidade e a precisão dos resultados.

3- Creatinina e Fósforo

Princípio de funcionamento

O analisador *respons®920* é um analisador automático de bioquímica clínica baseado no princípio da fotometria, medindo a transmitância da luz em vários comprimentos de onda. A luz branca, como a vemos, é composta por várias cores. Isso fica evidente quando passamos um feixe de luz branca através de um prisma. Se a luz que emerge do prisma no lado oposto fosse projetada numa tela, veríamos um amplo espectro de cores, começando pelo vermelho no topo e terminando com o violeta na parte inferior. As cores visíveis entre elas estão na ordem do índigo, azul, verde, amarelo e laranja (Figura 10). A luz incidente ou branca contém todo o espectro, os objetos que aparecem coloridos absorvem a luz num determinado

comprimento de onda e refletem outros, dando assim diferentes cores. Essa cor é função do seu comprimento de onda.

A luz com um comprimento de onda inferior a 400nm é designada ultravioleta, enquanto a luz com um comprimento de onda superior a 800nm é designada infravermelha, ambas as luzes ultravioleta e infravermelha são invisíveis ao olho humano. A luz correspondente a comprimentos de onda entre 400nm e 800nm é visível ao olho humano e é designada como luz visível.

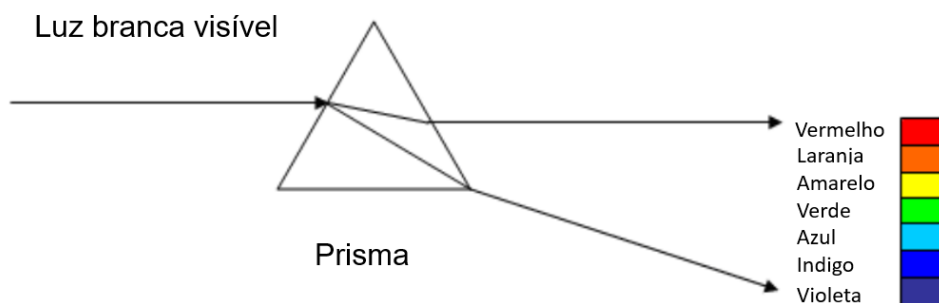


Figura 10 - Dispersão da luz branca

Princípios da Fotometria de Absorção

Lei de Beer - Se a luz é permitida passar através de uma solução colorida, a solução irá absorver alguma luz enquanto o resto será transmitida. A quantidade de luz absorvida é proporcional à natureza, concentração e cor da solução.

Lei de Lambert - A luz absorvida pela solução colorida é diretamente proporcional ao caminho ótico da solução colorida (diâmetro da cuvete): isto é, se o diâmetro da cuvete for duplicado, a luz absorvida será duplicada (Figura 11).

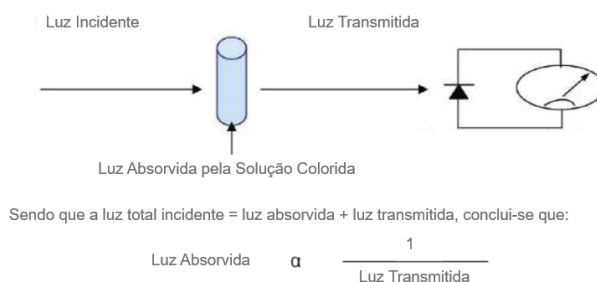


Figura 11 - Princípios da Fotometria de Absorção

Portanto, à medida que a luz absorvida (absorbância) aumenta, a luz transmitida diminui. À medida que aumentamos a concentração da solução colorida, a luz absorvida aumenta, e verificamos que a transmitância varia inversamente e logaritmicamente com a concentração.

$$\begin{aligned} \text{Absorvância (Luz Absorvida)} &= \text{Log} \left[\frac{1}{\text{Transmitância}} \right] \\ \text{Absorvância (Luz Absorvida)} &= \text{Log} \left[\frac{100}{100} * \frac{1}{\text{Transmitância}} \right] \\ \text{Absorvância (Luz Absorvida)} &= \text{Log} \left[\frac{100}{\% \text{ Transmitância}} \right] \\ \text{Absorvância (Luz Absorvida)} &= \text{Log } 100 - \text{Log } \% \text{ Transmitância} \\ \boxed{\text{Absorvância (Luz Absorvida)} &= 2 - \text{Log}_{10} \% \text{ Transmitância}} \end{aligned}$$

Figura 12 - Fórmulas relativas à Absorvância

Utilizando a fórmula acima (Figura 12), são obtidas as seguintes absorvâncias para diferentes percentagens de transmitância:

Percentagem de Transmitância	Absorvância
100	0.000
50	0.301
25	0.602
12.5	0.903

O estudo da correlação entre a concentração de uma solução colorida e intensidade da sua cor e a quantidade de luz absorvida pela solução colorida é denominada espectrofotometria.

