

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE

UNICENTRO-PR

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL EM CÃES
NÃO AZOTÊMICOS IDOSOS.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

JULIANA HORST IURKIW

GUARAPUAVA-PR

2024

JULIANA HORST IURKIW

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL EM CÃES NÃO AZOTÊMICOS IDOSOS

Dissertação apresentada a Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Saúde Animal e Produção Animal Sustentável, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.^a Dra. Margarete K. Falbo

Co-orientadora: Prof.^a Dra. Luciana Dalazen dos Santos

GUARAPUAVA-PR

2024

Catálogo na Publicação
Rede de Bibliotecas da Unicentro

I92a lurkiw, Juliana Horst
Avaliação da função renal em cães não azotêmicos idosos / Juliana Horst lurkiw. -- Guarapuava, 2024.
xvi, 74 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Área de Concentração: Saúde e Produção Animal Sustentável, 2024.

Orientadora: Margarete Kimie Falbo
Banca examinadora: Heloísa Godoi Bertagnon, Luciana Dalazen dos Santos, Ellen de Souza

Bibliografia

1. GGT urinária. 2. Relação proteína/creatinina urinária. 3. Rins. 4. Sênior.
I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

CDD 636

JULIANA HORST IURKIW

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL EM CÃES NÃO AZOTÊMICOS IDOSOS

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Saúde e Produção Animal Sustentável, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 28 de Junho de 2024.

Prof^a. Dr^a. Margarete Kimie Falbo – UNICENTRO

Presidente - Presencial

Prof^a. Dr^a. Heloisa Godoi Bertagnon – UNICENTRO

Membro - Presencial

Prof^a. Dr^a. Luciana Dalazen dos Santos – UNICENTRO

Membro - Presencial

Prof^a. Dr^a. Ellen de Souza Marquez – UENP

Membro Externo - Online

GUARAPUAVA-PR
2024

CEUA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA/UNICENTRO

Ofício nº 012/2023 – CEUA/UNICENTRO

Guarapuava, 25/05/2023

Senhora Pesquisadora,

1. Comunicamos que seu projeto de pesquisa intitulado: “**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES NA DETECÇÃO PRECOCE DA INJÚRIA RENAL AGUDA EM CÃES HÍGIDOS DE MEIA IDADE A IDOSOS**”, protocolo número 008/2023, com início em 01/06/2023 e término em 01/04/2024, finalidade – PESQUISA, com 111 animais, foi analisado e considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais de nossa Instituição em Reunião Ordinária do dia 24/05/2023.

2. Deverá ser encaminhado à CEUA o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento do mesmo.

3. Observamos ainda que se mantenha a devida atenção aos Relatórios Parciais e Finais na seguinte ordem:

- Os **Relatórios Parciais** deverão ser encaminhados à CEUA assim que tenha **transcorrido um ano da pesquisa**.

- Os **Relatórios Finais** deverão ser encaminhados à CEUA em até **30 dias após a conclusão da pesquisa**.

- **Qualquer alteração na pesquisa** que foi aprovada, como por exemplo, números de sujeitos, local, período, etc. deverá ser necessariamente enviada uma carta justificativa para a análise da CEUA.

Pesquisadora: Margarete Kimie Falbo
Atenciosamente,



Rafael Augusto Gregati
Presidente da Ceua/Unicentro
PORTARIA Nº 359-GR/Unicentro-2021

A Senhora, Margarete Kimie Falbo

UNICENTRO-CEDETEG

Dedico este trabalho ao meu amado
Fernando Cuéllar Fernandes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, por me guiar pelo melhor caminho, pelo dom de auxiliar na cura dos animais e a Maria por passar na frente.

Ao meu amor Fernando, gatinho, sou imensamente grata por fazer dos meus sonhos os seus! Gratidão por toda a cumplicidade, companheirismo, dedicação, cuidado e amor. Tu és um grande tesouro em minha vida. Te amo muito.

À minha mãe, Suzane (*in memoriam*), que estará sempre comigo em meu coração. Espero que esteja orgulhosa de mim aí do céu. Te amo para sempre, mãezinha. Ao meu pai, Augusto, gratidão por todo o amor, apoio e motivação. Aos meus irmãos, Augusto Júnior e Mayra, pelo incentivo e carinho. Aos meus sobrinhos, Victor, Francisco e Elias, por trazerem tanta alegria à minha vida.

À minha querida orientadora, Prof.^a Margarete, pela acolhida durante essa trajetória. Gratidão pelos imensos ensinamentos, zelo, conselhos, paciência, carinho e por acreditar em meu potencial e fazer com que esse sonho se realizasse. E a minha co-orientadora, Prof.^a Luciana Dalazen, pelo auxílio nos dias de coleta, pela dedicação, carinho e apoio. Sua ajuda essencial para a realização desse trabalho. À médica veterinária ultrassonografista, Prof.^a Luciana Amaral. Gratidão por todos os dias de coleta de material e realização dos exames ultrassonográficos. Sem seu esforço e dedicação, este trabalho não seria o mesmo.

À minha amiga Danielle por todo o carinho, dedicação e empenho em todas as coletas. A minha amiga Marcela por todo incentivo e auxílio. Nossa amizade me deu força e coragem para seguir em frente, gratidão por tê-las em minha vida. Agradeço aos meus queridos estagiários do Lapaclin: Julia, Elizabete, Cristine, Celina, Felipe e Andrey, por me auxiliarem nas coletas e realização dos exames. A ajuda de vocês foi essencial para a realização deste trabalho.

Aos meus amados filhos de quatro patas, Zork, Camilo, Titi e Otto, e às minhas anjinhas, Amora e Cherry: vocês me auxiliam, inspiram e tornam minha vida mais doce e alegre. Amo vocês!

Expresso minha imensa gratidão aos cães que participaram do estudo, vocês são verdadeiros anjos na terra; e a todos os tutores que confiaram a mim seus pets: gratidão!

Agradeço à CAPES pelo apoio à ciência.

“As estrelas são todas iluminadas...
Será que elas brilham para que cada
um possa encontrar a sua? “

Antoine de Saint-Exupéry.

RESUMO

Juliana Horst Iurkiw. Avaliação da função renal em cães não azotêmicos idosos. Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Guarapuava-PR.

A saúde renal é fundamental para o bem-estar dos animais, mas pode ser prejudicada por condições como a injúria renal aguda e a doença renal crônica, o que torna importante a avaliação de biomarcadores com o intuito de aumentar a longevidade e a qualidade de vida dos pacientes geriátricos. O objetivo desse estudo foi avaliar a saúde renal de cães idosos não azotêmicos por meio de biomarcadores de rotina como UPC (relação proteína/creatinina), urinálise, excreção fracionada de cloreto (EFCl), dosagens de gama-glutamilttransferase urinária (uGGT) e fosfatase alcalina urinária (uFA) na identificação precoce da injúria renal e comparar com as alterações estruturais por meio da ultrassonografia renal. Num total de 106 cães avaliados, foram selecionados 74 animais para o grupo idoso com idade de 7 a 17 anos e 12 cães do grupo jovem com idade de 1 a 4 anos. Foram excluídos do estudo animais com creatinina sérica (sCr) >1,4 mg/dL, ou doenças pré-existentes. Realizados os exames de hemograma, bioquímicos séricos: sCr, ureia, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase, sódio e potássio, e urinários: UPC, uGGT, uFA e EFCl, e urinálise. Em uma parcela dos cães que apresentaram alteração no exame de UPC foi realizado exame ultrassonográfico. Foram encontradas diferenças estatísticas nos exames UPC e relação uGGT/uCr ($p < 0.05$). Os exames de UPC e uGGT foram eficazes na detecção de injúria renal, quando comparado aos demais testes realizados como a creatinina e ureia séricas, e EFCl. Esses exames, em conjunto com avaliação ultrassonográfica, auxiliam o clínico no melhor manejo do paciente idoso.

Palavras-chave: GGT urinária, relação proteína/creatinina urinária, rins, sênior.

ABSTRACT

Juliana Horst Iurkiw. Evaluation of renal function in non -elderly blue dogs. Midwest State University - Unicentro. Dissertation (Master in Veterinary Sciences), Guarapuava-PR.

Renal health is fundamental to animal welfare, but can be harmed by conditions such as acute kidney injury and chronic kidney disease, which makes biomarkers evaluation important in order to increase longevity and quality. of life of the geriatric patients. The objective of this study was to evaluate the kidney health of non-azothemical elderly dogs through routine biomarkers such as UPC (protein/creatinine relationship), urinesis, fractional chloride excretion (FECl), urinary gamma-gammiltransferase (uGGT) and phosphate Urinary Alkaline (uALP) in the early identification of renal injury and compare with structural changes through renal ultrasound. In a total of 106 dogs evaluated, 74 animals were selected for the elderly group aged 7 to 17 years and 12 dogs of the young group aged 1 to 4 years. Animal animals with serum creatinine (sCr) > 1.4 mg/dL, or pre-existing diseases were excluded from the study. Performed the exams of blood count, serum biochemicals: sCr, urea, alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, sodium and potassium, and urinary: UPC, uGGT, uALP and FECl, as well as urinalysis. In a portion of dogs that had a change in the UPC exam, ultrasound exam was performed. Statistical differences were found in UPC exams and uGGT/uCr ratio ($p < 0.05$). UPC and uGGT exams were effective in detecting renal injury when compared to other tests such as serum creatinine and urea, and FECl. These tests, together with ultrasound evaluation, assist the clinician in the best management of the elderly patient.

Keywords: Urinary GGT, Protein Relationship/Urinary Creatinine, Kidneys, Senior.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1- Classificação da Injúria Renal Aguda (IRA) em pré-renal, renal e pós renal e suas causas.....	19
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classificação da Injúria Renal Aguda (IRA), segundo a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) conforme os níveis de creatinina no sérica e descrição clínica do quadro do paciente.....	21
Tabela 2- Estadiamento da doença renal crônica (DRC) segundo a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) conforme os níveis de creatinina sérica e SDMA, e a descrição clínica do quadro do paciente.....	23
Tabela 3- Valores da relação proteína/creatinina urinária (UPC), segundo a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) e a definição do quadro do paciente.....	24
Tabela 4- Valores da pressão arterial sistólica, subestágio a pressão arterial e o risco de danos futuros a órgãos alvo segundo a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS).....	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AINE- anti-inflamatório não esteroidal
- ALT- alanina aminotransferase
- CEUA- comissão de ética no uso de animais
- uCl- cloreto urinário
- sCr- creatinina sérica
- uCr- creatinina urinária
- DRC- doença renal crônica
- EDTA- ácido etileno-diamino-tetra-acético
- EFCI- excreção fracionada de cloreto
- FA- fosfatase alcalina
- uFA- fosfatase alcalina urinária
- uGGT- gama-glutamilttransferase urinária
- IC- intervalo de confiança
- IRA- injúria renal aguda
- IRC- insuficiência renal crônica
- IRIS- Sociedade Internacional de Interesse Renal
- K- potássio
- LRA- lesão renal aguda
- Na- sódio
- NTA- necrose tubular aguda
- SDMA- dimetilarginina simétrica sérica
- SRD- sem raça definida
- ®- marca registrada
- TFG- taxa de filtração glomerular
- UPC- relação proteína/creatinina urinária

LISTA DE SÍMBOLOS

g/dL- gramas por decilitro

μg/dL- micrograma por decilitro

/μl- microlitros

mEq/L- miliequivalente por litro

mg/dL- miligramas por decilitro

p/c- por campo

%- porcentagem

UI/L- unidade internacional por litro

$\times 10^6/\mu\text{l}$ - vezes dez a sexta por microlitro

SUMÁRIO

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xiii
LISTA DE SÍMBOLOS.....	xiv
SUMÁRIO.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivo específico.....	18
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
3.1 Injúria Renal Aguda.....	18
3.1.1 Estadiamento da Injúria Renal Aguda.....	20
3.2 Doença Renal Crônica.....	22
3.1.1 Estadiamento da Doença Renal Crônica.....	23
3.3 Diferenciação da Injúria Renal Aguda e Doença Renal Crônica.....	25
3.4 Biomarcadores Renais.....	25
3.4.1 Taxa de Filtração Glomerular.....	26
3.4.2 Creatinina Sérica.....	27
3.4.3 Ureia Sérica.....	27
3.4.4 Sódio Sérico.....	28
3.4.5 Potássio Sérico.....	29
3.4.6 Cistatina C.....	30
3.4.7 Dimetilarginina simétrica.....	31
3.4.8 Gama-glutamil transpeptidase urinária.....	31
3.4.9 Fosfatase Alcalina Urinária.....	32
3.4.10 Relação proteína/creatinina urinária.....	33

3.4.11 Urinálise.....	33
3.5 Diagnóstico Ultrassonográfico Renal.....	34
3.6 Biópsia Renal.....	35
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
5. ARTIGO- (Research in Veterinary Science).....	1
Saúde renal em cães idosos não azotêmicos: análise dos biomarcadores de avaliação.....	1
6. NORMAS REVISTA-Research in Veterinary Science.....	54

1. INTRODUÇÃO

A saúde renal é crucial para o bem-estar dos animais, porém pode ser comprometida por condições como a injúria renal aguda (IRA) e a doença renal crônica (DRC). A IRA é caracterizada pela rápida deterioração da função renal devido a danos agudos nos endotélios, glomérulos, túbulos ou interstícios (Teran, 2022). Sem o diagnóstico precoce, pode progredir para o desenvolvimento de DRC, que pode ocorrer em qualquer idade, embora os idosos sejam os mais propensos (Dunaevich, 2020). A DRC é definida como a perda progressiva e irreversível das funções renais, onde a presença de anormalidades estruturais ou funcionais de um ou ambos os rins ocorrem por um período de 3 meses ou mais (Grauer, 2011; O'Neill *et al.*, 2013). Ambas as condições irão comprometer a taxa de filtração glomerular (TFG) (Monteiro, 2022).

