

INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE

Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação

Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal



Dissertação

**Intervalo de referência “cut-off” da relação citrato/creatinina em amostras de urina
isolada de cães hípidos**

Dímitry Macedonio Fracaro Baldissera

Concórdia, 2020

Dímitry Macedonio Fracaro Baldissera

**Intervalo de referência “cut-off” da relação citrato/creatinina em amostras de urina
isolada de cães hípidos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Produção e Sanidade Animal).

Orientador: Soraya Regina Sacco Surian

Coorientador: Teane Milagres Augusto Gomes

Concórdia, 2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e
adaptado pela CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia.

B177i Baldissera, Dímitry Macedonio Fracaro
Intervalo de referência ?cut-off? da relação
citrato/creatinina em amostras de urina isolada de
cães hígidos. / Dímitry Macedonio Fracaro Baldissera;
orientadora Soraya Regina Sacco Surian; coorientadora
Teane Milagres Augusto Gomes. -- Concórdia, 2020.
26 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal
Catarinense, campus Concórdia, Programa de Pós-graduação
em Produção e Sanidade Animal, Concórdia, 2020.

Inclui referências.

1. Hipocitratúria. 2. Inibidores da cristalização.
3. Ácido cítrico. 4. Urolitíase. 5. Urinálise. I.
Surian, Soraya Regina Sacco, II. Gomes, Teane
Milagres Augusto. III. Instituto Federal Catarinense.
Programa de Pós-graduação em Produção e Sanidade Animal.
IV. Título.

DÍMITRY MACEDONIO FRACARO BALDISSERA

**INTERVALO DE REFERÊNCIA “CUT-OFF” DA RELAÇÃO
CITRATO/CREATININA EM AMOSTRAS DE URINA ISOLADA DE
CÃES HÍGIDOS.**

Trabalho de Conclusão aprovado como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Curso de Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal, do Instituto Federal Catarinense.

Araquari/SC, 17 de julho de 2020.

Autenticação eletrônica na Folha de Assinaturas

Prof. Dr.^a Soraya Regina Sacco Surian
Orientadora – IFC *Campus* Concórdia

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr.^a Maria Francisca Neves

Prof. Dr. Mario Lettieri Teixeira



Emitido em 17/07/2020

DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS Nº 05/2020 - DEPE/ARA (11.01.02.02.02)
(Nº do Documento: 15626)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 21/08/2020 16:19)

SORAYA REGINA SACCO

PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO

LABPAR/CON (11.01.04.01.03.02.12.05)

Matricula: 2408296

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sig.ifc.edu.br/documentos/> informando seu número:
15626, ano: **2020**, tipo: **DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS**, data de emissão: **21/08/2020** e o código de
verificação: **9929b42a4f**

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, por ter me dado à oportunidade de descobrir que sou capaz. A todos os meus familiares pelo apoio e auxílio nessa caminhada que resultou este trabalho, em especial a minha esposa Mahally, cujo apoio, amor e incentivos constantes, fizeram dessa jornada mais leve e possível.

As minhas professoras orientadoras Soraya e Teane, que se revezaram para me dar todo o suporte, ajuda, incentivo e força necessários para a conclusão dessa pesquisa, me incentivando sempre na busca pelo saber, me fazendo alcançar esse objetivo, obrigado por nunca me deixarem desistir.

Aos professores do Mestrado, que a sua maneira, foram capazes de agregar conhecimento, nos mostrando o caminho e nos enchendo com seu saber.

Aos meus colegas de Mestrado, pelas risadas, amizade nos momentos de preocupação e pelo companheirismo nessa jornada.

Aos meus colegas de trabalho, pelo incentivo e pela força diária. A todos que ajudaram direta ou indiretamente, meus sinceros agradecimentos.

Ficar juntos é um começo; Manter-se junto é progresso; Trabalhar juntos é sucesso.

(Henry Ford)

Resumo

BALDISSERA, Dímitry M. F.. **Intervalo de referência “cut-off” da relação citrato/creatinina em amostras de urina isolada de cães hígdos.** 2020. 26f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2020.