Informação Útil

Percentagem	Absorvância	Erro Absoluto	Percentagem do Erro Relativo
10	1.000		
11	0.959	0.041	4.1
45	0.347		
46	0.337	0.001	2.9
90	0.046		
91	0.041	0.005	10.9
95	0.022		
96	0.018	0.004	8.2

Figura 13 - Absorvâncias e percentagens de transmitância

O erro relativo é mínimo a uma absorvância de 0,434 (36,8% T). Consequentemente, os métodos devem ser concebidos de modo que as leituras caiam perto do centro da escala, de preferência dentro de uma absorvância de aproximadamente 0,1 e 0,7 (20 e 80% T).

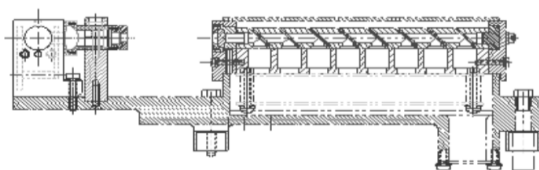


Figura 14 - Sistema de Fotometria

Sequência de Operação

O instrumento (Figura 14) funciona com base no princípio da fotometria de luz e uma combinação de robótica e hidráulica controladas por computador para obter um alto grau de precisão e exatidão. A amostra é pipetada na cuvete juntamente com o reagente. Esta reação é então lida a intervalos de tempo definidos de 18 segundos para obter as suas densidades óticas. Toda a operação pode ser dividida na seguinte sequência:

1. Preparação para a Amostragem
2. Enxaguamento da cuvete (limpeza)
3. Adição do Reagente 1 + Amostra
4. Mistura do agitador para R1 + Mistura da Amostra
5. Leitura e relatório
6. Adição do Reagente 2 (opcional)
7. Mistura do agitador após a adição de R2 (opcional)
8. Leitura e relatório
9. Remoção/esvaziamento do resíduo de reação bio perigosa da cuvete.

Resultados

A análise estatística foi baseada numa regressão linear simples, utilizada para avaliar a relação entre os níveis de creatinina e SDMA em gatos nos estádios I e II de DRC, conforme a classificação IRIS 2023. O objetivo foi verificar se existe correlação significativa entre estas duas variáveis e modelar essa relação matematicamente. A regressão linear simples ajusta uma linha reta para prever os valores da variável dependente (SDMA) com base nos valores da variável independente (creatinina). O modelo gerado tem a forma da equação linear $y=mx+b$, onde:

- y é o valor previsto de SDMA,
- m é o coeficiente angular da reta (*slope*), que indica o quanto a SDMA muda para cada unidade de aumento na creatinina,
- b é o intercepto, o valor de SDMA quando creatinina é igual a zero.

Alem disso, realizou-se também uma análise de correlação de *Pearson* para investigar a relação entre as concentrações de fósforo e os níveis de creatinina em gatos nos estádios I e II de DRC, conforme os critérios da IRIS 2023. Considerou-se $p < 0.05$. Os resultados da regressão linear indicaram o seguinte:

- **Coeficiente angular (slope):** 0.098, o que sugere que para cada aumento de 1 mg/dL nos níveis de creatinina, os níveis de SDMA aumentam em aproximadamente 0.098 µg/dL.
- **Intercepto:** 19.91, representando o valor previsto de SDMA quando a creatinina é igual a zero.
- **R² (coeficiente de determinação):** 0.001, indicando que apenas 0.1% da variação nos níveis de SDMA pode ser explicada pela creatinina.

Em termos de correlação, o coeficiente de *Pearson* entre **creatinina** e **SDMA** foi de 0.03, indicando uma correlação muito fraca. O p-valor de 0.918 mostrou que essa correlação não é estatisticamente significativa. O gráfico 1 demonstra os resultados acima descritos.