A TFG é considerada o padrão-ouro para avaliação da função renal (Loane *et al.*, 2022), entretanto devida a complexidade de execução é pouco utilizada na medicina veterinária (Iwasa *et al.*, 2018). Usualmente, os biomarcadores séricos da avaliação renal são a creatinina e ureia, por apresentar baixo custo e fácil realização, e mais recentemente a dimetilarginina simétrica (SDMA) (Miyagawa *et al.*, 2021; Paes-Leme *et al.*, 2021). Além disso, há os biomarcadores urinários como a γ -gama-glutamiltransferase urinária (uGGT) e fosfatase alcalina urinária (uFA), que se detectadas indicam lesão tubular renal ativa (Nabity e Hokamp, 2023); e a relação proteína/creatinina urinária (UPC) que oferece uma avaliação eficaz da quantidade de proteína eliminada pela urina (Dornelas, 2019).

Como complemento diagnóstico pode ser realizado o exame ultrassonográfico, que é uma ferramenta valiosa para avaliar os rins em pequenos animais, pois permite uma avaliação não invasiva, com ampla disponibilidade e segurança. Este exame é capaz de detectar alterações no tamanho, formato, parênquima, ecogenicidade e arquitetura renal, auxiliando no diagnóstico e monitoramento das condições renais (Mattei *et al.*, 2019).

Portanto, esse trabalho teve por objetivo avaliar a saúde renal de cães idosos não azotêmicos por meio de biomarcadores séricos e urinários acessíveis economicamente, e comparar com a ultrassonografia renal.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a saúde renal de cães idosos por meio de biomarcadores séricos e urinários.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar a saúde renal de cães idosos não azotêmicos por meio de biomarcadores de rotina como UPC (relação proteína/creatinina), urinálise, excreção fracionada de Cl, dosagens de uGGT, uFA na identificação precoce da injúria renal e comparar com as alterações estruturais por meio da ultrassonografia renal.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Injúria Renal Aguda

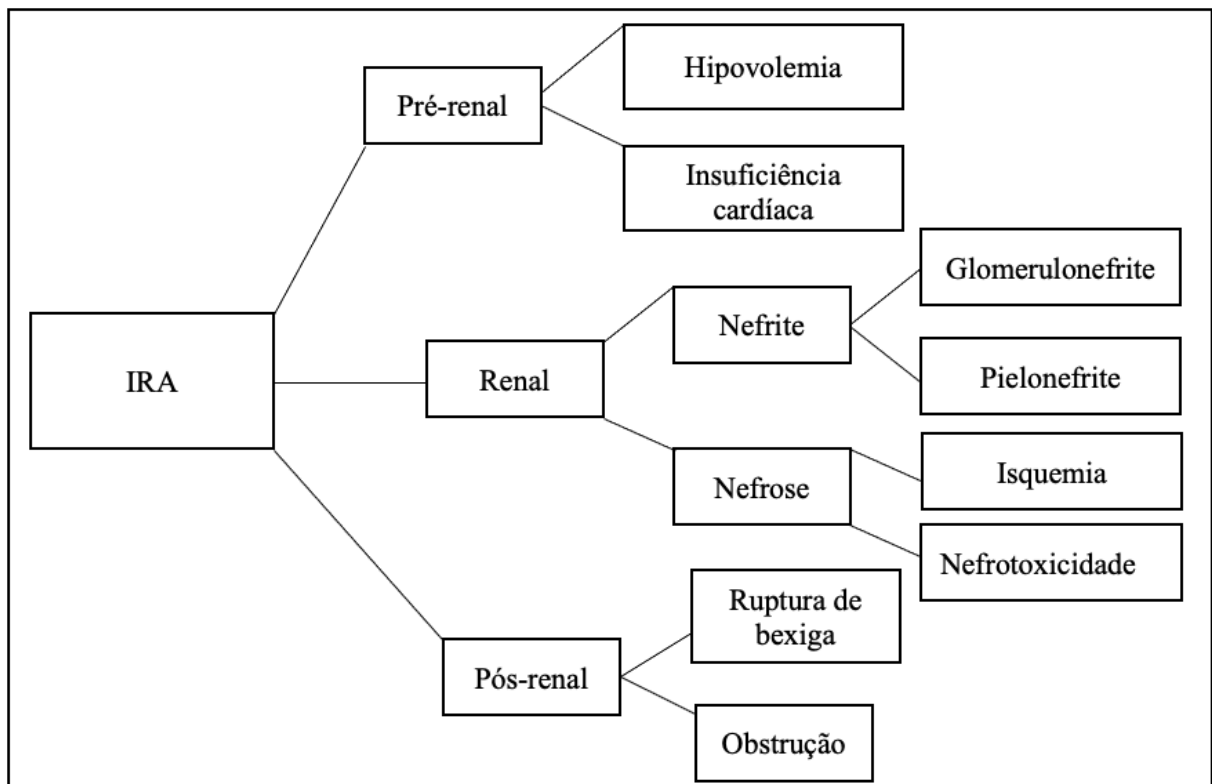
A injúria renal aguda (IRA) é o termo atual, para substituir a expressão anterior "insuficiência renal aguda". Essa nova terminologia destaca a ideia de que ocorre o dano renal contínuo mesmo antes que haja uma perda significativa da capacidade excretora dos rins, e que essa seja suficiente para causar alterações nos resultados dos exames laboratoriais (Souza, 2017).

A IRA se caracteriza pela rápida deterioração da função renal, resultante de danos agudos nos endotélios, glomérulos, túbulos ou interstícios (Teran, 2022). Tal dano compromete significativamente a taxa de filtração glomerular (TFG), levando ao desenvolvimento de azotemia e sinais de uremia (Dunaevich, 2020). A diminuição repentina da função renal ocorre em questão de horas ou dias e se manifesta através do aumento de substâncias nitrogenadas no sangue, como creatinina e ureia (Souza, 2017).

Segundo a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS), a IRA varia desde uma lesão renal leve e assintomática até uma insuficiência renal grave. Essas condições são causadas por diferentes agressores, como obstrução, infecção, isquemia ou agentes tóxicos que afetam os rins. Portanto, a proposta de classificação da IRA tem como objetivo reconhecer a gravidade da doença, o que possibilita um acompanhamento mais preciso e um manejo clínico mais eficaz dos pacientes (Cowgill *et al.*, 2016).

Para um gerenciamento mais eficaz da IRA, ela é dividida em três categorias: pré-renal, renal e pós-renal, variando de acordo com a origem, representada na figura 1.

Figura 1- Classificação da Injúria Renal Aguda (IRA) em pré-renal, renal e pós renal, de acordo com suas causas.



Fonte: Tassini, 2021.

A IRA pré-renal acontece quando o fluxo sanguíneo renal diminui, resultando em uma TFG reduzida. Esta classificação ocorre em cerca de 55% dos casos de IRA (Sharfuddin e Molitoris, 2011). Fisiologicamente, os rins recebem aproximadamente 20 a 25% do fluxo sanguíneo proveniente do coração, portanto, qualquer condição que afete a dinâmica sanguínea, como desidratação, anemia, redução do débito cardíaco, sedação, hipovolemia ou hemorragia,

pode comprometer a irrigação sanguínea dos rins (Tassini, 2021). Se a redução prolongada do fluxo sanguíneo renal persistir, a isquemia resultante pode levar ao desenvolvimento de necrose tubular aguda ou lesão renal intrínseca (Souza, 2017).

A IRA renal ou também chamada de intrínseca, ocorre quando há danos na estrutura do néfron. Os principais tipos de lesão renal afetam os túbulos e o interstício, resultando em lesão tubular aguda, necrose tubular, ou inflamação intersticial com comprometimento tubular. Podendo ser categorizada em necrose tubular aguda (NTA) isquêmica ou nefrotóxica, com a possibilidade da combinação de ambas (Souza, 2017). A NTA isquêmica ocorre frequentemente em pacientes hospitalizados em estado crítico, hipovolemia intensa ou quadros de sepse, especialmente quando associado ao uso de substâncias nefrotóxicas. Já a NTA nefrotóxica ocorre devido a lesões causadas pela exposição a substâncias como medicamentos potencialmente nefrotóxicos (antibióticos, anti-inflamatório não esteroideal (AINE) e antifúngicos), agentes quimioterápicos e também por nefrotoxinas endógenas (Monteiro, 2022).

Por fim, a IRA de origem pós-renal que ocorre devido à obstrução do fluxo urinário, geralmente causada por cálculos renais, ureterais, neoplasias e rupturas de bexiga (Monteiro, 2022). Tal obstrução pode aumentar a pressão de líquido nos túbulos renais, resultando na redução da filtração glomerular e no acúmulo de catabólicos no organismo do animal. Embora seja reversível se a causa for corrigida rapidamente, uma obstrução prolongada pode levar a lesões irreversíveis (Tassini, 2021).

3.1.1 Estadiamento da IRA

A classificação da IRA pela IRIS pode ser aplicada mesmo em pacientes instáveis, categorizando a lesão em cinco estágios com base nos níveis séricos de creatinina e na produção de urina. Pequenos aumentos na creatinina sérica ou alterações no fluxo urinário, indicam disfunção renal (Iris, 2016).

A classificação da IRA conforme IRIS (2016), está descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Classificação da Injúria Renal Aguda (IRA), segundo a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) conforme os níveis de creatinina no sérica e descrição clínica do quadro do paciente.

Estágios da IRA	Creatinina Sérica (mg/dL)	Descrição clínica
Estágio I	<1.6	IRA não azotêmica: - IRA documentada (histórico, clínica, laboratório ou evidência de IRA em imagem); - Aumento progressivo não azotêmico na creatinina sérica, ≥ 0.3 mg/dL dentro de 48 horas; - Oligúria (<1mL/Kg/h) ou anúria por mais de 6 horas.
Estágio II	1.7 – 2.5	IRA média: - IRA documentada e estática ou azotemia progressiva: aumento progressivo e azotêmico na creatinina sérica, ≥ 0.3 mg/dL dentro de 48 horas; - Oligúria (<1mL/Kg/h) ou anúria por mais de 6 horas.
Estágio III	2.6 – 5.0	IRA moderada a grave:
Estágio IV	5.1 – 10.0	- IRA documentada e aumento grave de azotemia e prejuízo de função renal.
Estágio V	>10.0	

Fonte: IRIS, 2016.

Esse método de estadiamento visa avaliar a gravidade da doença, ajudar a determinar o tratamento e prognóstico adequados. De acordo com essa classificação, mesmo pacientes sem azotemia são considerados com IRA se houver um aumento progressivo de creatinina ≥ 0.3 mg/dL em 48 horas (Tassini, 2021).

Animais classificados nos estágios I e II podem recuperar a função renal em um período de dois a cinco dias, muitas vezes sem necessidade de acompanhamento em longo prazo. Por outro lado, animais nos estágios mais avançados da doença, ou cuja condição progride durante a hospitalização, podem demandar suporte por um período prolongado até que o reparo da função renal se inicie (Souza, 2017). O prognóstico é influenciado pela causa subjacente, mas podem apresentar resultados desfavoráveis quando associados a uremia grave, anemia, diminuição da produção de urina, baixos níveis de potássio (K) e falta de resposta ao tratamento

de suporte (Monteiro, 2022). Além da alta taxa de mortalidade, uma possível consequência da lesão renal aguda é o desenvolvimento de doença renal crônica (DRC) (Segev, 2022).

3.2 Doença Renal Crônica

A doença renal crônica (DRC) é o termo atual, para substituir a terminologia anterior “insuficiência renal crônica” que sugeria exclusivamente a fase final da doença renal, na qual o paciente não sobreviveria sem hemodiálise. Contudo, é importante ressaltar que a doença pode ser crônica sem necessariamente atingir um estágio terminal, ou mesmo sem resultar na perda completa da funcionalidade renal (Olsen e Van Galen, 2022).

A definição de DRC se dá pela presença de anormalidades estruturais ou funcionais de um ou ambos os rins por um período de 3 meses ou mais (O’Neill *et al.*, 2013). Caracteriza-se pela perda progressiva e irreversível das funções renais, tal condição resulta no acúmulo de produtos nitrogenados, desequilíbrio hidroeletrólítico e ácido-base, além de alterações nas funções metabólicas, endócrinas e excretoras dos rins (Monteiro, 2022). No decorrer do curso da doença ocorre o comprometimento dos glomérulos, túbulos e interstício, resultando na perda progressiva de néfrons e na diminuição da TFG. Os rins possuem uma reserva funcional e mecanismos compensatórios que podem retardar a manifestação de disfunção renal por um período variável (Martínez e Carvalho, 2010). A DRC pode ser causada de maneira congênita, hereditária ou adquirida.

Para diagnosticar as causas congênitas e hereditárias, é crucial considerar o histórico familiar, incluindo informações como idade, raça, início dos sintomas, além de realizar avaliações ultrassonográficas e hematológicas (Grauer, 2011), dados que se tornam mais difíceis na medicina veterinária. Entre as causas mais comuns da DRC adquirida estão as de natureza imunomediada, isquêmica, nefrotóxica, obstrutiva, neoplásica ou idiopática (Bartges, 2012).

A prevalência da DRC em cães aumenta de acordo com a idade, sugerindo que isso esteja relacionado com a diminuição da TFG com o aumento da idade, possivelmente devido a danos irreversíveis nos néfrons que se acumularam ao longo da vida (O’Neill *et al.*, 2013). Detectar a doença precocemente possibilita a rápida implementação de medidas terapêuticas e de um manejo adequado, visando a desacelerar sua progressão, para que os pacientes tenham um maior tempo e qualidade de vida (IRIS, 2023).

3.2.1 Estadiamento da DRC

O estadiamento da DRC, conforme a IRIS (2023), está representado na tabela 2.

Tabela 2: Estadiamento da doença renal crônica (DRC) segundo a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) conforme os níveis de creatinina sérica (sCr) e dimetil-arginina-simétrica (SDMA), e a descrição clínica do quadro do paciente.