A relação citrato/creatinina serve como marcador de hipocitratúria no auxílio diagnóstico de urolitíase em humanos. A urolitíase é uma importante enfermidade do sistema urinário de caninos domésticos, sendo a grande maioria deles composta de oxalato de cálcio. Fatores como a diminuição na concentração de inibidores da cristalização urinária, aumentam progressivamente o risco de formação de urólitos, sendo de grande relevância no auxílio diagnóstico a utilização de exames laboratoriais para avaliar casos de urolitíase, visto que a mesma é observada com relativa frequência e, muitas vezes, é recidivante. O citrato urinário na medicina humana age como um inibidor da formação de cálculos de oxalato de cálcio, sendo que, a excreção de citrato urinário baixo (hipocitratúria) é um fator de risco bem aceito para a formação de cálculos de cálcio. O objetivo do trabalho foi determinar o intervalo de referência da relação citrato/creatinina em amostras de urina ao acaso em cães hígdos. Foram totalizadas 46 amostras de urina isolada colhidas por cistocentese, cateterismo, ou micção espontânea de cães atendidos no Centro de Práticas Clínicas e Cirúrgicas do IFC- *Campus* Concórdia. Para isso, os animais foram separados em grupos de acordo com o gênero, Grupo I (machos n=17), Grupo II (fêmeas n=29) e por faixa etária, Grupo III (adultos n=26) e Grupo IV (senil n=20). Após a coleta, as amostras foram refrigeradas a 4-8°C, sendo submetidas imediatamente às análises físico-químicas e de sedimento urinário, automatizados, para descartar presença de proteinúria, bem como a presença de hematuria, leucocitúria, bacteriúria, cristalúria e cilindrúria que pudessem indicar algum dano renal e infecção no trato urinário. As amostras que apresentaram algumas dessas anormalidades foram descartadas do estudo. Em seguida, as amostras foram transportadas refrigeradas, acidificadas com ácido clorídrico a 50% e enviadas ao Instituto Hermes Pardini em Belo Horizonte- MG, onde foram analisadas as quantificações dos níveis de citrato, creatinina e feito o cálculo da relação citrato/creatinina pelo setor de veterinária. Os valores medianos para citrato urinário, creatinina urinária e a relação citrato/creatinina foram, respectivamente: de 12 mg/dL, 64 mg/dL e 0.13 para machos; 18 mg/dL, 82.3 mg/dL e 0.27 das fêmeas; 14.35 mg/dL; 69.10 mg/dL e 0.22 nos adultos e 15.2 mg/dL, 80.85 mg/dL e 0.13 nos senis. Para avaliar a correlação entre a idade dos animais e os parâmetros avaliados, foi realizado o teste de correlação de Spearman (distribuição não normal). Nenhuma correlação foi encontrada para o citrato urinário ($r=0,03$; $p=0,83$), creatinina urinária ($r=0,16$; $p=0,26$), nem para a relação citrato/creatinina urinária ($r=0,11$; $p=0,44$). Porém os valores das relações citrato/creatinina não sofreram variações significativas quando comparadas entre os grupos, indicando um possível intervalo de referência único para cães, assim como ocorre com esse parâmetro na medicina humana, onde valores abaixo de 0.20 são considerados hipocitratúricos, enquanto que acima são considerados normais.

Palavras-chave: Hipocitratúria; Urinálise; Urolitíase; Inibidores da cristalização; Ácido cítrico.

Abstract

BALDISSERA, Dímitry M. F. **Citrate/creatinine ratio “cut-off” reference range in isolated urine samples of healthy dogs.** 2020. 26f. Dissertation (Master degree in Science) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2020.