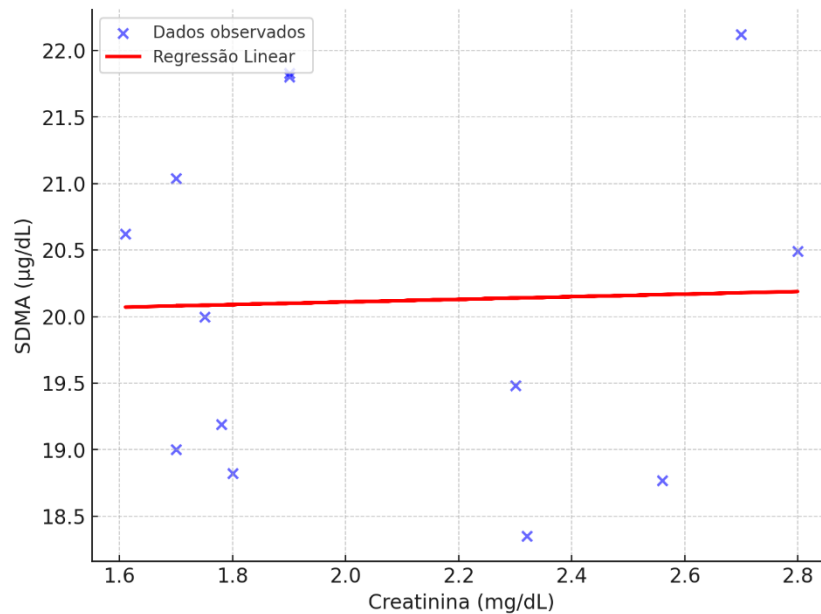


Gráfico 1 - Representação gráfica da dispersão mostrando a relação entre creatinina e SDMA, junto com a linha de regressão linear (em vermelho).

A análise das concentrações de fósforo nos gatos dos estádios 1 e 2 de DRC, mostrou que, no conjunto de dados atual, tem uma concentração média de fósforo de 5.35 mg/dL. Uma análise de correlação de *Pearson* foi realizada para investigar a relação entre as concentrações de fósforo e os níveis de creatinina em gatos nos estádios 1 e 2 de DRC, conforme os critérios da IRIS 2023. O coeficiente de correlação de *Pearson* foi de $r=0.35$, indicando uma correlação positiva moderada. No entanto, essa correlação não foi estatisticamente significativa ($p=0.242$) (Gráfico 2).

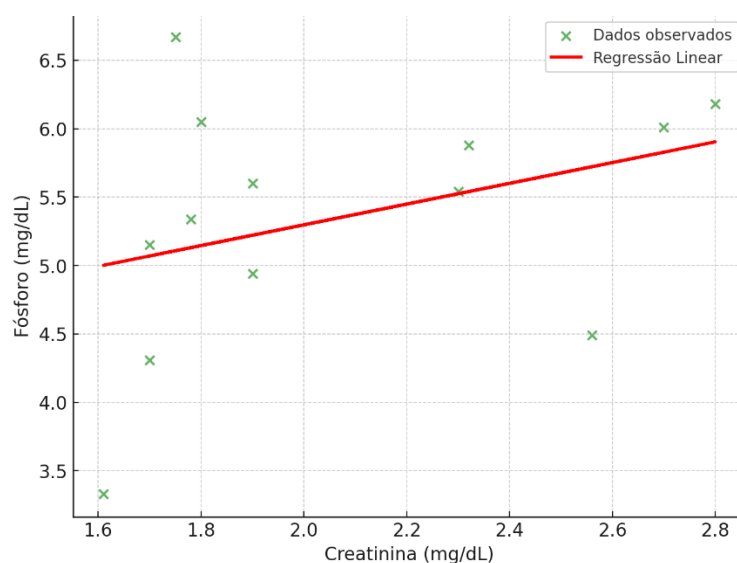


Gráfico 2 - Representação gráfica da dispersão mostrando a correlação entre as concentrações de fósforo e creatinina nos gatos dos estádios I e II de DRC. A linha vermelha representa a linha de regressão linear, que modela a relação entre essas variáveis.

Para a análise das concentrações de FGF-23 e os biomarcadores renais creatinina, fósforo e SDMA, em gatos com DRC em estadio I e II, foi utilizado o software *Python*, com o pacote **SciPy** para calcular o coeficiente de correlação de *Pearson*, e o **Seaborn** para representação gráfica. O coeficiente de *Pearson* (r) mede a força e a direção da relação linear entre duas variáveis contínuas, com valores variando de -1 a 1. Para este estudo, consideramos um nível de significância de 5% ($p < 0,05$) para determinar se as correlações seriam estatisticamente significativas.