Estágios de DRC	sCr (mg/dL) [#] SDMA (µg/dL) ^{##}	Descrição clínica
I	<1.4 [#] <18 ^{##}	- Inabilidade de concentração da urina na ausência de causa extrarrenal identificável; - Palpação ou imagem renal alterada; - Proteinúria de origem renal; - Anormalidade histopatológica dos rins; - Aumento da creatinina sérica ou SDMA em amostras coletadas em série, ainda que dentro dos valores de referência.
II	1.4-2.8 [#] 18-35 ^{##}	- Creatinina sérica normal ou levemente aumentada; - SDMA levemente aumentado; - Azotemia leve; - Sinais clínicos normalmente estão ausentes ou discretos.
III	2.9-5.0 [#] 36-54 ^{##}	- Azotemia renal moderada; - Sinais clínicos extrarrenais podem estar presentes, esses são inespecíficos e incluem: poliúria, poli-dipsia, apetite seletivo, emagrecimento progressivo, êmese e diarreia.
IV	>5.0 [#] >54 ^{##}	- Azotemia renal grave; - Nessa fase o animal pode ter sinais clínicos sistêmicos e síndrome urêmica.

Fonte: IRIS, 2023.

A categorização é feita de acordo com as diretrizes da IRIS (2023), tal estadiamento é realizado após o diagnóstico da DRC, para que se possa padronizar o tratamento de acordo com a gravidade da doença e auxiliar no prognóstico. O estadiamento se baseia na mensuração dos níveis séricos de creatinina, ou SDMA; preferencialmente de ambos. A medição da creatinina deve ser realizada em pelo menos dois momentos distintos, com o paciente estável e em jejum alimentar por 8-12 horas. A IRIS também recomenda a mensuração da relação

proteína/creatinina urinária (UPC) (tabela 3) e pressão arterial (tabela 4) para que se tenha um parâmetro completo da saúde do paciente e qual estágio da doença se enquadra.

Tabela 3: Valores da relação proteína/creatinina urinária (UPC), segundo a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) e sua definição.

Valores UPC	Definição
<0.2	Não proteinúricos
0.2 à 0.5	Proteinúrico limítrofe
>0.5	Proteinúricos.

Fonte: IRIS, 2023.

Tabela 4: Valores da pressão arterial sistólica (mmHg), subestágio a pressão arterial e o risco de danos futuros a órgãos alvo segundo a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS).

Pressão arterial sistólica (mmHg)	Subestágio da pressão arterial	Risco de danos futuros a órgãos alvo
<140	Normal	Mínimo
140-159	Pré-hipertensivo	Baixo
160-179	Hipertensivo	Moderado
≥ 180	Severamente hipertensivo	Alto

Fonte: IRIS, 2023.

Ao realizar a aferição da pressão arterial é de suma importância que o paciente esteja ambientado e que seja realizado mais de uma medição antes de fechar o diagnóstico; sendo recomendável diversas aferições em dias diferentes, sempre esperando um tempo mínimo de duas horas entre elas (Souza, 2017). Com a junção dos parâmetros de creatinina sérica e SDMA, UPC e da aferição da pressão arterial pode ser estabelecido qual estágio da doença o paciente se encontra, tratamento e prognóstico do cão (Iris, 2023).

3.3 Diferenciação da IRA e DRC

Animais com DRC também podem desenvolver IRA associada, manifestando sinais de síndrome urêmica. É crucial distinguir se o animal está enfrentando apenas um episódio agudo de insuficiência renal ou se já há uma doença crônica subjacente (Monteiro, 2022). Distinguir entre IRA e DRC pode ser desafiador; a complexidade surge, porque os mesmos marcadores, como creatinina sérica e SDMA, são utilizados para diagnosticar ambas as condições. O esperado é que esses marcadores funcionais aumentem com qualquer diminuição da função renal, independentemente da doença subjacente. Assim, a diferenciação entre IRA e DRC baseia-se principalmente na história clínica, nos achados do exame físico, nos dados laboratoriais, nos resultados de exames de imagem e, ocasionalmente, na histologia (Segev, 2022).

Pode ocorrer anemia tanto em quadros de IRA como de DRC, a primeira devido a quadros infecciosos, e a segunda devido deficiência de eritropoetina (Monteiro, 2022). Os sinais clínicos de poliúria, polidipsia e alterações na densidade urinária, juntamente com sinais clínicos como emagrecimento progressivo, são manifestações frequentes em animais com DRC, contribuindo para o diagnóstico e planejamento do tratamento (Bartges, 2012). É de suma importância que pacientes que apresentem sinais de IRA ou DRC, mas sem anormalidades nas imagens renais, sejam acompanhados e avaliados regularmente com exames sanguíneos, para detectar se há persistência de azotemia e/ou proteinúria por um período igual ou superior a três meses (Polzin, 2013).

3.4 Biomarcadores renais

O termo biomarcador é definido como a determinação de uma variação biológica, podendo mensurar processos normais ou patológicos (Loor *et al.*, 2013). Os biomarcadores possibilitam a detecção de uma doença de forma não invasiva. No caso da doença renal, os biomarcadores mais comumente utilizados são os marcadores séricos ou plasmáticos da TFG e da perda de proteínas na urina (Nabity e Hokamp, 2023).

É de suma importância que existam biomarcadores que realizem a detecção precoce da lesão renal, antes do aparecimento dos sinais clínicos e do desenvolvimento de azotemia, e por consequência seja possível realizar as intervenções necessárias para retardar a progressão da

doença (Perondi *et al.*, 2019). Tanto na prática médica humana quanto na veterinária, há uma constante busca por biomarcadores mais sensíveis e específicos para possibilitar a identificação precoce da doença renal (Perondi *et al.*, 2019).

No entanto, para que um biomarcador seja clinicamente útil como exame complementar de diagnóstico, é ideal que seja sensível, auxilie no diagnóstico precoce de condições agudas e crônicas, estabeleça o risco do paciente, monitore a progressão da doença e forneça informações que ajudem na escolha da melhor abordagem terapêutica (Morrow e Lemos, 2007).

3.4.1 Taxa de Filtração Glomerular

Os marcadores exógenos usados para medir a taxa de filtração glomerular (TFG) são filtrados livremente pelo glomérulo, não se ligam às proteínas plasmáticas e não são reabsorvidos nem secretados pelos túbulos renais, como também não devem alterar a TFG. A utilização da inulina é recomendada embora seu uso seja desafiador devido ao estresse que o animal enfrenta ao permanecer em uma gaiola metabólica ou cateterizado para a coleta de urina durante 24 horas (Rabelo *et al.*, 2022). Assim, apesar da TFG ser considerada o padrão-ouro para avaliar a função renal (Loane *et al.*, 2022), sua aplicação na prática clínica de animais de companhia tem sido limitada devido à complexidade do procedimento (Iwasa *et al.*, 2018).

Ao interpretar alterações na TFG por métodos indiretos, é crucial considerar o histórico clínico do paciente, sinais clínicos, e resultados dos exames laboratoriais, especialmente em animais gravemente enfermos. Esses pacientes podem apresentar flutuações rápidas na função renal devido a mudanças na composição corporal, desequilíbrios hidroeletrólíticos e instabilidade hemodinâmica, o que diminui a sensibilidade dessa técnica (Monteiro, 2022).

A mensuração da TFG é particularmente benéfica em pacientes com níveis plasmáticos de creatinina no limite superior do intervalo de referência ou levemente elevados. Também é útil em animais poliúricos sem azotemia, na identificação de doenças renais hereditárias em raças predispostas, e na detecção precoce de nefrotoxicidade causada por medicamentos. Portanto, é crucial o desenvolvimento de um método acessível e simples para ser utilizado na prática clínica (Guerreiro, 2018).

3.4.2 Creatinina Sérica

A creatinina sérica (sCr) é derivada da degradação da creatina e da creatina-fosfato, substâncias encontradas nos músculos e nos alimentos (Dusse *et al.*, 2015). Sendo a sCr o biomarcador mais comumente utilizado para avaliar a TFG em animais, devido sua constante excreção ao longo do dia. Suas vantagens incluem a alta disponibilidade, baixo custo e facilidade de execução (Cobrin *et al.*, 2013).

Contudo, seus valores podem ser influenciados por fatores como sexo, estado de hidratação, estado nutricional, porte do animal, ou fase da vida (Hokamp e Nabyty, 2016). Podendo também variar dependendo do laboratório, intervalo de referência, como também da análise utilizada, o que pode reduzir sua sensibilidade e especificidade (Kovarikova, 2018).

Rotineiramente, as concentrações séricas de creatinina e ureia são usadas como testes de triagem para suspeitas de doença renal. No entanto, essas alterações só se tornam evidentes quando a taxa de filtração glomerular (TFG) já está comprometida em 75% ou mais. Além disso, esses testes não são precisos para avaliar danos tubulares renais (Silva *et al.*, 2022; Ilchyshyn *et al.*, 2018).

Apesar dessas limitações, a aferição da sCr é recomendada pela IRIS (2023) para o estadiamento da IRA e DRC, desde que seja realizado jejum alimentar prévio. Em casos de IRA, a hospitalização do paciente é comum, e a sCr pode ser útil para identificar precocemente os animais que necessitam de monitoramento após a ingestão de nefrotoxinas, especialmente quando ocorre um aumento progressivo superior a 0,3 mg/dL dentro de 48 horas. Mesmo após a recuperação, o paciente pode não apresentar evidências de DRC nos exames, devendo ser monitorado por um período de 3 meses (Rabelo *et al.*, 2022).

3.4.3 Ureia Sérica

A ureia é sintetizada no fígado a partir da amônia derivada do catabolismo dos aminoácidos, provenientes do catabolismo proteico exógeno (dieta) e endógeno (Guerreiro, 2018). Após, é filtrada pelos glomérulos e, posteriormente, retorna ao sangue por meio da reabsorção tubular, como a excreção da ureia ocorre principalmente por meio da filtração

glomerular, sua eliminação é afetada pela redução da TFG associada à doença renal (Dornelas, 2019; Guerreiro, 2018).

A ureia é o principal resíduo excretado na urina resultante do catabolismo das proteínas e é filtrada pelos glomérulos. Parte da ureia é reabsorvida nos túbulos proximais, o que faz dela um marcador menos sensível da taxa de filtração glomerular (TFG). Embora uma diminuição na TFG possa elevar os níveis de ureia no sangue, seus níveis também podem aumentar devido ao catabolismo proteico (Olsen e Galen, 2022).

A medição da ureia sérica é recomendada junto com a sCr, para que se tenha uma avaliação mais completa da função renal. Embora a ureia seja frequentemente utilizada como um indicador de função renal, ela possui limitações que comprometem sua precisão (Monteiro, 2022), pois concentrações aumentadas da enzima só se manifestam após 75% da massa funcional do néfron ser perdida (Harjen *et al.*, 2022).

Somado a isso, sua produção não é constante e há variações na reabsorção nos ductos coletores, além de fatores extrarrenais, como hemorragia gastrointestinal, uso de corticosteroides, dieta rica em proteínas, obstrução uretral e ruptura da bexiga, que podem resultar em aumento da concentração sérica. Observa-se redução desse analito em casos de insuficiência hepática, desnutrição ou dietas com baixo teor de proteínas (Dornelas, 2019; Monteiro, 2022).

3.4.4 Sódio

Os rins desempenham funções essenciais na manutenção da homeostase iônica, ácido-base e osmótica. A homeostase iônica envolve a regulação dos níveis de sódio (Na) e potássio (K) no organismo. Os níveis de Na são cruciais para a osmolaridade do líquido extravascular, enquanto o equilíbrio do K é fundamental para manter o potencial de repouso da membrana celular (Dornelas, 2019).

O Na é o principal íon extracelular, ele desempenha um papel crucial no controle do equilíbrio osmótico e tonicidade (Gomes e Pereira, 2021). Sua homeostase é regulada pelos sistemas gastrointestinal, renal e endócrino, sendo essencial para a manutenção do volume e da tonicidade dos fluidos corporais. Além disso, é fundamental para preservar o potencial de membrana, essencial em várias funções celulares especializadas, como a transmissão de impulsos nervosos e a contração muscular (Costa, 2021).

Nos rins, o transporte de água está intimamente associado ao movimento de Na de diferentes formas. A reabsorção do eletrólito no túbulo proximal ocorre de forma isosmótica e é ajustada para manter o volume sanguíneo. Na porção espessa ascendente da alça de Henle, a reabsorção de Na sem água é fundamental para a excreção do excesso de água e para a conservação da água, pela produção de urina diluída ou concentrada (Martínez e Carvalho, 2010).

A hiponatremia, caracterizada pela diminuição dos níveis séricos de Na, pode surgir de desequilíbrios no controle hídrico, geralmente decorrente de um defeito na excreção renal de água. Esse desequilíbrio pode ser resultado da ação primária da aldosterona, que elimina sal pela urina e em pequenas quantidades pelas fezes e suor, ou pela retenção de água. Tais situações podem reduzir a concentração sérica de Na abaixo do limite considerado normal para a espécie. Já a hipernatremia, que seria o aumento dos níveis séricos de Na, se manifesta quando há perda de líquidos hipotônicos, uma condição que pode ocorrer na IRA (Rodrigues, 2016).

3.4.5 Potássio

Os rins são responsáveis pela excreção de substâncias indesejadas do corpo, incluindo toxinas, medicamentos, excesso de vitaminas hidrossolúveis e potássio (K) (Dornelas, 2019). Sendo o K fundamental para o equilíbrio ácido-base, como também desempenha um papel crucial no mecanismo de regulação iônica, sendo que pelo menos 98% do K presente no corpo está localizado dentro das células (Costa, 2021).

No entanto, o equilíbrio desse íon depende significativamente da função renal. Pois, inicialmente, o K é filtrado pelos glomérulos e, em seguida, parcialmente reabsorvido no túbulo proximal, em conjunto com outros eletrólitos, como parte do processo de reabsorção isosmótica de líquido. Posteriormente, uma fração desse K pode ser secretada no túbulo distal (Martínez e Carvalho, 2010).