The citrate / creatinine ratio serves as a marker of hypocitraturia in the diagnostic aid of urolithiasis in humans. The urolithiasis is an important disease of the domestic canine urinary system, the vast majority of them being composed of calcium oxalate. Factors such as the decrease in the concentration of urinary crystallization inhibitors, progressively increase the risk of formation of uroliths. This is of great relevance in the diagnostic aid the use of laboratory tests to evaluate cases of urolithiasis, since it is observed frequently and is often relapsing. The urinary citrate in human medicine acts as an inhibitor of calcium oxalate stone formation, whereas the low urinary citrate excretion (hypocitraturia) is a well-accepted risk factor for calcium stones formation. The purpose of this study was to determine the reference range of the citrate / creatinine ratio in random urine samples in healthy dogs. A total of 46 urine samples were collected by cystocentesis, catheterization or spontaneous urination from dogs attended at the Center for Clinical and Surgical Practices of the IFC-Campus Concórdia. The animals were divided into four groups according to gender, Group I (males n = 17), Group II (females n = 29) and age, Group III (adults n = 26) and Group IV (senile n = 20). Urine samples were refrigerated at 4-8°C, and immediately submitted to physicochemical analysis and urinary sediment, automated, to rule out the presence of proteinuria, as well as the presence of hematuria, leucocyturia, bacteriuria, crystalluria and cylindruria, which could indicate any kidney damage and urinary tract infection. Samples that presented any of these abnormalities were discarded from the study. Then, the samples were acidified with 50% hydrochloric acid and sent refrigerated to the Hermes Pardini Institute in Belo Horizonte-MG, where citrate and creatinine levels were analyzed and the citrate / creatinine ratio was calculated by the veterinary sector. The median value of urinary citrate, urinary creatinine and citrate / creatinine ratio were, respectively: 12 mg/dL, 64 mg/dL and 0.13 for male dogs; 18 mg/dL, 82.3 mg/dL and 0.27 for female dogs; 14.35 mg/dL, 69.10 mg/dL and 0.22 for adults; and 15.2 mg/dL, 80.85 mg/dL and 0.13 for senile. To assess the correlation between the age of the animals and the parameters evaluated, Spearman's correlation test was performed (non-normal distribution). No correlation was found for urinary citrate ($r=0.03$; $p=0.83$), urinary creatinine ($r=0.16$; $p=0.26$), nor for the urinary citrate / creatinine ratio ($r=0.11$; $p=0.44$). However, the values of the citrate / creatinine ratios did not suffer significant variations when compared among groups, indicating a possible single reference interval for canines, as it occurs with this parameter in human medicine, where values below 0.20 are considered hypocitraturic, while above are considered normal.

Keywords: Hypocitraturia, urinalysis, urolithiasis, crystallization inhibitors, citric acid

Lista de Tabelas

| | | |
|----------|---|---|
| Tabela 1 | Fatores de risco para formação de urólitos de oxalato de cálcio. | 4 |
| Tabela 2 | Caracterização de cada urólito, aliada a possíveis predisposições. | 4 |

SUMÁRIO

| | | |
|---|--|----|
| 1 | CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE..... | 1 |
| | 1.1 Urolitíase | 1 |
| | 1.2 Citrato | 5 |
| | 1.3 Relação citrato/creatinina | 6 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 7 |
| | 2.1 Geral | 7 |
| | 2.2 Específicos | 7 |
| | 3 ARTIGO | 8 |
| | Introdução | 10 |
| | Material e Métodos | 12 |
| | Resultados..... | 13 |
| | Discussão | 14 |
| | Conclusões..... | 17 |
| | Referências bibliográficas..... | 18 |
| 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 22 |
| 5 | REFERÊNCIAS..... | 23 |

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE

1.1 Urolitíase

O sistema urinário dos animais terrestres tem habilidade de formar urina hiperosmolar (concentrada em solutos), sendo que uma de suas funções seria a eliminação de resíduos na forma líquida (Senior & Finlayson, 1986). A urina dos cães é uma complexa solução que contém sais como oxalato de cálcio, fosfato amoníaco magnésiano dentre outros, estes podem permanecer em condições de supersaturação, sendo que a mesma possui uma força de precipitação ou a capacidade de formar sólidos (cristais) a partir dos sais dissolvidos em excesso (Silva Filho et al., 2013). A terminologia mais aceita quando o precipitado é microscópico e anormal na urina é a cristalúria, enquanto as concreções macroscópicas são chamadas de urólitos (Osborne, 1999).