Correlação entre FGF-23 e a creatinina: o resultado foi um coeficiente de $r = -0,08$, indicando uma correlação negativa muito fraca entre o FGF-23 e a creatinina. Com um valor de significância $p = 0,699$, essa correlação não foi considerada estatisticamente significativa ao nível de 5% ($p < 0,05$). Assim, não há evidências suficientes para afirmar uma relação linear entre essas variáveis nos dados analisados (Gráfico 3).

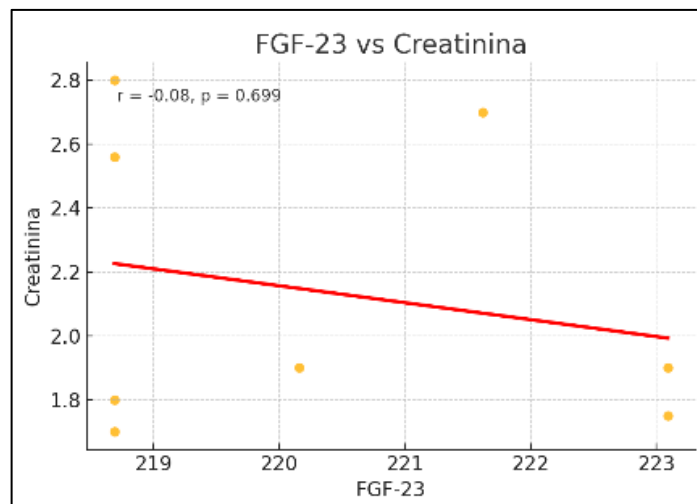


Gráfico 3 - Representação gráfica da correlação entre FGF-23 e creatinina. ($r = -0.08$; $p = 0,699$)

Correlação entre FGF-23 e Fósforo: o resultado foi um coeficiente de $r = 0,11$, sugerindo uma correlação positiva muito fraca entre FGF-23 e fósforo. O valor de $p = 0,616$ indica que a correlação não é estatisticamente significativa ao nível de 5%. Portanto, não há indicação de uma associação relevante entre o FGF-23 e o fósforo nos dados disponíveis (Gráfico 4).

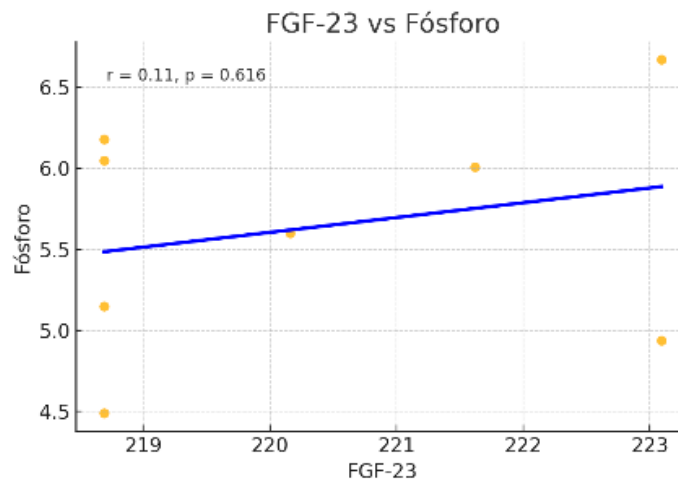


Gráfico 4 - Representação gráfica da correlação entre FGF-23 e fósforo. ($r=0.11$; $p=0,616$)

Correlação entre FGF-23 e SDMA: o resultado foi um coeficiente de $r=0,02$, $r = 0,02$, apontando para uma correlação quase inexistente entre FGF-23 e SDMA. O valor de $p=0,928$, $p = 0,928$ reforça a ausência de significância estatística ao nível de 5%. Dessa forma, os resultados não demonstram uma relação significativa entre FGF-23 e SDMA na amostra analisada (Gráfico 5).