A hipercalemia, é caracterizada pelo aumento dos níveis séricos de K, podendo resultar em distúrbios clínicos, como fraqueza muscular (Costa, 2021). As manifestações clínicas da IRA são variadas e inespecíficas e incluem anorexia, letargia, vômitos, diarreia, poliúria e polidipsia. Além disso, pode haver decréscimo da produção de urina, que nem sempre está

presente e alterações laboratoriais como acidose metabólica e elevação nas concentrações de fósforo e potássio (Souza, 2017).

A hipocalcemia, que é caracterizada pela diminuição dos níveis sanguíneos de K, resulta em aumento do potencial de repouso e hiperpolarização celular; os animais acometidos apresentam fraqueza muscular, poliúria, polidipsia e hipostenúria (Costa, 2021). É mais frequentemente observada em pacientes com DRC devido a fatores como anorexia, perda de massa muscular, vômitos e poliúria, que juntos contribuem para a redução dos níveis séricos de K (Dornelas, 2019).

3.4.6 Cistatina C

A Cistatina C (Cys-C) é uma proteína de baixo peso molecular que atua como inibidor de proteases, auxiliando na manutenção do equilíbrio proteolítico no organismo. A Cys-C é filtrada livremente pelos glomérulos, reabsorvida e catabolizada pelas células tubulares proximais (Ko *et al.*, 2021; Nabity e Hokamp, 2023). É produzida continuamente por todas as células nucleadas e depurada por filtração glomerular, com aproximadamente 99% da Cys-C reabsorvida pelo epitélio tubular celular, não sendo secretada pelos túbulos renais (Iwasa *et al.*, 2018). Em cães, a Cys-C é encontrada no soro, líquido cefalorraquidiano, rins e no sistema nervoso central (Paes-Leme *et al.*, 2021).

Os níveis de Cys-C não são influenciados por fatores como inflamação, sexo ou idade (Ko *et al.*, 2021). Entre os fatores extrarrenais que afetam sua medição em humanos estão as desordens da tireoide, onde o hipotireoidismo aumenta e o hipertireoidismo reduz os níveis séricos desse biomarcador. Na medicina humana, a Cys-C é utilizada como um marcador complementar à creatinina para avaliar a TFG, para detecção precoce de DRC e como fator de prognóstico das funções renais (Nascimento *et al.*, 2017).

Embora seu uso ainda seja limitado dentro da medicina veterinária, o Conselho Internacional de Saúde Cardíaca de pequenos animais (ISACHC) recomenda a medição da Cys-C, uma vez que as alterações em seus níveis séricos podem estar associadas a distúrbios cardíacos (Iwasa *et al.*, 2018).

3.4.7 Dimetilarginina simétrica

A dimetilarginina simétrica (SDMA) é um aminoácido metilado, seu tamanho é semelhante ao da creatinina. Ela é encontrada em diversos órgãos, incluindo cérebro, fígado, pulmão, rim, baço e intestino delgado, sendo nos rins a principal fonte de excreção da SDMA (Hokamp e Nabity, 2016). Produzida durante a proteólise celular, a SDMA é filtrada e eliminada em até 90% pelos rins. Seus níveis não são influenciados por fatores como a massa muscular e idade (Olsen e Van Galen, 2022).

Como a SDMA não é influenciada pela massa muscular, ela oferece uma estimativa mais precisa da TFG em pacientes com redução da massa muscular, especialmente quando a creatinina está normal. A SDMA pode ser um marcador mais sensível da função renal, pois é menos afetada pela perda de massa corporal magra. Ela avalia com precisão a filtração glomerular e pode auxiliar no estadiamento da DRC (IRIS, 2023). Embora a SDMA seja eficaz na detecção da DRC, não apresenta resultados positivos na detecção da IRA (Loane *et al.*, 2022).

A SDMA foi incorporada às diretrizes da IRIS em 2015, com valores de referência atualizados em 2023. Ela foi reconhecida como um teste complementar à determinação da sCr na avaliação da função renal, com a finalidade de auxiliar no estadiamento da DRC (Silva *et al.*, 2020; Rabelo *et al.*, 2022). Alterações nos níveis de SDMA podem indicar uma subestimação do grau de disfunção renal. Por isso, as diretrizes recomendam o ajuste das orientações de tratamento para o estágio seguinte, com base nas concentrações de SDMA (Rabelo *et al.*, 2022).

3.4.8 Gama-glutamil transpeptidase urinária

A Gama-glutamil transpeptidase (GGT) é uma enzima peptidase localizada na borda em escova das células tubulares proximais renais, possui um alto peso molecular, não sendo filtrada livremente pelos glomérulos. Também não consegue atravessar um glomérulo saudável, portanto, sua presença na urina sugere injúria, frequentemente associada a danos no epitélio tubular ou necrose renal (Freitas *et al.*, 2014; Ilchyshyn *et al.*, 2018; Nabity e Hokamp, 2023).

Essa enzima desempenha um papel crucial no transporte e na manutenção da reserva de aminoácidos dentro da célula. Pequenas concentrações também são encontradas em outros

órgãos, como fígado, pâncreas, baço, pulmão, intestino delgado, placenta, sistema nervoso central, próstata e miocárdio (Hennemann *et al.*, 1997).

Embora a GGT seja uma das enzimas tubulares renais mais abundantes presentes na urina dos mamíferos após uma lesão tubular, ela não é estável, pois sua atividade diminui com o tempo. Por isso, é mais útil para detecção da IRA e menos eficaz para identificação da DRC (Perondi, 2019).

Como o exame de uGGT é realizado utilizando os mesmos reagentes empregados na bioquímica sérica, sua medição é de baixo custo, facilmente executada e fornece resultados extremamente úteis ao médico veterinário (Nivy *et al.*, 2017).

3.4.9 Fosfatase Alcalina urinária

A fosfatase alcalina é uma enzima localizada na borda em escova das células dos túbulos proximais renais, e devido ao seu alto peso molecular não é filtrada livremente pelos glomérulos. Portanto, quando detectada sua presença na urina, é sugestivo de uma lesão renal tubular ativa (Nabity e Hokamp, 2023).

A excreção elevada de fosfatase alcalina urinária (uFA), em combinação com outras enzimas urinárias como uGGT, pode sinalizar lesão renal antes do surgimento de proteinúria. A uFA é valorizada por sua capacidade de detectar precocemente lesão tubular, apresentando aumento da atividade em pacientes com necrose tubular aguda e nefropatia diabética (Souza, 2017).

Como a realização do exame de uFA é realizado com os mesmos reagentes da bioquímica sérica, sua avaliação se torna de baixo custo, fácil realização e execução e seu resultado é extremamente útil para o médico veterinário (Nivy *et al.*, 2017). No entanto, para que sua medição seja fidedigna devem ser realizados a partir com amostras de urina fresca, pois a atividade da enzima pode diminuir após o congelamento, limitando a capacidade de realizar estudos retrospectivos (Nabity e Hokamp, 2023).

3.4.10 Relação proteína/creatinina urinária

A relação proteína/creatinina urinária (UPC) é determinada dividindo-se a concentração de proteína pela concentração de creatinina em uma amostra de urina, seu objetivo é o de avaliar a quantidade de proteína eliminada pela urina (Dornelas, 2019). Portanto, quando realizado com uma única amostra de urina, essa análise pode oferecer uma avaliação tão eficaz quanto a TFG, porém com maior facilidade de execução (Menezes *et al.*, 2011), sendo que grande utilidade clínica dentro da medicina veterinária.

A maioria dos marcadores de lesão glomerular são proteínas de alto peso molecular originárias do sangue, que só conseguem atravessar uma barreira de filtração glomerular comprometida. Pois em condições normais a passagem de proteínas de alto peso molecular são impedidas pela barreira de filtração glomerular, e tal dano resulta nas alterações nos resultados da UPC (Nabity e Hokamp, 2023).

A proteinúria é comum em animais com DRC e indica lesão e disfunção glomerular devido à perda da seletividade da barreira de filtração glomerular. Distúrbios hemodinâmicos intra-glomerulares podem causar proteinúria mesmo sem anormalidades estruturais detectáveis na barreira de filtração. Dietas ricas em proteínas podem aumentar a proteinúria, possivelmente por alterações fisiológicas e hemodinâmicas, enquanto dietas pobres em proteínas podem reduzir a proteinúria ao diminuir a hipertensão glomerular (Dornelas, 2019). Porém, deve ser avaliada em conjunto com outros achados do sedimento urinário, como leucócitos, hemácias, bactérias, células epiteliais e cilindros, para determinar a origem da proteinúria (Souza, 2017).

O exame de UPC é extremamente valioso para o diagnóstico da DRC, proporcionando um método eficiente para avaliar a excreção urinária de proteínas (Dornelas, 2019). De acordo com as diretrizes da IRIS, o UPC é o padrão de referência para o estadiamento da DRC em cães e gatos (Grauer, 2022). Portanto, a proteinúria é um importante indicador prognóstico e deve ser considerada um marcador precoce sensível para o diagnóstico de doença renal em cães (Dornelas, 2019).

3.5 Urinálise

A urinálise é um exame fundamental para a avaliação do sistema urinário e apresenta excelente custo-benefício como teste de triagem para todas as espécies, pois é de fácil execução

e acessível economicamente, capaz de oferecer informações abrangentes não apenas sobre o sistema urinário, mas também sobre o organismo como um todo (Pereira *et al.*, 2019).

O exame inclui a análise física com os parâmetros de: volume, cor, turbidez e densidade por refratometria; e a análise química realizada por fitas reagentes de urina, com leitura dos seguintes parâmetros: pH, corpos cetônicos, glicose, proteínas, sangue oculto e bilirrubina (Thrall *et al.*, 2015).

Especificamente para pacientes com IRA, a urinálise fornece indicadores importantes para quadro clínico (Pereira *et al.*, 2019). A análise do sedimento urinário, particularmente a identificação de cilindros urinários e a mensuração da densidade urinária, pode ser útil para diagnosticar a IRA. No entanto, esses testes têm baixa sensibilidade e especificidade. Os indicadores urinários de IRA em cães incluem proteinúria, glicosúria, hematúria, presença de cilindros, células epiteliais tubulares renais e densidade urinária isostênica (Souza, 2017).

Contudo, a avaliação da densidade urinária deve ser sempre interpretada com base no estado de hidratação do paciente, pois uma urina diluída é considerada "normal" em casos de hiper-hidratação, já que os rins tentam eliminar o excesso de água. A urina isostênica (densidade de 1.008 a 1.012) é anormal em animais desidratados e azotêmicos, sugerindo possível lesão tubular renal. A presença persistente de urina diluída em pacientes não azotêmicos também indica uma anormalidade, que pode estar associada a problemas renais (Thrall *et al.*, 2015).

3.6 Diagnóstico ultrassonográfico renal

O exame de ultrassonografia renal possibilita que seja realizado uma avaliação não invasiva da estrutura interna dos rins, fornecendo dados sobre anormalidades do parênquima. Devido à sua ampla disponibilidade, baixo custo, segurança e facilidade de realização, a ultrassonografia é o exame de imagem de escolha para investigar doenças renais (Mattei *et al.*, 2019).

Em cães com IRA é comum encontrar aumento da ecogenicidade, do tamanho do órgão e espessura da cortical, porém mantendo a definição corticomedular (Monteiro, 2022). Já em cães com DRC as alterações ultrassonográficas podem ou não ser observadas, a depender da fase da doença. À medida que a doença progride, o córtex renal tende a aumentar devido à substituição dos néfrons danificados por tecido conjuntivo fibroso. Assim, na DRC, é comum

encontrar um córtex renal hiperecoico e alteração na definição corticomedular. Além disso, podem ser observadas redução do tamanho do órgão, irregularidades na superfície e áreas de infarto (Polzin, 2013).

3.7 Biópsia renal

A realização do exame de biópsia renal (BR) é recomendada quando os resultados possam influenciar no tratamento ou prognóstico da doença renal, incluindo pacientes com glomerulopatias ou IRA. Ela também é utilizada para avaliar a resposta ao tratamento, progressão ou reversibilidade da doença renal (Melchert *et al.*, 2010).

A técnica de BR pode ser realizada com auxílio do US, o que reduz o índice de complicações hemorrágicas e melhora a qualidade das amostras obtidas, tanto em humanos como nos animais (Maya *et al.*, 2007). Contudo, a BR pode ser realizada por ultrassom, vídeo ou laparotomia exploratória, e é recomendada quando os benefícios superam as contraindicações. A imobilização do paciente é de crucial para a realização adequada da biópsia, sendo importante que o paciente esteja em anestesia geral. A avaliação histopatológica é indicada para pacientes com suspeita de doenças glomerulares, pois os resultados da biópsia podem influenciar a conduta clínica e o prognóstico (Rabelo *et al.*, 2022).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARTGES, J. W. Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [S.L.], v. 42, n. 4, p. 669-692, jul. 2012.

COBRIN, A. R.; BLOIS, S. L.; KRUTH, S. A.; ABRAMS-OGG, A. C. G., *et al.* Biomarkers in the assessment of acute and chronic kidney diseases in the dog and cat. **Journal Of Small Animal Practice**, [S.L.], v. 54, n. 12, p. 647-655, out. 2013.

COSTA, A. M. **Repositor hidroeletrolítico de ingestão *ad libitum* em cães submetidos a restrição hídrica e alimentar**. 2021. Dissertação (Mestrado) - do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade de Viçosa, Minas Gerais, 2021.

COWGILL, L. Grading of acute kidney injury. INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY – IRIS, 2016. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com/education/pdf/4_ldc-revised-grading-of-acute-kidney-injury.pdf>. Acesso em 27/03/2024.

COWGILL, L. D.; POLZIN, D. J.; ELLIOTT, J.; NABITY, M. B. *et al.* Is Progressive Chronic Kidney Disease a Slow Acute Kidney Injury? **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [S.L.], v. 46, n. 6, p. 995-1013, nov. 2016.

DORNELAS, L. M. **Serum and urinary proteinogram in healthy dogs and with chronic kidney disease**. 2019. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2019.