A urolitíase tem prevalência 0,4 a 2% dos casos que ocorrem na clínica de pequenos animais, sendo a terceira doença mais importante do sistema urinário de caninos domésticos (Sosnar et al., 2005). Os cálculos urinários localizam-se normalmente na bexiga e na uretra, sendo raros nos rins e ureteres (Lulich et al., 2004). Não deve ser entendida como uma doença isolada, mas sim como uma consequência de uma ou mais anormalidades subjacentes (Osborne, 1999).

Os urólitos podem lesar o uroepitélio, resultando em uma inflamação do trato urinário (hematúria, polaciúria, disúria, estrangúria); ainda, quando os urólitos ficarem alojados nos ureteres ou na uretra, poderá ocorrer obstrução, com possível comprometimento do fluxo urinário (Grauer, 2003).

Os urólitos são formados na sua maioria por estruvita ou oxalato de cálcio, porém outros minerais podem precipitar, formando urólitos, tais como urato, fosfato de cálcio, cistina e sílica (Oyafuso et al, 2009). A bexiga e a uretra são os locais com maior incidência de cálculo do trato urinário, causando cistolitíase e uretrolitíase respectivamente (Osborne et al., 2008).

A interação de fatores de origem familiar, congênita ou processos patológicos adquiridos, em combinação, aumenta progressivamente o risco de formação de urólitos (Osborne, 1999). Dentre esses já conhecidos, destacam-se a raça, o sexo, a idade, as anormalidades anatômicas ou funcionais do trato urinário, as anormalidades metabólicas, as infecções urinárias, a dieta, o pH da urina e o consumo reduzido de água (Oyafuso et al., 2009), outros fatores como a alta concentração de cristaloides na urina, a diminuição na concentração de inibidores da cristalização urinária, o pH favorável e a infecção também estão diretamente relacionados (Castro & Matera, 2005).

O reconhecimento desses riscos auxilia o diagnóstico precoce e permite o planejamento de terapia e de modificações dietéticas que possam minimizar a formação de urólitos e recidivas (Osborne, 1999). Segundo Osborne et al. (1999), é improvável que apenas a remoção cirúrgica do urólito impeça recidivas. Portanto, a detecção do urólito é apenas o início do processo diagnóstico (Lulich et al., 1999).

O gênero do animal também é um fator a ser avaliado, sendo que os machos apresentam uma uretra longa com diâmetro pequeno, o que facilita a obstrução por pequenos cálculos. Já as fêmeas apresentam uretra mais curta e com maior diâmetro, fator que pode facilitar a formação de cálculos únicos e grandes na bexiga. Em cães machos o local mais comum de urólitos obstrutivos é na base do osso peniano (Grauer, 2015).

Um dos urólitos mais encontrados em cães é o de oxalato de cálcio (Oyafuso et al., 2009), logo é de grande auxílio diagnóstico a utilização de exames laboratoriais para avaliar casos de urolitíase, visto que a mesma é observada com relativa frequência e, muitas vezes, é recidivante. Vários fatores estão envolvidos no aparecimento de cristais de oxalato de cálcio em cães, dentre eles se destaca a diminuição ou defeito de inibidores, sendo estas substâncias orgânicas ou inorgânicas na urina que inibem a formação do cristal, agregação ou crescimento, entre os diversos inibidores, citrato, magnésio e pirofosfato são responsáveis por 20% da atividade inibitória (Oyafuso et al., 2009).

Estudo realizado por Lulich et al. (1999) dos 47 urólitos simples de oxalato de cálcio, 40 foram obtidos de machos e apenas sete de fêmeas, achados condizentes com a literatura, pois machos podem ser predispostos a formação do referido tipo de cálculo urinário por apresentarem menor excreção urinária de citrato em decorrência da menor concentração de estrógeno circulante quando comparada com fêmeas. O aumento da

prevalência desses urólitos de oxalato de cálcio nos últimos dez anos tem relação com o crescente uso das dietas comerciais com acidificantes, o sedentarismo, redução de consumo de água e preferência por raças pequenas susceptíveis, que levou ao aumento da sua incidência (Picavet et al., 2007).