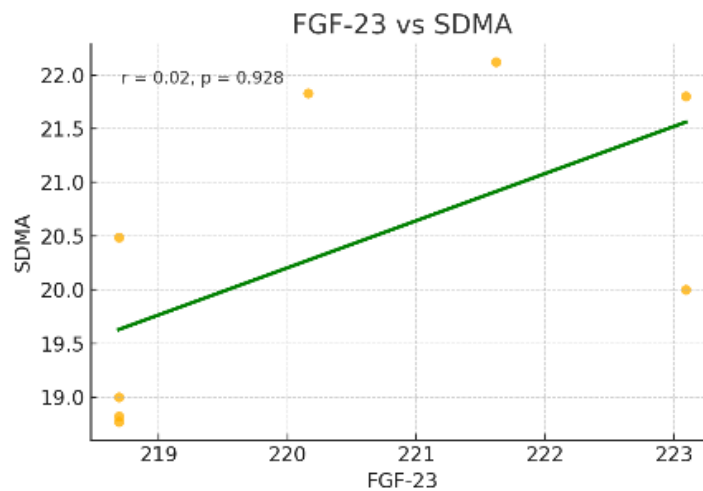


Gráfico 5 - Representação gráfica da correlação entre FGF-23 e SDMA. ($r=0.02$; $p=0,928$)

Discussão

Os biomarcadores SDMA e creatinina são amplamente reconhecidos pela sua capacidade de avaliar a taxa de filtração glomerular (TFG). No presente estudo, em gatos nos estádios I e II de DRC, a relação entre os níveis séricos de creatinina e SDMA revelou-se muito fraca, sugerindo que esses marcadores, embora complementares, apresentam dinâmicas distintas em estádios iniciais da doença. Essa independência pode refletir a sensibilidade superior do SDMA na detecção de disfunções renais leves, enquanto a creatinina tende a aumentar apenas quando a perda de massa renal funcional é mais significativa. Estudos como os de Hall *et al.* (2014) e Relford *et al.* (2016) já destacaram que o SDMA é mais precoce e preciso na identificação de alterações subtis na TFG, tornando-se uma ferramenta indispensável na avaliação de gatos em estádios iniciais de DRC.

No entanto, as limitações inerentes à creatinina não desvalorizam sua relevância clínica, principalmente em estádios avançados da DRC, como já demonstrado por Sparkes *et al.* (2016). Essa característica reforça a importância do uso combinado de biomarcadores para capturar diferentes aspectos da função renal, principalmente em gatos geriátricos ou com massa muscular reduzida, onde a creatinina pode subestimar alterações significativas.

A análise das concentrações séricas de fósforo demonstrou uma variabilidade considerável entre os indivíduos, dificultando a identificação de uma relação robusta entre fósforo e creatinina nos estádios iniciais da DRC. Essa variabilidade pode ser atribuída à eficácia dos mecanismos compensatórios nos estádios iniciais, como a regulação hormonal mediada pelo FGF-23 e pela PTH, que desempenham um papel essencial na manutenção da homeostase mineral. Geddes *et al.* (2013) apontam que o aumento do FGF-23 em resposta à hiperfosfatemia é um dos primeiros sinais de desregulação do metabolismo do fósforo. Apesar disso, no presente estudo, as concentrações de fósforo permaneceram relativamente estáveis, possivelmente devido ao estágio inicial da DRC na população estudada.

A avaliação do FGF-23, por sua vez, revelou uma correlação limitada com os demais biomarcadores analisados. Embora seja amplamente reconhecido como um marcador fosfatúrico chave, neste estudo, o FGF-23 não apresentou correlações significativas com creatinina, SDMA ou fósforo. Diversos fatores podem ter contribuído para esses resultados, incluindo aspectos metodológicos e limitações do armazenamento das amostras. As amostras de soro foram armazenadas a -20°C por um período prolongado, o que pode ter comprometido a estabilidade do FGF-23. Estudos como o de Summers *et al.* (2024) e Elliott *et al.* (2023) apontam que o armazenamento prolongado a -20°C pode levar à degradação do FGF-23, impactando diretamente as medições realizadas. Além disso, o kit utilizado para a análise das amostras não era o mais sensível disponível, sendo inferior aos kits utilizados em estudos

anteriores, como o de Geddes *et al.* (2013), que empregaram metodologias mais avançadas para detectar alterações mais subtis nos níveis de FGF-23.

Outra limitação que pode ter influenciado os resultados foi a ausência de controle rigoroso sobre fatores pré-analíticos, como a metodologia de processamento e descongelamento das amostras. A variabilidade nesses processos pode ter gerado flutuações nos níveis medidos de FGF-23, mascarando relações potenciais entre este biomarcador e os outros avaliados. Adicionalmente, a exclusividade da população estudada aos estádios iniciais da DRC limita a interpretação dos achados, uma vez que o aumento significativo do FGF-23 é mais esperado em estádios avançados, onde a hiperfosfatemia e a redução da TFG são mais pronunciadas, como evidenciado por Lin *et al.* (2021).