DUNAEVICH, A.; CHEN, H.; MUSSERI, D.; KUZI, S. *et al.* Acute on chronic kidney disease in dogs: etiology, clinical and clinicopathologic findings, prognostic markers, and survival. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, [S.L.], v. 34, n. 6, p. 2507-2515, out. 2020.

DUSSE, L. M. S.; RIOS, D. R. A.; SOUSA, L. P. N.; MORAES, R. M. M.; *et al.* Biomarkers of renal function: what is currently available? **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 1, p. 41-51, 2017.

FREITAS, G. C.; VEADO, J. C. C.; CARREGARO, A. B. Testes de avaliação de injúria renal precoce em cães e gatos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 411, fev. 2014.

GOMES, E. B.; PEREIRA, H. C. P. Distúrbios do Sódio. **Vittalle – Journal of Health Sciences**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 219-231, jul. 2021.

GRAUER, G. F. Measurement and interpretation of proteinuria and albuminuria. INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY – IRIS, 2022. Disponível em: <<http://www.iris-kidney.com/education/education/proteinuria.html>>. Acessado em 12/12/2023.

GRAUER, G. F. Proteinuria: measurement and interpretation. **Topics In Companion Animal Medicine**, [S.L.], v. 26, n. 3, p. 121-127, ago. 2011.

GUERREIRO, L. I. C. **Biomarcadores de função renal – o exemplo da dimetilarginina simétrica**. 2018. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2018.

HARJEN, H. J.; ANFINSEN, K. P.; HULTMAN, J.; MOLDAL, E. R. *et al.* Evolution of Urinary Clusterin and Cystatin B as Biomarkers for Renal Injury in Dogs Envenomated by the European Adder (*Vipera berus*). **Topics In Companion Animal Medicine**, [S.L.], v. 46, p. 100586, jan. 2022.

HENNEMANN, C. R. A.; SILVA, C. F.; SHOENAU, W.; KOMMERS, G. D. *et al.* Urinary Gamma Glutamyl Transpeptidase Activity, urinalysis, bun and creatinine serum dosages as auxiliary diagnostic mean in dogs nephrotoxicity induced by aminoglycosides. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 237-244, jun. 1997.

HOKAMP, J. A.; NABITY, M. B. Renal biomarkers in domestic species. **Veterinary Clinical Pathology**, [S.L.], v. 45, n. 1, p. 28-56, 2016.

ILCHYSHYN, N. P.; VILLIERS, E.; MONTI, P. Validation of a spectrophotometric method for GGT measurement in canine urine and determination of the urine GGT-to-creatinine ratio reference interval and biological variation in 41 healthy dogs. **Journal Of Veterinary Diagnostic Investigation**, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 33-39, nov. 2018.

INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY - IRIS. Staging of CKD (online). 2023. Disponível em: < http://www.iris-kidney.com/education/pdf/2_IRIS_Staging_of_CKD_2023.pdf>. Acesso em: 11/10/2023.

INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY - IRIS. Staging of CKD (online). 2023. Disponível em: < http://www.iris-kidney.com/pdf/4_ldc-revised-grading-of-acute-kidney-injury.pdf>. Acesso em: 26/11/2023.

IWASA, N.; TAKASHIMA, S.; IWASA, T.; IWASA, K. *et al.* Serum cystatin C concentration measured routinely is a prognostic marker for renal disease in dogs. **Research in Veterinary Science**, [S.L.], v. 119, p. 122-126, ago. 2018.

KO, H. Y.; KIM, J.; GEUM, M.; KIM, H. J. Cystatin C and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as Early Biomarkers for Chronic Kidney Disease in Dogs. **Top Companion Anim Med**, 45, p. 100580, Nov 2021.

KOVARIKOVA, S. Indirect markers of glomerular filtration rate in dogs and cats: a review. **Veterinári Medicína**, [S.L.], v. 63, n. 9, p. 395-412, set. 2018.

LOANE, S. C.; THOMSON, J. M.; WILLIAMS, T. L.; MCCALLUM, K. E. Evaluation of symmetric dimethylarginine in cats with acute kidney injury and chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.L.], v. 36, n. 5, p. 1669-1676, jul. 2022.

LOOR, J.; DAMINET, S.; SMETS, P.; MADDENS, B.; *et al.* Urinary Biomarkers for Acute Kidney Injury in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.L.], v. 27, n. 5, p. 998-1010, ago. 2013.

MARTÍNEZ, P. P.; CARVALHO, M. B. Participação da excreção renal de cálcio, fósforo, sódio e potássio na homeostase em cães saudáveis e cães com doença renal crônica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L.], v. 30, n. 10, p. 868-876, out. 2010.

MATTEI, C.; PELANDER, L.; HANSSON, K.; UHLHORN, M. *et al.* Renal ultrasonographic abnormalities are associated with low glomerular filtration rate calculated by scintigraphy in dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, [S.L.], v. 60, n. 4, p. 432-446, mai. 2019.

MAYA, I. D.; MADDELA, P.; BARKER, J.; ALLON, M. Percutaneous Renal Biopsy: comparison of blind and real time ultrasound guided technique. **Seminars In Dialysis**, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 355-358, jul. 2007.

MELCHERT, A.; MOUTINHO, F. Q.; MAMPRIM, M. J.; SANTOS, F. A. M. Biopsia renal percutânea monitorizada por ultrassonografia em cães. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n.2, p. 447-453, abr/jun. 2010.

MENEZES, L. B.; FIORAVANTI M.C.S., SILVA M.S.B., FRANCO L.G., *et al.* 2010. Avaliação do efeito da clorpromazina sobre a função renal de cães submetidos à isquemia e reperfusão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L.], v. 30, n. 2, p. 108-114, fev. 2010.

MIYAGAWA, Y.; AKABANE, R.; OGAWA, M.; NAGAKAWA, M. *et al.* Serum cystatin C concentration can be used to evaluate glomerular filtration rate in small dogs. **The Journal of Veterinary Medical Science**, [S.L.], v. 82, n. 12, p. 1828-1834, jan. 2021.

MONTEIRO, A. C. M. P. **Utilização das razões amilase/creatinina sérica e urinária e de depuração da amilase/creatinina como marcadores de insuficiência renal aguda e doença renal crônica em cães.** 2022. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2022.

MORROW, D. A.; LEMOS, J. A. Benchmarks for the Assessment of Novel Cardiovascular Biomarkers. **Circulation: Journal of the American Heart Association**, v. 115, n. 8, p. 949-952, 27 fev. 2007.

NABITY, Mary; HOKAMP, Jessica. Urinary Biomarkers of Kidney Disease in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [S.L.], v. 53, n. 1, p. 53-71, jan. 2023.

NASCIMENTO, M. R.; LIMA, C.; BARROS, J. C. *et al.* Concepts and applicability of main biomarkers in Veterinary nephrology – literature review. **Investigação**, [S.L.], v. 16, n. 8, 15 dez. 2017.

NIVY, R.; AVITAL, Y.; AROCH, I.; SEGEV, G. Utility of urinary alkaline phosphatase and γ -glutamyl transpeptidase in diagnosing acute kidney injury in dogs. **The Veterinary Journal**, [S.L.], v. 220, p. 43-47, fev. 2017.

OLSEN, E.; VAN GALEN, G. V. Chronic Renal Failure-Causes, Clinical Findings, Treatments and Prognosis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 25-46, abr. 2022.

O'NEILL, D.G.; ELLIOTT, J.; CHURCH, D.B.; MCGREEVY, P.D. *et al.* Chronic Kidney Disease in Dogs in UK Veterinary Practices: prevalence, risk factors, and survival. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, [S.L.], v. 27, n. 4, p. 814-821, mai. 2013.

PAES-LEME, F. O.; SOUZA, E. M.; PAES, P. R. O.; GOMES, M. G. *et al.* Cystatin C and Iris: Advances in the Evaluation of Kidney Function in Critically Ill Dog. **Frontiers in Veterinary Science**, [S.L.], v. 8, p. 721845, nov. 2021.

PEREIRA, S. B.; GROL, A. A. V.; CONTE, C.; GIL, L. F. A. *et al.* Avaliação retrospectiva da urinálise e mensuração de creatinina sérica como métodos auxiliares no diagnóstico de doença renal crônica em pacientes caninos. **Science and Animal Health**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 134, jun. 2019.

PERONDI, F.; LIPPI, I.; CECCHERINI, G.; MARCHETTI, V. *et al.* Evaluation of urinary γ -glutamyl transferase and serum creatinine in non-azotaemic hospitalised dogs. **Veterinary Record**, [S.L.], v. 185, n. 2, p. 52, jul. 2019.

POLZIN, D. J. Evidence-based stepwise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, [S.L.], v. 23, n. 2, p. 205-215, mar. 2013.

RABELO, P. F. B.; FONTELES, A.; KLEIN, V. G. S.; SILVA, L. C. *et al.* Diagnosis of chronic kidney disease in dogs and cats: literature review. **Brazilian J Development**, 8, n. 3, p. 17602-17614, 2022.

RODRIGUES, R. D. **Estudo das alterações hematológicas e urinárias em cães em diferentes estágios de disfunção renal e avaliação do biomarcador Cistatina C**. Tese (Mestrado) Programa de Pós-graduação de Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2016.

SEGEV, G. Differentiation between Acute kidney injury and chronic kidney disease. INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY – IRIS, 2022. Disponível em: < http://www.iris-kidney.com/education/education/differentiation_acute_kidney_injury_chronic_kidney_disease.html>. Acesso em: 10/02/2024.

SHARFUDDIN, A. A.; MOLITORIS, B. A. Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. **Nature Reviews Nephrology**, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 189-200, mar. 2011.

SILVA, A. C.; STANTE, F. H. R.; BRUM, A. M.; PAULINO JUNIOR, D. Comparação entre as depurações de creatinina endógena de quatro horas, vinte e quatro horas e creatinina exógena em cães saudáveis. **Research, Society and Development**, [S.L.], v. 11, n. 6, abr. 2022.

SILVA, L. R.; RODRIGUES, G. B.; BARRIO, M. A. M.; BRISOLA, M. L. Symmetric dimethylarginine (SDMA) evaluation as a marker of glomerular filtration in dogs and cats pre

azotemics. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 157-169, 2020.

SOUZA, S. N. **Biomarcadores no diagnóstico da doença renal em cães**. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás. Goiânia, p. 106. 2017.

TASSINI, L. E. S. **Avaliação de perfil hemostático em cães em quadro de injúria renal aguda não submetidos à terapia dialítica**. 2021. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas, Belo Horizonte, 2021.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. Roca, 2015. 688p.

TERAN, K. A. H. **Contribuição diagnóstica de biomarcadores em cães sob risco de desenvolver lesão renal aguda**. 2022. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, 2022.

VADEN, S. L.; LEVINE, J. F.; LEES, G. E.; GROMAN, R. P. *et al.* Renal Biopsy: A Retrospective Study of Methods and Complications in 283 Dogs and 65 Cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [S.L.], n. 19, p. 794-801, mar, 2005.

5. Capítulo 1 - Artigo

Saúde renal em cães idosos não azotêmicos: análise dos biomarcadores de avaliação

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a saúde renal de cães idosos não azotêmicos utilizando biomarcadores de rotina como a relação proteína/creatinina urinária (UPC), urinálise, excreção fracionada de cloreto (EFCl), γ -gama-glutamyltransferase urinária (uGGT) e fosfatase alcalina urinária (uFA) na identificação precoce da injúria renal e comparar com as alterações estruturais por meio do ultrassom (US) renal. Foram selecionados 86 animais e separados em dois grupos: o grupo jovem com 12 cães com idade de 1 a 4 anos, e o idoso composto por 74 animais com idade de 7 a 17 anos. Foram realizados exames de hemograma, bioquímicos séricos (creatinina, ureia, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase, sódio e potássio) e urinários (creatinina (uCr), cloreto, UPC, uGGT e uFA), e a urinálise. Em uma parcela dos cães que apresentaram exame de UPC alterado foi realizado US renal. Foram encontradas diferenças estatísticas nos exames UPC e relação uGGT/uCr ($p < 0.05$). Os resultados deste trabalho mostraram que muitos cães idosos não azotêmicos apresentam proteinúria, e a associação de exames laboratoriais simples, facilmente encontrados e de baixo custo, juntamente com o exame de US, possibilitam uma análise mais completa e criteriosa da função e estrutura renal, evidenciando a importância da clínica preventiva para o diagnóstico precoce.

Palavras-chave: excreção fracionada, GGT urinária, relação proteína/creatinina urinária.

INTRODUÇÃO

A geriatria na medicina veterinária tem ganhado cada vez mais atenção, visando melhorar a qualidade de vida dos pacientes idosos através da medicina veterinária preventiva, com foco na identificação precoce de doenças e intervenção terapêutica (Willems *et al.* 2016, Gunn *et al.* 2005). Segundo Grauer (2005) e Dunaevich *et al.* (2020) a idade é considerada um fator de risco para doenças renais, uma vez que muitos cães e gatos geriátricos possuem lesões

renais preexistentes e perda subclínica da função renal, portanto a detecção precoce da doença renal crônica (DRC) antes do início da azotemia renal e da insuficiência renal crônica (IRC) é crucial, pois permite uma intervenção apropriada que possa estabilizar a função renal ou, pelo menos retardar seu declínio progressivo (Grauer 2005, Dunaevich *et al.* 2020).

Apesar da significativa prevalência da lesão renal aguda (LRA) e da alta taxa de mortalidade em cães, os recursos disponíveis sobre o diagnóstico e tratamento na medicina veterinária são limitados (Segev *et al.* 2024). Nesse contexto, torna-se indispensável que cães idosos realizem consultas clínicas periódicas, incluindo a realização de exames laboratoriais e de imagem para avaliar a função e integridade renal (Xavier *et al.* 2020).