Alguns cálculos têm maior predisposição por algumas raças específicas, gêneros específicos e idade específica, mas podem se manifestar em qualquer sexo, idade ou raça. Urólitos de oxalato de cálcio são mais prevalentes em machos, mais de 70 %, com idade de 5 a 12 anos, em raças como *Bichon Frisé*, *Cairn Terrier*, *Lhasa Apso*, *Mini Poodle*, *Mini Schnauzer*, *Shih Tzu* e *Yorkshire Terrier*. Enquanto, urólitos de estruvita são mais comuns em fêmeas, mais de 80%, com idade de 1 a 8 anos, em raças como *Bichon Frisé*, *Cocker Spaniel*, *Mini Poodle* e *Mini Schnauzer* (Grauer, 2000).

Dentre as teorias de formação de urólitos, duas são as mais importantes. Pela teoria de cristalização a formação do cálculo está ligada ao grau de saturação da urina, em urina supersaturada, os minerais se agregam espontaneamente e crescem, formando urólitos, essa teoria se adequa muito bem em alguns tipos de urólitos, como os de urato e estruvita, colocados em zona de subsaturação urinária, estas concreções inclusive se dissolvem. Pela teoria da deficiência de inibidores da cristalização, a falta de inibidores promoveria a formação de concreções na urina, os urólitos de oxalato de cálcio se ajustam a esta teoria, pois sua formação está ligada à presença de inibidores de sua formação como magnésio e o citrato. (Osborne et al., 1999).

A prevalência de urólitos de oxalato de cálcio (CaOx) em cães tem aumentado substancialmente nos últimos 20 anos (Stevenson et al., 2004). Segundo Osborne et al. (2000) os fatores de risco para urólitos de oxalato de cálcio encontram-se dispostos na tabela 1. A espécie canina é utilizada como modelo de estudo da urolitíase em seres humanos e, por esse motivo, o comportamento do desenvolvimento de urólitos nessa espécie é bastante estudado. Os fatores que predispõem a formação de urólitos nos animais são os mesmos observados em humanos (Robinson et al., 2008). A idade dos cães afetados varia muito, mas a maioria dos casos é descrita na idade adulta.

Os mais afetados são os animais machos, adultos e de raça definida, sendo que a ocorrência está distribuída em diversas raças (Inkelmann et al., 2012). A tabela 2 mostra algumas predisposições de acordo com o cálculo urinário, além de características associadas a cada urólito (Forrester & Lees, 1998; Grauer, 2000).

Tabela 1: Fatores de risco para formação de urólitos de oxalato de cálcio.

| Dieta | Urina | Metabólico | Drogas |
|---|--|--|--|
| Potencial acidificante | Hipercalcúria | Acidose metabólica crônica | Acidificantes urinários |
| Altas quantidades de proteína, sódio, cálcio, oxalato. | Hiperoxalúria Hipocitratúria | Machos | Furosemida |
| Restrição excessiva de cálcio, fósforo, magnésio. | Hipomagnesúria Hiperuricosúria | Raças <i>Schnauzers</i> miniaturas <i>Poodles</i> | Glicocorticóides Cloreto de sódio Vitamina D |
| Baixa umidade | Aumento dos promotores de cristais | <i>Lhasa apso</i> <i>Yorkshires terriers</i> | Ácido ascórbico |
| Quantidade excessiva de magnésio, vitamina D, vitamina C. | Diminuição dos inibidores de cristais | <i>Shih tzus</i> <i>Bichon frizés</i> | |
| Piridoxina deficiente (?) | Concentração da urina Retenção urinária | Mais velhos Hipercalcemia Excesso de cortisol Hipofosfatemia Hiperoxalemia (?) <u>Osteólise (?)</u> | |

Fonte: Osborne et al., 2000.

Tabela 2: Caracterização de cada urólito, aliada a possíveis predisposições.

| Tipos de urólito | Densidade radiográfica | pH urinário usual | Infecção urinária |
|-------------------------|-------------------------------------|--------------------------|---|
| Cistina | Variável, geralmente radioluscente. | Ácido | Rara |
| Estruvita | Variável, geralmente radiopaco | Neutro a alcalino | Muito comum sobretudo com bactérias uréase positiva |
| Oxalato de cálcio | Muito radiopaco | Ácido a neutro | Rara |
| Sílica | Variável, geralmente radiopaco | Ácido a neutro | Incomum |
| Urato | Variável, geralmente radioluscente | Ácido a neutro | Incomum |

Fonte: Forrester & Lees, 1998; Grauer, 2000.