Os resultados deste estudo também sugerem que, nos estádios iniciais da DRC, o FGF-23 pode não desempenhar um papel significativo como marcador isolado para a avaliação da progressão da doença renal. Essa conclusão está alinhada com os achados de Hokamp & Nabity (2016), que apontaram que o FGF-23 é mais útil em contextos onde a regulação do fósforo já foi comprometida, como em estádios avançados da DRC. No entanto, o uso combinado de FGF-23 com outros marcadores, como fósforo e SDMA, pode fornecer *insights* mais abrangentes sobre a disfunção renal.

O tamanho reduzido da amostra, composto por 52 gatos, restringe a generalização dos resultados. Além disso, a heterogeneidade da população, considerando variáveis como idade, sexo, estado reprodutivo e dieta, representa um viés potencial, embora estudos como o de Lin *et al.* (2021) sugiram que a idade, sexo e estado reprodutivo têm impacto limitado nos níveis séricos de FGF-23. A ausência de um grupo controle também dificulta a interpretação completa dos dados, considerando que estudos como o de Miyakawa *et al.* (2022) demonstraram que gatos saudáveis apresentam níveis significativamente diferentes de biomarcadores renais em comparação com gatos com DRC.

No contexto clínico, os achados reforçam a importância de uma abordagem integrada e multimodal para a avaliação da função renal em gatos. O uso isolado de biomarcadores, como FGF-23 ou SDMA, pode ser insuficiente para capturar a complexidade da DRC, particularmente nos estádios iniciais. Como apontado por Yerramilli *et al.* (2016), a combinação de diferentes biomarcadores oferece uma visão mais detalhada da função renal e das alterações metabólicas associadas, permitindo uma intervenção precoce mais eficaz e direcionada.

Finalmente, estudos futuros devem abordar as limitações observadas, incluindo o uso de amostras maiores e mais homogêneas, controle rigoroso das condições de armazenamento e análise, e inclusão de gatos em todos os estádios da DRC. Esses avanços

permitirão uma compreensão mais robusta das inter-relações entre biomarcadores e a progressão da doença renal em gatos.

Conclusão

Os resultados deste estudo revelam a complexidade da interpretação dos biomarcadores FGF-23, SDMA, creatinina e fósforo nos estádios iniciais da DRC em gatos. Embora estes marcadores sejam ferramentas valiosas na prática clínica, os seus comportamentos em estádios iniciais demonstram uma independência funcional que limita a sua aplicação isolada como indicadores únicos da progressão da doença renal.

A análise realizada indica que, nos estádios I e II da DRC, o SDMA destaca-se pela sua sensibilidade na identificação de alterações precoces, enquanto o fósforo e o FGF-23 permanecem relativamente estáveis, provavelmente devido à eficácia dos mecanismos compensatórios hormonais e metabólicos nesta fase da doença. No entanto, a ausência de correlações significativas entre FGF-23 e os outros biomarcadores reforça que este marcador, embora promissor, pode ter uma aplicabilidade mais relevante em estádios avançados, onde a desregulação do metabolismo mineral é mais evidente.

As limitações metodológicas deste estudo, como o armazenamento prolongado das amostras e a sensibilidade limitada do kit utilizado, destacam a importância de otimizar os protocolos laboratoriais para garantir a precisão das medições, especialmente em estudos que avaliam biomarcadores como o FGF-23. Além disso, a exclusividade da população estudada aos estádios iniciais da DRC restringe as conclusões gerais, ressaltando a necessidade de futuras pesquisas que incluam gatos em estádios mais avançados e controlos saudáveis para uma análise comparativa mais robusta.

Em síntese, os achados deste estudo reiteram que a abordagem diagnóstica e de monitorização da DRC deve ser multimodal, integrando múltiplos biomarcadores e parâmetros clínicos. Essa estratégia permite uma avaliação mais abrangente da função renal, maximizando as oportunidades para intervenções precoces e individualizadas, especialmente em gatos nos estádios iniciais da doença. Estudos futuros deverão explorar não apenas o papel isolado de cada marcador, mas também sua interação e relevância clínica ao longo da progressão da DRC.