Rotineiramente, as concentrações séricas de creatinina e ureia são empregadas como teste de triagem para suspeita de doença renal, contudo, as alterações só são detectadas após a taxa de filtração glomerular (TFG) estar com 75% ou mais de comprometimento, somado a isso não são precisas quanto a avaliação de danos tubulares renais (Silva *et al.* 2022, Ilchyshyn *et al.* 2018). Por outro lado, o padrão ouro para avaliação da função renal é a TFG, entretanto tem sido pouco utilizada na rotina veterinária devido sua complexidade (Loane *et al.* 2022).

Comparativamente com a TFG, a relação proteína/creatinina urinária (UPC) avalia a quantidade de proteína eliminada pela urina, e assim mensura a saúde renal (Meindl *et al.* 2018). Logo, se os exames forem realizados com uma única amostra de urina, essa análise poderá fornecer um resultado comparável ao da TFG, mas com maior facilidade de execução (Menezes *et al.* 2010). Atualmente, as enzimas gama-glutamil transferase (uGGT) e a fosfatase alcalina (uFA) urinárias, têm se mostrado marcadores úteis para identificar danos tubulares (Silva *et al.* 2022).

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a saúde renal em cães idosos não azotêmicos utilizando os biomarcadores renais acessíveis na rotina clínica e comparar a integridade renal por meio da ultrassonografia.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) UNICENTRO (protocolo número 008/2023).

Foram avaliados um total de 104 animais, dos quais 12 cães com idade entre 1 e 4 anos, foram selecionados para o grupo controle. E, 74 cães para o grupo idosos, com idade entre 7 a 17 anos. Todos os animais, de ambos os grupos, passaram por uma avaliação clínica que incluiu ausculta cardíaca, palpação, inspeção das mucosas e aferição da temperatura. Os animais selecionados para formar os grupos apresentavam-se clinicamente saudáveis, não houve preferência racial ou de sexo. Foram excluídos do estudo cães com níveis séricos de creatinina superiores a 1.4 mg/dL, bem como aqueles que apresentavam comorbidades detectadas no exame clínico (como dermatites, problemas locomotores ou neoplasias) ou que estavam em uso de medicamentos.

Foram colhidos 3 mL de sangue por venopunção cefálica ou jugular, e acondicionado 1 mL em um tubo com anticoagulante EDTA (ácido etileno-diamino-tetra-acético), e mantidos de 2-8°C, para realização do hemograma no analisador hematológico automático SDH-3 VET Labtest® e 2 mL acondicionados em um tubo sem anticoagulante que foram centrifugados a 576g durante 10 minutos para obtenção do soro e realização dos exames de creatinina, ureia, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), sódio (Na) e potássio (K), no equipamento semiautomático Bioplus 2000® com kits Labtest® (Diagnóstica S. A., Lagoa Santa, Brasil). Foram colhidos 10 mL de urina por cistocentese para realização da urinálise e dos exames de uFA, uGGT, urinálise, UPC e cloreto urinário (uCl).

As amostras de urina foram mantidas refrigeradas e a urinálise foi realizada em até 3 horas após a colheita, onde foi realizada a avaliação física: volume, cor, turbidez e densidade por refratometria e química realizada por fitas reagentes de urina Labtest® (Diagnóstica S. A., Lagoa Santa, Brasil), com leitura dos seguintes parâmetros: pH, corpos cetônicos, glicose, proteínas, sangue oculto e bilirrubina, em que os valores qualitativos serão expressos em escore. Após a realização da fita reagente, a amostra foi separada em 2 alíquotas de 5mL, uma centrifugada a 112g durante 10 minutos para realização de sedimentoscopia o qual foi analisado os elementos presentes na urina por meio de microscópio de luz, em objetiva de 40x, em 10 campos aleatórios; e a outra alíquota de 5mL foi centrifugada a 1130g por 10 minutos, e separado o sobrenadante das amostras para a realização da uFA, uGGT, creatinina urinária (uCr), uCl e proteína urinária no equipamento semiautomático Bioplus 2000® com kits Labtest®.

A avaliação da uGGT e da uFA foi realizada conforme o método descrito por Schepper *et al.* (1989), o qual empregou a densidade urinária de 1.025 como fator de correção para o fluxo urinário de uma única amostra colhida de cada animal. Esse cálculo foi realizado segundo

a fórmula: $uGGT$ ou $uFA = uGGT$ ou $uFA \times 25 / 2$ últimos dígitos densidade urinária (Schepper *et al.* 1989).

E o cálculo da excreção fracionada de cloreto (EFCI), foi realizado conforme a fórmula de Cowgill *et al.* (1979): $EFCI = uCl \times sCr / uCr \times sCl$ (Cowgill *et al.* 1979).

Em uma parcela dos animais do grupo idosos que apresentaram valores de UPC limítrofe e acima do limite foi realizado o exame ultrassonográfico para avaliação da função renal. O exame foi conduzido por um único examinador, utilizando o aparelho Z60 Vet da marca Mindray e transdutores multifrequenciais linear (7 a 15mHz) e microconvexo (3 a 7mHz).

Os cães foram contidos fisicamente e posicionados em decúbito dorsal para permitir a avaliação do parênquima e topografia dos rins esquerdo e direito em modo B nos cortes sagital, longitudinal e transversal. Nesse momento, a ecogenicidade do parênquima foi avaliada, levando em consideração a definição da cortical e medular renal, a relação cortico-medular e com auxílio do doppler a definição dos vasos renais, e o calibre da vascularização renal.

Foi realizada estatística descritiva entre os grupos, e aplicado o teste Student para amostras independentes para dados paramétricos e U Man Whitman para dados não paramétricos. Foi considerado 5% de significância para interpretação dos resultados. As análises foram realizadas com auxílio do software Jamovi (2022).

RESULTADOS

Dos 104 animais avaliados, foi selecionado um total 86 cães que foram separados em dois grupos de acordo com a idade. O primeiro, denominado grupo jovens, foi formado por 12 animais, com média de idade de 2.33 anos, dos quais 75% (9/12) eram fêmeas e 25% (3/12) machos. As raças variaram entre 66.66% (8/12) sem raça definida (SRD), 8.33% (1/12) lhasa apso, 8.33% (1/12) pitbull, 8.33% (1/12) spitz alemão e 8.33% (1/12) yorkshire. O segundo grupo denominado, grupo idoso foi composto por 51.35% (38/74) de fêmeas e 48.64% (36/74) de machos. As raças incluíam 70.27% (52/74) SRD, 9.46% (7/74) lhasa apso, 6.76% (5/74) yorkshire, 2.70% (2/74) chow-chow, 2.70% (2/74) labrador, 2.70% (2/74) pitbull, 1.35% (1/74) dachshund, 1.35% (1/74) pastor alemão, 1.35% (1/74) da raça pug, e 1.35% (1/74) da raça pinscher, com média de idade de 10.1 anos.

No exame de hemograma, foi observada diferença estatística significativa no eritrograma, hemoglobina, hemácias e na contagem de plaquetas, devido a amplitude no intervalo de referência estabelecidos para a espécie.

Os resultados do exame de hemograma, idade dos animais do grupo jovens e idosos, intervalo de referência, intervalo de confiança e valor de p, estão demonstrados na tabela I.

Tabela I- Intervalo de referência, intervalo de confiança (IC) e o valor de p, da idade e exame de hemograma dos cães do grupo jovens e do grupo idosos.

Parâmetros	Unidade	Intervalo de referência [#]	IC 95%		Valor de p
			Grupo jovens n=12	Grupo idosos n=74	
Idade	anos	----	1-4	7-17	< .001
Ht	%	37.0-55.0	36.0-54.6	35.6-55.8	0.012*
Hb	g/dL	12.0-18.0	12.0-18.2	11.8-18.6	0.014*
Hemácias	x10 ⁶ /μl	5.5-8.5	6.0-9.1	5.8-9.28	0.019*
Leucócitos	/μl	6000-17000	6228-13740	5787-18070	0.896
Plaquetas	x10 ³ /μl	200-800	210-603	164-831	0.016*
PTP	g/dL	6.0-8.0	6.4-7.5	6.2-8.6	0.757
Bastonetes	/μl	0-300	0-138	0-411	0.293
Neutrófilos	/μl	3000-11500	4767-10305	4051-12468	0.866
Linfócitos	/μl	1000-4800	1433-3203	1547-3784	0.513
Monócitos	/μl	150-1350	0-120	0-163	0.238
Eosinófilos	/μl	100-1250	0-1002	0-2271	0.112

[#]Fonte: Schalm *et al.* 2010. *p≤0.05.

Os resultados dos exames bioquímicos séricos e urinários, intervalo de referência, intervalo de confiança (IC) e valor de p, estão demonstrados na tabela II, onde houve diferença estatística significativa para os exames de ALT, UPC e relação uGGT/uCr.

Tabela II- Intervalo de referência, intervalo de confiança (IC) e o valor de p, dos exames bioquímicos séricos e urinários de cães do grupo jovens e do grupo idosos.

Parâmetros	Unidade	Intervalo de referência	IC 95%		Valor de p
			Grupo jovens n=12	Grupo idosos n=74	
Creatinina	mg/dL	0.5-1.5 [#]	0.7-1.3	0.5-1.4	0.259
Ureia	mg/dL	21-59.9 [#]	23-57	22-77	0.876
FA	UI/L	20-156 [#]	22-124	19-107	1
ALT	UI/L	21-102 [#]	26-68	25-104	0.029*
Sódio	mEq/L	141-152 [#]	136-158	122-169	0.672
Potássio	mEq/L	4.37-5.65 [#]	3.51-5.44	3.2-7.18	0.601
Cloreto	mEq/L	96-122 ^{###}	86-123	51-207	0.224
uCr	mg/dL	42-416 ^{###}	72-390	37.5-450	0.090
uGGT	UI/L	13-92 ^{####}	13.4-38.1	10.6-82.5	0.069
uFA	UI/L	0-61.6 ^{####}	5.0-103	5.0-573	0.592
UPC	----	< 0.5 ^{#####}	0.1-0.50	0.04-6.2	0.002*
EFCI	%	0-1.09 ^{###}	0.16-0.91	0.12-3.69	0.141
uGGT/uCr	---	0-3.1 ^{####}	0.06-0.39	0.06-1.25	0.016*
uFA/uCr	---	0-6.39 ^{####}	0.03-1.07	0.03-5.5	0.465

Fonte: [#]Kaneko *et al.* 2008, ^{##}Latimer *et al.* 2011, ^{###}Bruno *et al.* 2021, ^{####}Nivy *et al.* 2017, ^{#####}Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS, 2023). *p≤0.05.

Na tabela IV, estão apresentados os resultados dos exames de UPC do grupo idosos, e a classificação estabelecida pela IRIS, 2023.

Tabela IV- Variações dos valores encontrados de UPC no grupo idosos, intervalo de referência e classificação, segundo IRIS (2023).

Grupo idosos		Intervalo de referência	Classificação
(n=74)			
17 (22.9%)		UPC \leq 0.20	Não proteinúrico
33 (44.5%)		UPC 0.23-0.5	Limítrofe
24	13 (17.56%)	UPC $>$ 0.5-1.5	
(32.4%)	3 (4.05%)	UPC 1.6-2.5	Proteinúrico
	8 (10.81%)	UPC 2.5-6.2	

O intervalo de idade encontrada nos cães não proteinúricos foi de 7-14 anos, enquanto nos cães limítrofes foi de 7-17 anos e nos cães proteinúricos de 7-13 anos.

A maioria dos animais idosos (33/44.5%) avaliados apresentou valores de UPC limítrofe. Desses 33 animais, foram selecionados aleatoriamente 11 cães para avaliação renal por meio da ultrassonografia (US). Dentre eles, 8 apresentaram ecogenicidade, definição cortico-medular e relação cortico-medular preservadas e 1 animal com discreta alteração, 1 foi detectada uma lesão renal aparente e 1 com lesão renal severa.

Além disso, dos 24 (32.4%) animais com UPC $>$ 0.5, 11 cães foram selecionados aleatoriamente para avaliação renal por US. Os principais achados ultrassonográficos nesses animais foram a alteração da ecogenicidade renal que variou de preservada, discreta ou existente, perda da diferenciação cortico-medular variando de moderada, existente ou severa e perda da definição cortico-medular variando de moderada, existente ou severa.

Os resultados dos exames de urinálise do grupo jovens e idosos estão demonstrados na tabela V.

Tabela V- Intervalo de referência, intervalo de confiança (IC) e o valor de p, dos exames de urinálise dos cães do grupo jovens e do grupo idosos.

Parâmetros	Unidade	Valor de referência [#]	IC 95%		Valor de p
			Grupo jovens N=12	Grupo idos- sos N=74	
pH	----	5.0-7.0	6.0-7.5	5.0-8.50	0.480
Proteína	mg/dL	0-15	0-15	0-100	0.577
Glicose	mg/dL	Ausente	0-0	0-100	0.690
Acetona	mg/dL	Ausente	0	0-5	0.690
Cor	----	Amarelo	1-3 ^{##}	1-4 ^{##}	0.713
Aspecto	----	Ligeiramente turvo	1-3 ^{###}	1-3 ^{###}	0.612
Densidade	----	1015-1050	1010-1045	1004-1045	0.381
Leucócitos	p/c	Ausente	0-0	0-3	0.405
Hemácias	p/c	<10	0-0	0-6	0.994
Cristais	p/c	Ausente	0-0	0-7	0.112

[#]Fonte: Chew *et al.* 2011. ^{##}Escala da coloração da urina: 1-amarelo palha, 2-amarelo citrino, 3-amarelo ouro, 4-amarelo escuro. ^{###}Escala do aspecto da urina: 1-límpido, 2-ligeiramente turvo, 3-turvo. *p≤0.05.

DISCUSSÃO

Atualmente tem-se intensificado os cuidados com a saúde e bem-estar dos animais de estimação por serem considerados membros da família, o que reflete no aumento da sua longevidade. Porém, para que esses animais envelheçam com qualidade de vida, é imprescindível levá-lo periodicamente ao médico veterinário como forma preventiva de evitarmos ou retardarmos ao máximo as doenças vinculadas a idade.