Referências bibliográficas

- Aspinall, V., & Cappello, M. (2020). *Introduction to Animal and Veterinary Anatomy and Physiology* (4.a ed.).
- Bartges, J. W. (2012). Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 42(4), 669–692. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.04.008>
- Brown, C. A., Elliott, J., Schmiedt, C. W., & Brown, S. A. (2016). Chronic Kidney Disease in Aged Cats. *Veterinary Pathology*, 53(2), 309–326. <https://doi.org/10.1177/0300985815622975>
- Cannon, M. (2016). Diagnosis and investigation of chronic kidney disease in cats. *In Practice*, 38(S3), 2–9. <https://doi.org/10.1136/inp.i4914>
- Chen, H., Dunaevich, A., Apfelbaum, N., Kuzi, S., Mazaki-Tovi, M., Aroch, I., & Segev, G. (2020). Acute on chronic kidney disease in cats: Etiology, clinical and clinicopathologic findings, prognostic markers, and outcome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(4), 1496–1506. <https://doi.org/10.1111/jvim.15808>
- DiBartola, S. P. (2010). Clinical approach and laboratory evaluation of renal disease. Em S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7.a ed., pp. 1956–1957). Elsevier.
- Dyce, KM., Sack, WO., & Wensing, CJG. (2010). *Textbook of Veterinary Anatomy* (4.a ed.).
- Elliott, J., Geddes, R., & Jepson, R. (2023). *A review of the role of fibroblast growth factor 23 in phosphate homeostasis and the pathophysiology of mineral bone disorder associated with chronic kidney disease.*
- Evans, H. E., & De Lahunta, A. (2012). *Miller's Anatomy of the Dog* (4.a ed.). Elsevier health sciences.
- Finch, N. C., Geddes, R. F., Syme, H. M., & Elliott, J. (2013). Fibroblast Growth Factor 23 (FGF-23) Concentrations in Cats with Early Nonazotemic Chronic Kidney Disease and in Healthy Geriatric Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(2), 227–233. <https://doi.org/10.1111/jvim.12036>
- Foster, JD. (2013). Canine Chronic Kidney Disease. *Today's Veterinary Practice*.
- Geddes, R. F., Elliott, J., & Syme, H. M. (2013). The Effect of Feeding a Renal Diet on Plasma Fibroblast Growth Factor 23 Concentrations in Cats with Stable Azotemic Chronic Kidney Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(6), 1354–1361. <https://doi.org/10.1111/jvim.12187>
- Geddes, R. F., Finch, N. C., Elliott, J., & Syme, H. M. (2013). Fibroblast Growth Factor 23 in Feline Chronic Kidney Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(2), 234–241. <https://doi.org/10.1111/jvim.12044>
- Grauer, F. (2015). Feline Chronic Kidney Disease. *Today's Vet Pract.*, 36–41.
- Grelová, S., Karasová, M., Tóthová, C., Kisková, T., Baranová, D., Lukáč, B., Fialkovičová, M., Micháľová, A., Kunay, L., & Svoboda, M. (2022a). Relationship between FGF 23, SDMA, Urea, Creatinine and Phosphate in Relation to Feline Chronic Kidney Disease. *Animals*, 12(17), 2247. <https://doi.org/10.3390/ani12172247>

- Grelová, S., Karasová, M., Tóthová, C., Kisková, T., Baranová, D., Lukáč, B., Fialkovičová, M., Micháľová, A., Kunay, L., & Svoboda, M. (2022b). Relationship between FGF 23, SDMA, Urea, Creatinine and Phosphate in Relation to Feline Chronic Kidney Disease. *Animals*, 12(17), 2247. <https://doi.org/10.3390/ani12172247>
- Griffin, S. (2020). Feline abdominal ultrasonography: what's normal? what's abnormal? The kidneys and perinephric space. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 22(5), 409–427. <https://doi.org/10.1177/1098612X20917598>
- Hall, J. A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., & Jewell, D. E. (2014). Comparison of Serum Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine as Kidney Function Biomarkers in Cats with Chronic Kidney Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(6), 1676–1683. <https://doi.org/10.1111/jvim.12445>
- Hokamp, J. A., & Nabity, M. B. (2016). Renal biomarkers in domestic species. *Veterinary Clinical Pathology*, 45(1), 28–56. <https://doi.org/10.1111/vcp.12333>
- Holloway, Andrew., & McConnell, J. F. (2013). *Bsava Manual Of Canine And Feline Radiography And Radiology A Foundation Manual*. BRITISH SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION.
- IRIS. (2023). *IRIS Guidelines*. <http://www.iris-kidney.com/guidelines/index.html>
- Junqueira, LC., & Carneiro, J. (2013). *Histología Básica, Texto e Atlas* (12.a ed.).
- Khan, T. M., & Khan, K. N. M. (2015). Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease. *Veterinary Pathology*, 52(3), 441–444. <https://doi.org/10.1177/0300985814568358>
- König, H. E., & Liebich, H. G. (2005). *Anatomía de los animales domésticos : texto y atlas en color* (1.a ed.).
- Lin, J., Lin, L., Chen, S., Yu, L., Chen, S., & Xia, Z. (2021). Serum fibroblast growth factor 23 (FGF-23): associations with hyperphosphatemia and clinical staging of feline chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 33(2), 288–293. <https://doi.org/10.1177/1040638720985563>
- Meneses, A., Schneeberger, K., Kruitwagen, H., Penning, L., Van Steenbeek, F., Burgener, I., & Spee, B. (2016). Intestinal Organoids—Current and Future Applications. *Veterinary Sciences*, 3(4), 31. <https://doi.org/10.3390/vetsci3040031>
- Miyakawa, H., Hsu, H., Ogawa, M., Akabane, R., Miyagawa, Y., & Takemura, N. (2021). Association between serum fibroblast growth factor-23 concentration and development of hyperphosphatemia in normophosphatemic dogs with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(5), 2296–2305. <https://doi.org/10.1111/jvim.16237>
- Nabity, M. B. (2018). Traditional Renal Biomarkers and New Approaches to Diagnostics. *Toxicologic Pathology*, 46(8), 999–1001. <https://doi.org/10.1177/0192623318800709>
- O'Neill, D. G., Elliott, J., Church, D. B., McGreevy, P. D., Thomson, P. C., & Brodbelt, D. C. (2013). Chronic Kidney Disease in Dogs in <scp>UK</scp> Veterinary Practices: Prevalence, Risk Factors, and Survival. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(4), 814–821. <https://doi.org/10.1111/jvim.12090>
- Paepe, D., & Daminet, S. (2013). Feline CKD. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(1_suppl), 15–27. <https://doi.org/10.1177/1098612X13495235>

- Polzin D. (2017). Chronic Kidney Disease. Em Ettinger SJ, Feldman EC, & Côté C. (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and the cat* (8.a ed., pp. 4693–4728). Elsevier.
- Polzin, D. J. (2011). Chronic Kidney Disease in Small Animals. Em *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* (Vol. 41, pp. 15–30). <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.09.004>
- Polzin, D. J. (2013). Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23(2), 205–215. <https://doi.org/10.1111/vec.12034>
- Relford, R., Robertson, J., & Clements, C. (2016). Symmetric Dimethylarginine: Improving the Diagnosis and Staging of Chronic Kidney Disease in Small Animals. Em *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* (Vol. 46, Número 6, pp. 941–960). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.06.010>
- Ross, L. A., & Labato, M. A. (2013). Current techniques in peritoneal dialysis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23(2), 230–240. <https://doi.org/10.1111/vec.12035>
- Segev, G. (2018). *Biomarkers of kidney disease: potential utilities*. http://www.iriskidney.com/education/renal_biomarkers.html.
- Sparkes, A. H., Caney, S., Chalhoub, S., Elliott, J., Finch, N., Gajanayake, I., Langston, C., Lefebvre, H. P., White, J., & Quimby, J. (2016). ISFM Consensus Guidelines on the Diagnosis and Management of Feline Chronic Kidney Disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18(3), 219–239. <https://doi.org/10.1177/1098612X16631234>
- Summers, S., Michael, H. T., Szlosek, D., & Mack, R. (2024). Blood fibroblast growth factor 23 concentration in cats with and without chronic kidney disease: a scoping review. Em *Journal of Feline Medicine and Surgery* (Vol. 26, Número 4). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/1098612X241234984>
- Ulleberg, T., Robben, J., Nordahl, K. M., Ulleberg, T., & Heiene, R. (2011). Plasma creatinine in dogs: Intra- and inter-laboratory variation in 10 European veterinary laboratories. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53(1). <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-25>
- Yerramilli, M., Farace, G., Quinn, J., & Yerramilli, M. (2016). Kidney Disease and the Nexus of Chronic Kidney Disease and Acute Kidney Injury: The Role of Novel Biomarkers as Early and Accurate Diagnostics. Em *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* (Vol. 46, Número 6, pp. 961–993). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.06.011>