Uma das patologias que acomete o paciente idoso é a injúria renal, com prevalência estimada em 0.05 a 3.74%, mas com mortalidade de 76.6%, o que indica que a doença tem uma

grande probabilidade de morte. Neste sentido, a busca por medidas preventivas e exames complementares, principalmente em pacientes geriátricos, representam a melhor forma na condução da terapêutica a fim de controlarmos a progressão da doença (Sosnar *et al.* 2003).

Neste trabalho pudemos observar que a saúde dos cães idosos avaliados no que se refere ao exame clínico e aos exames laboratoriais de rotina como hemograma e bioquímicos séricos como ALT, creatinina, FA, ureia e a urinálise mostraram que a saúde renal e hepática estavam normais. Com estes exames foi possível descartar a presença de azotemia pré-renal, desidratação, e pós renal, como a falha na excreção de resíduos nitrogenados, por obstrução no trato urinário.

Segundo Jacob *et al.* (2005) a proteinúria não representa apenas um marcador de dano glomerular, mais também um dos principais sinais de doença renal, a UPC apresenta maior sensibilidade quando comparada as tiras reagentes para detecção de proteínas, pois estas detectam concentrações de proteína a partir de 15 mg/dL. Em amostras excessivamente diluídas (densidades baixas), podem gerar resultados falsos negativos (Jacob *et al.* 2005).

Ao analisarmos os exames de UPC verificamos que 32.4 % (24/74) dos animais avaliados apresentaram $UPC > 0.5$ (IC 95% de 0.6 a 6.2). Dentre esses, 8 animais apresentaram $UPC > 2.0$ condizente com doença glomerular (Nabity & Hokamp 2023), que ao associarmos aos exames de ultrassom verificamos que já possuíam alterações estruturais. Entre esses 8 animais, 3 deles apresentaram alterações compatíveis com DRC, com maiores lesões estruturais em um dos rins, o que pode explicar o fato de não apresentarem azotemia, uma vez que o segundo rim pode compensar a perda de função do outro rim (Olsen & Galen 2022). O que representa um grande desafio no diagnóstico e a subsequente definição da terapia adequada (Polzin & Cowgill 2017).

Por outro lado, o grupo de idosos que ficaram na faixa limítrofe 44.5% (33/74) da UPC (IC 95% de 0.23-0.5), somente um animal já tinha lesões evidentes nos dois rins e outro possuía lesão somente no rim esquerdo indicando a necessidade deste exame juntamente com os exames laboratoriais, em uma consulta preventiva, pois a lesão estrutural geralmente precede as alterações na função, embora possa ocorrer perda de função com base na extensão da doença (Nabity & Hokamp 2023).

A doença renal estrutural pode ser visualizada, enquanto a doença renal funcional geralmente apresenta nenhuma ou poucas alterações palpatórias ou ultrassonográficas reforçando

a importância dos exames de imagem juntamente com os biomarcadores séricos e urinários para avaliação mais fidedigna da função renal.

Neste trabalho observamos que a relação uGGT/uCr ($p < 0.016$) mostrou diferença estatística significativa, porém, dentro dos indicadores de referência em ambos os grupos, o que poderia indicar lesão glomerular persistente já que este analito tende a se normalizar nestes casos (Paltrinieri *et al.* 2018), não sendo considerado um biomarcador precoce para detecção de DRC.

Estudos anteriores avaliaram a eficácia da uGGT como biomarcador renal em cães em diversas condições, como a nefrotoxicidade induzida por gentamicina (Grauer *et al.* 1995), no diagnóstico de LRA em cães não azotêmicos (Heiene *et al.* 1991, Lippi *et al.* 2018), e em cães hospitalizados onde relataram que o exame de uGGT e a relação uGGT/uCr mostraram ser biomarcadores moderadamente sensíveis e específicos, capazes de identificar lesões renais antes da creatinina sérica, porém com maior sensibilidade na LRA (Perondi *et al.* 2019). No entanto, até o momento nenhuma pesquisa foi realizada para avaliar sua eficácia em cães idosos proteinúricos não azotêmicos.

Os exames de EFCl e uFA quando correlacionados com os valores obtidos de UPC mostraram uma correlação fraca (EFCl $r=0.18$ e uFA $r=0,02$), o que sugere que não podem ser considerados bons biomarcadores precoces de avaliação renal em pacientes idosos. Já o exame de uGGT/uCr demonstrou uma correlação moderada ($r=0.55$) com os valores de UPC.

A busca por medidas preventivas e avaliação da função renal por meio de exames em pacientes (principalmente geriátricos) representam a melhor forma na condução terapêutica da doença renal. Embora a DRC seja, em última análise, uma doença progressiva, o diagnóstico e a intervenção precoce podem modificar a taxa de progressão e melhorar a qualidade e o tempo de vida do paciente (Bartges 2012).

CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho mostraram que muitos cães idosos não azotêmicos, possuem proteinúria, demonstrando que o exame de UPC é um bom biomarcador renal. Com a associação de exames laboratoriais simples, facilmente encontrados em pequenos laboratórios e de baixo custo, juntamente com o exame de US, possibilitam uma análise mais completa e

critérioria da função e estrutura renal, o que nos mostra a importância da clínica preventiva nestes pacientes permitindo-nos o diagnóstico precoce a fim de possibilitar o retardo da progressão da doença, aumentando sua longevidade e qualidade de vida.

REFERÊNCIAS

- Bartges, J. W. 2012. Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 42, n. 4, p. 669-692.
- Bruno, B., Troia, R., Dondi, F., Maurella, C., Gianella, P., Lippi, I., Tarducci, A., & Borelli, A. 2021. Stage 1-Biomarkers of Kidney Injury in Dogs Undergoing Constant Rate Infusion of Hydroxyethyl Starch 130/0.4. *Animals*, v. 11, n. 9, p. 2555.
- Chew, D.J., Dibartola, S.P., & Schenck, P.A. 2011. Chronic renal failure. In: *Canine and feline nephrology and urology*. 2ed. St Louis: Elsevier Saunders, 145-196p.
- Cowgill, L. D., Goldfarb, S., Lau, K., Slatopolsky, E., & Agus, Z. S. 1979. Evidence for an Intrinsic Renal Tubular Defect in Mice with Genetic Hypophosphatemic Rickets. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 63, n. 6, p. 1203-1210.
- Dunaevich, A., Chen, H., Musseri, D., Kuzi, S., Tovi, M. M., Aroch, I., & Segev, G. 2020. Acute on chronic kidney disease in dogs: etiology, clinical and clinicopathologic findings, prognostic markers, and survival. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 34, n. 6, p. 2507-2515.
- Grauer, G. F., Greco, D. S., Behrend, E. N., Mani, I., Fettman, M. J., & Allen, T. A. 1995. Estimation of Quantitative Enzymuria in Dogs with Gentamicin-Induced Nephrotoxicosis Using Urine Enzyme/Creatinine Ratios From Spot Urine Samples. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 9, n. 5, p. 324-327.
- Grauer, G. F. 2005. Canine glomerulonephritis: new thoughts on proteinuria and treatment. *Journal of Small Animal Practice*, v. 46, n. 10, p. 469-478.
- Gunn, R. G., & Alleman, A. R. 2005. Clinical Pathology in Veterinary Geriatrics. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 35, n. 3, p. 537-556.
- Heiene, R., Moe, L., & Mølmen, G. 2001. Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra. *Research in Veterinary Science*, v. 70, n. 2, p. 129-137.
- Ilchyshyn, N. P., Villiers, E., & Monti, P. 2018. Validation of a spectrophotometric method for GGT measurement in canine urine and determination of the urine GGT-to-creatinine ratio reference interval and biological variation in 41 healthy dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 31, n. 1, p. 33-39.

INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY - IRIS. Staging of CKD (online). 2023. Retirado de: http://www.iris-kidney.com/education/pdf/2_IRIS_Staging_of_CKD_2023.pdf

Jacob, F., Polzin, D. J., Osborne, C. A.; Neaton, J. D., Kirk, C. A., Allen, T. A., & Swanson, L. L. 2005. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. *Journal Of The American Veterinary Medical Association*, v. 226, n. 3, p. 393-400.

Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6. ed. Academic Press, 936p.

Latimer, K. S. 2011. *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 5. ed. Wiley-Blackwell, 528p.

Lippi, I., Perondi, F., Meucci, V., Bruno, B., Gazzano, V., & Guidi, G. 2018. Clinical utility of urine kidney injury molecule-1 (KIM-1) and gamma-glutamyl transferase (GGT) in the diagnosis of canine acute kidney injury. *Veterinary Research Communications*, v. 42, n. 2, p. 95-100.

Loane, S. C., Thomson, J. M., Williams, T. L., & McCallum, K. E. 2022. Evaluation of symmetric dimethylarginine in cats with acute kidney injury and chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 36, n. 5, p. 1669-1676.

Meindl, A. G., Lourenço, B. N., Coleman, A. E., & Creevy, K. E. 2018. Relationships among urinary protein-to-creatinine ratio, urine specific gravity, and bacteriuria in canine urine samples. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 33, n. 1, p. 192-199.

Menezes, L. B., Fioravanti, M.C.S., Silva, M.S.B., Silva, M. S., Franco, L.G., Sales, T. P., Andrascko, M. M., Veado, J. C. C., & Araújo, E. G. 2010. Avaliação do efeito da clorpromazina sobre a função renal de cães submetidos à isquemia e reperfusão. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, n. 2, p. 108-114.

Miyagawa, Y., Akabane, R., Ogawa, M., Nagakawa, M., Miyakawa, H., & Takemura, N. 2020. Serum cystatin C concentration can be used to evaluate glomerular filtration rate in small dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 82, n. 12, p. 1828-1834.

Nabity, M., & Hokamp, J. 2023. Urinary Biomarkers of Kidney Disease in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 53, n. 1, p. 53-71.

Nivy, R., Avital, Y., Aroch, I., & Segev, G. 2017. Utility of urinary alkaline phosphatase and γ -glutamyl transpeptidase in diagnosing acute kidney injury in dogs. *The Veterinary Journal*, v. 220, p. 43-47.

Olsen, E., & Galen, G. V. 2022. Chronic Renal Failure-Causes, Clinical Findings, Treatments and Prognosis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 38, n. 1, p. 25-46.

- Paltrinieri, S., Mangiagalli, G., & Ibba, F. 2018. Use of urinary γ -glutamyl transferase (GGT) to monitor the pattern of proteinuria in dogs with leishmaniasis treated with N-methylglucamine antimoniate. *Research in Veterinary Science*, v. 119, p. 52-55.
- Perondi, F., Lippi, I., Ceccherini, G., Marchetti, V., & Guidi, G. 2019. Evaluation of urinary γ -glutamyl transferase and serum creatinine in non-azotaemic hospitalised dogs. *Veterinary Record*, v. 185, n. 2, p. 52-52.
- Polzin, D. J.; & Cowgill, L. D. 2017. Management of glomerulopathies. *Bsava Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*, p. 278-290.
- Schalm, O. W., Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. 2010. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6. ed. Wiley-Blackwell, 1206p.
- Segev, G., Cortellini, S., Foster, J. D., Francey, T., Langston, C., Londoño, L., Schweighauser, A., & Jepson, T. 2024. International Renal Interest Society best practice consensus guidelines for the diagnosis and management of acute kidney injury in cats and dogs. *The Veterinary Journal*, p. 106068.
- Schepper, J. de, Cock, I. de, & Capiou, E. 1989. Urinary gamma glutamil transferase and the degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. *Research in Veterinary Science*, v. 46, n. 3, p. 396-400.
- Silva, A. C., Stante, F. H. R., Brum, A. M., Paulino, D. J. 2022. Comparação entre as depurações de creatinina endógena de quatro horas, vinte e quatro horas e creatinina exógena em cães saudios. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 6.
- Sosnar, M., Kohout, P., Růžička, M., & Vrbasová, L. 2003. Retrospective Study of Renal Failure in Dogs and Cats Admitted to University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno during 1999-2001. *Acta Veterinaria Brno*, v. 72, n. 4, p. 593–598.
- The jamovi project (2022). *Jamovi*. (Version 2.3) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>
- Willems, A., Paepe, D., Marynissen, S., Smets, P., Maele, I. V., Picavet, P., Duchateau, L., & Daminet, S. 2016. Results of Screening of Apparently Healthy Senior and Geriatric Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 31, n. 1, p. 81-92.
- Xavier, F. A. F. J., Almeida, A. O., Souza, R. M., Araujo, S. L., Pereira, T. H. S., Paiva, D. D. Q., Morais, G. B., & Evangelista, J. S. A. M. 2020. Ultrassonografia em gatos com doença renal crônica - Revisão de literatura. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v. 14, n. 4, p. 1-17.



Research in Veterinary Science

Supports open access

Guide for authors

Before you begin

- Types of contribution
- Original research papers
- Short Communications
- Review articles
- Letters to the Editor
- Perspectives
- Case Reports
- Submission checklist
- Ethics in publishing
- Animal Welfare
- Informed consent and patient details
- Declaration of interest
- Declaration of generative AI in scientific writing
- Authorship
- Submission declaration and verification
- Preprint posting on SSRN
- Use of inclusive language
- Reporting sex- and gender-based analyses
- Author contributions
- Changes to authorship
- Article Transfer Service
- Copyright
- Responsible sharing
- Funding source
- Open access
- Language
- Submission
- Submit your article

Preparation

- Queries
- Peer review
- Use of Word Processing Software

- Form of papers
- Introduction
- Material and methods
- Results
- Discussion
- Conclusions
- Appendices
- Essential title page information
- Highlights
- Abstract
- Graphical abstract
- Keywords
- Abbreviation and symbols
- Acknowledgements
- Formatting of funding sources
- Nomenclature
- Formulae
- Footnotes
- Artwork
- Please do not:
- Color artwork
- Tables
- Manuscript Formatting
- References
- Data references
- Preprint references
- Reference management software
- Supplementary material
- Research data
- Data linking
- Research elements
- Data statement

After acceptance

- Online proof correction
- Offprints
- Additional information

Author inquiries

- Author Inquiries

Before you begin

Research in Veterinary Science publishes original contributions and review articles on research concerning the health and disease of animals, including studies in comparative medicine.

Types of contribution

1. Original research papers (Regular Papers)
2. Short Communications
3. Review articles
4. Letters to the Editor
5. Perspectives
6. Commentary
7. Editorial

Original research papers

Original research papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Short Communications

Short Communications should not exceed 1600 words and include no more than two tables or figures. They should have an abstract but no other divisions. Typescripts should be clearly marked Short Communication.

Review articles

Review articles on veterinary topics are invited for publication. They should give an update on recent advances in a particular field and be targeted at research veterinarians who are not necessarily working in the same field. The length should not exceed 4000 words.

Letters to the Editor

Letters to the Editor offering comment or useful critique on material published in the journal are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editors-in-Chief. It is hoped that the publication of such letters will permit an exchange of views which will be of benefit to both the journal and its readers.

Perspectives

Perspectives should highlight topics focusing on recent developments in an area, with particular emphasis on those aspects that are of greatest interest and/or significance. Perspectives should be based mainly on a personal viewpoint so up to three authors are allowed. These submission must have fewer than 1200 words, one figure or table and no more than ten references. An abstract is not required.

Case Reports

Case reports should be up to 2500 words excluding references, 25 references, 4 tables and/or figures.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
• Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations:

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

Ethics in publishing

Please see our information on [Ethics in publishing](#).

Animal Welfare

Animal Welfare

Before papers describing animal studies are accepted for publication in Research in Veterinary Science, the authors must satisfy the editors that the work conformed to appropriate ethical standards. Whether or not a particular piece of work is accepted for publication will be decided by the editors whose decision will be final.

The authors should provide written assurances that: (i) The project underwent ethical review and was given approval by an institutional animal care and use committee or by appropriately qualified scientific and lay colleagues. (ii) The care and use of experimental animals complied with local animal welfare laws, guidelines and policies.

The editors expect authors to have adhered to the following general principles: (i) Alternative procedures that replace the use of animals should be used if possible. Where this is not possible, the animals used should be carefully selected to be the least sentient species possible and of an appropriate strain. (ii) The minimum number of animals should be used consistent with achieving the scientific objectives of the study. (iii) Pain and distress should be minimised by the use of humane endpoints, sedation, anaesthesia, analgesia and post-operative care. (iv) Access to veterinary care must be available at all times. (v) Investigators and personnel that care for and use animals must be trained and possess relevant expertise and training that should be updated regularly. (vi) If animals have to be killed, this should be done humanely according to local euthanasia regulations, such as the Home Office guidelines in the UK or guidelines of the American Veterinary Association Panel on Euthanasia.

Informed consent and patient details

Studies on patients or volunteers (including organ/tissue donors) require informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author, but copies should not be provided to the journal.

Only if specifically requested by the journal in exceptional circumstances (for example if a legal issue arises) the author must provide copies of the consents or evidence that such consents have been obtained. For more information, please review the [Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals](#).

Unless the author has written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double anonymized) or the manuscript file (if single anonymized). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

Declaration of generative AI in scientific writing

The below guidance only refers to the writing process, and not to the use of AI tools to analyse and draw insights from data as part of the research process.

Where authors use generative artificial intelligence (AI) and AI-assisted technologies in the writing process, authors should only use these technologies to improve readability and language. Applying the technology should be done with human oversight and control, and authors should carefully review and edit the result, as AI can generate authoritative-sounding output that can be incorrect, incomplete or biased. AI and AI-assisted technologies should not be listed as an author or co-author, or be cited as an author. Authorship implies responsibilities and tasks that can only be attributed to and performed by humans, as outlined in Elsevier's [AI policy for authors](#).

Authors should disclose in their manuscript the use of AI and AI-assisted technologies in the writing process by following the instructions below. A statement will appear in the published work. Please note that authors are ultimately responsible and accountable for the contents of the work.

Disclosure instructions

Authors must disclose the use of generative AI and AI-assisted technologies in the writing process by adding a statement at the end of their manuscript in the core manuscript file, before the References list. The statement should be placed in a new section entitled 'Declaration of Generative AI and AI-assisted technologies in the writing process'

Statement: During the preparation of this work the author(s) used [NAME TOOL / SERVICE] in order to [REASON]. After using this tool/service, the author(s) reviewed and edited the content as needed and take(s) full responsibility for the content of the publication

This declaration does not apply to the use of basic tools for checking grammar, spelling, references etc. If there is nothing to disclose, there is no need to add a statement.

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or

revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify compliance, your article may be checked by [Crossref Similarity Check](#) and other originality or duplicate checking software.

Preprint posting on SSRN

In support of [Open Science](#), this journal offers its authors a free preprint posting service. Preprints provide early registration and dissemination of your research, which facilitates early citations and collaboration.

During submission to Editorial Manager, you can choose to release your manuscript publicly as a preprint on the preprint server [SSRN](#) once it enters peer-review with the journal. Your choice will have no effect on the editorial process or outcome with the journal. Please note that the corresponding author is expected to seek approval from all co-authors before agreeing to release the manuscript publicly on SSRN.

You will be notified via email when your preprint is posted online and a Digital Object Identifier (DOI) is assigned. Your preprint will remain globally available free to read whether the journal accepts or rejects your manuscript.

For more information about posting to [SSRN](#), please consult the [SSRN Terms of Use](#) and [FAQs](#).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Reporting sex- and gender-based analyses

Reporting guidance

For research involving or pertaining to humans, animals or eukaryotic cells, investigators should integrate sex and gender-based analyses (SGBA) into their research design according to funder/sponsor requirements and best practices within a field. Authors should address the sex and/or gender dimensions of their research in their article. In cases where they cannot, they should discuss this as a limitation to their research's generalizability. Importantly, authors should explicitly state what definitions of sex and/or gender they are applying to enhance the precision, rigor and reproducibility of their research and to avoid ambiguity or conflation of terms and the constructs to which they refer (see Definitions section below). Authors can refer to the [Sex and Gender Equity in Research \(SAGER\) guidelines](#) and the [SAGER guidelines checklist](#). These offer systematic approaches to the use and editorial review of sex and gender information in study design, data analysis, outcome reporting and research interpretation - however, please note there is no single, universally agreed-upon set of guidelines for defining sex and gender.

Definitions

Sex generally refers to a set of biological attributes that are associated with physical and physiological features (e.g., chromosomal genotype, hormonal levels, internal and external anatomy). A binary sex categorization (male/female) is usually designated at birth ("sex assigned at birth"), most often based solely on the visible external anatomy of a newborn. Gender generally refers to socially constructed roles, behaviors, and identities of women, men and gender-diverse people that occur in a historical and cultural context and may vary across societies and over time. Gender influences how people view themselves and each other, how they behave and interact and how power is distributed in society. Sex and gender are often incorrectly portrayed as binary (female/male or woman/man) and unchanging whereas these constructs actually exist along a spectrum and include additional sex categorizations and gender identities such as people who are intersex/have differences of sex development (DSD) or identify as non-binary. Moreover, the terms "sex" and "gender" can be ambiguous--thus it is important for authors to define the manner in which they are used. In addition to this definition guidance and the SAGER guidelines, the [resources on this page](#) offer further insight around sex and gender in research studies.

Author contributions

For transparency, we require corresponding authors to provide co-author contributions to the manuscript using the relevant CRediT roles. The [CRediT taxonomy](#) includes 14 different roles describing each contributor's specific contribution to the scholarly output. The roles are: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; and Writing - review & editing. Note that not all roles may apply to every manuscript, and authors may have contributed through multiple roles. [More details and an example](#).

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or

removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Article Transfer Service

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service to find the best home for your manuscript. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated [Scientific Managing Editor](#), a tool assisted recommendation, or a combination. If you agree, your manuscript will be transferred, though you will have the opportunity to make changes to the manuscript before the submission is complete. Please note that your manuscript will be independently reviewed by the new journal. [More information](#).

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit

the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement, it is recommended to state this.

Open access

Please visit our [Open Access page](#) for more information about open access publishing in this journal.

Language

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [Language Editing service](#) available from Elsevier's Language Services.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Authors are requested to suggest the names of up to 5 referees (with email addresses) whom they feel are qualified to evaluate their submission. Submission of such names does not, however, imply that they will definitely be used as referees.

For queries concerning the submission process or journal procedures please visit the [Elsevier Support Center](#). Authors can check the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

Submit your article

Please submit your article via <https://www.editorialmanager.com/rvsc/default.aspx>.

Preparation

Queries

For questions about the editorial process (including the status of manuscripts under review) or for technical support on submissions, please visit our [Support Center](#).

Peer review

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. [More information on types of peer review](#).

Use of Word Processing Software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <https://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required separate file submissions. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Form of papers

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights are mandatory for this journal as they help increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Abstract, self-contained and embodying the main conclusions. It should note the relevance to veterinary science as well as the aims and objectives of the work. Sentences such as 'the results are discussed', which merely describe the paper, are not allowed.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online

article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 x 1328 pixels (h x w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 x 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviation and symbols

Authors are asked to explain each scientific abbreviation at its first occurrence in their papers; for example, complement fixation test (CFT). The policy of the journal with respect to units and symbols is that SI (System International) symbols should be used.

Acknowledgements

All contributors who do not meet the criteria for authorship as defined above should be listed in an acknowledgements section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chair who provided only general support. Authors should disclose whether they had any writing assistance and identify the entity that paid for this assistance.

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature

1. Authors and Editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code

of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature. Virologists should consult the latest Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses for proper nomenclature and spelling.

2. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.

3. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

4. For chemical nomenclature, the conventions of the International Union of Pure and Applied Chemistry and the official recommendations of the IUPAC-IUB Combined Commission on Biochemical Nomenclature should be followed.

Formulae

1. Give the meaning of all symbols immediately after the equation in which they are first used.

2. For simple fractions use the solidus (/) instead of a horizontal line.

3. Equations should be numbered serially at the right-hand side in parentheses. In general only equations explicitly referred to in the text need be numbered.

4. The use of fractional powers instead of root signs is recommended. Powers of e are often more conveniently denoted by exp.

5. In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca^{2+} , not as Ca^{++} .

6. Isotope numbers should precede the symbols, e.g. ^{18}O .

7. The repeated writing of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P_2O_5).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

1. Footnotes should only be used if absolutely essential. In most cases it should be possible to incorporate the information in normal text.

2. If used, they should be numbered in the text, indicated by superscript numbers, and kept as short as possible.

Artwork

This section describes the artwork for this journal.

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low

number of pixels and limited set of colors;

- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.
- Embed illustrations within the manuscript file.

1. All illustrations (line drawings and photographs) must be submitted as separate files.
2. Illustrations should be numbered according to their sequence in the text. References should be made in the text to each illustration.
3. Illustrations should be designed with the format of the page of the journal in mind. Illustrations should be of such a size as to allow a reduction of 50%.
4. Lettering should be big enough to allow a reduction of 50% without becoming illegible, any lettering should be in English. Use the same kind of lettering throughout and follow the style of the journal.
5. If a scale should be given, use bar scales on all illustrations instead of numerical scales that must be changed with reduction.
6. Explanations should be given in the figure legend(s). Drawn text in the illustrations should be kept to a minimum.
7. Photographs are only acceptable if they have good contrast and intensity.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Please ensure each table is submitted as a separate file. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

1. Authors should take notice of the limitations set by the size and lay-out of the journal. Large tables should be avoided. Reversing columns and rows will often reduce the dimensions of a table.

2. If many data are to be presented, an attempt should be made to divide them over two or more tables.
3. Tables should be numbered according to their sequence in the text. The text should include references to all tables.
4. Please ensure each table is submitted as a separate file. Tables should never be included in the text.
5. Each table should have a brief and self-explanatory title.
6. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. Standard abbreviations of units of measurement should be added between parentheses.
7. Vertical lines should not be used to separate columns. Leave some extra space between the columns instead.
8. Any explanation essential to the understanding of the table should be given as a footnote at the bottom of the table.

Manuscript Formatting

Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing**, throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscripts, including the title page, references, tables, etc., should be numbered.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

References

This section describes the references for this journal.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Preprint references

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, the formal publication should be used as the reference. If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but are not yet formally published, these may be referenced. Preprints should be clearly marked as such, for example by including the word preprint, or the name of the preprint server, as part of the reference. The preprint DOI should also be provided.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#),

such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software.](#)

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Foster, N., Berndt, A., Lalmanach, A.C., Methner, U., Pasquali, P., Rychlik, I., Velge, P., Zhou, X., Barrow, P., 2012. Emergency and therapeutic vaccination—is stimulating innate immunity an option? *Res. Vet. Sci.* 93, 7–12.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

For reference style 2 Harvard: [dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. *Mendeley Data*, v1.

<http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings, which may also include software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data page](#).

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Research elements

This journal enables you to publish research objects related to your original research -- such as data, methods, protocols, software and hardware -- as an additional paper in a [Research Elements journal](#).

Research Elements is a suite of peer-reviewed, open access journals which make your research objects

findable, accessible and reusable. Articles place research objects into context by providing detailed descriptions of objects and their application, and linking to the associated original research articles. Research Elements articles can be prepared by you, or by one of your collaborators.

During submission, you will be alerted to the opportunity to prepare and submit a manuscript to one of the Research Elements journals.

More information can be found on the [Research Elements page](#).

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

After acceptance

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Additional information

Authors can also keep track of the progress of their accepted article, and set up e-mail alerts informing them of changes to their manuscript's status, by using the "Track your accepted article" option on the journal's homepage <https://www.elsevier.com/locate/rvsc> For privacy, information on each article is password-protected. The author should key in the "Our Reference" code (which is in the letter of acknowledgement sent by the Publisher on receipt of the accepted article) and the name of the corresponding author.

Author inquiries

Author Inquiries

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).



All content on this site: Copyright © 2024 Elsevier B.V., its licensors, and contributors. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies. For all open access content, the Creative Commons licensing terms apply.