1.2 Citrato

O citrato é um ácido tricarboxílico normalmente excretado na urina, o citrato urinário age como um inibidor da formação de cálculos de oxalato de cálcio através de vários mecanismos, em um deles o citrato urinário se liga ao cálcio urinário, formando um complexo solúvel e diminuindo o cálcio iônico livre disponível para a formação de cálculos de oxalato de cálcio (Meyer & Smith, 1975). O citrato urinário também interage com o cristal de oxalato de cálcio como um inibidor da agregação de cristais e do crescimento de cristais (Nicar et al., 1987).

Nos humanos, o oxalato de cálcio é o urólito mais frequente, pois a urina humana é naturalmente supersaturada de cálcio. Os inibidores do crescimento de cristais de oxalato de cálcio possuem, portanto, um papel importante nessa espécie. Há uma forte relação entre o aumento da eliminação urinária de ácido úrico e urolitíase por oxalato de cálcio nos seres humanos, pela ação do ácido úrico sobre as glicoproteínas presentes na urina (Kalaiselvi et al., 1999).

A hipocitraturia provavelmente é o fator de risco com maior incidência encontrado em formadores recorrentes de urólitos de oxalato de cálcio. A hipercalcúria, a hiperuricúria e a hipocitraturia são hoje reconhecidas como importantes fatores na patogênese da doença calculosa renal em adultos e crianças (Penido et al., 2002). A concentração de citrato plasmática é baixa, aproximadamente 2,4 mg/dl, circulando em grande parte complexado a sódio, cálcio e magnésio e muito pouco a grandes moléculas, já que mais de 90% do citrato é filtrado livremente pelo rim, 65-90% é reabsorvido a nível do túbulo contornado proximal e o resto é excretado pela urina (Simpson, 1983; Brenann et al., 1986). Seus níveis plasmáticos parecem ser bastante independentes da dieta, pois uma vez absorvido o citrato proveniente dos alimentos, este é rapidamente metabolizado a nível hepático (Del Valle et al., 2013).

Em nível intracelular é um componente central do ciclo de Krebs, o citrato é utilizado principalmente em dois órgãos, fígado e rim (Hamm, 1990). Em nível urinário é um potente inibidor da cristalização de cristais de oxalato de cálcio e fosfato de cálcio, sendo a hipocitraturia um fator de risco para a formação de urólitos de cálcio (Pak, 1987). O pH sistêmico, tubular e intracelular é um dos fatores que mais afeta a excreção de citrato, ao passo que a acidose diminui a sua excreção a alcalose a aumenta. O citrato

intracelular é transportado até a mitocôndria por uma proteína transportadora de ácidos tricarboxilados, sendo metabolizado em CO_2 e H_2O , fornecendo 10% da energia requerida pelo rim.

Também foi demonstrado que o citrato inibe a precipitação espontânea de urólitos de oxalato de cálcio (Nicar et al., 1987) e a nucleação de urólitos de oxalato de cálcio induzida pelo urato monossódico (Pak, 1987). A importância desse papel inibitório do citrato é fundamental, já que a agregação de cristais desempenha um papel crítico na formação de urólitos, portanto um mecanismo protetor na formação de cálculos renais é ter uma capacidade adequada para inibir a agregação destes cristais (Del Valle et al., 2013). Apesar de vários mecanismos conhecidos, a hipocitratúria é na maioria dos casos idiopática, embora uma dieta rica em proteínas e pobre em fibras vegetais e potássio tende a promover uma menor excreção de citrato (Kok et al., 1990; Hess et al., 1994).

1.3 Relação citrato/creatinina

A creatinina é considerada um bom indicador da estimativa da taxa de filtração glomerular e, conseqüentemente, a concentração urinária de creatinina é proporcional à concentração total de soluto na urina. Logo, quando a taxa de creatinina excretada na urina é comparada com a quantidade de proteína urinária através da relação proteína/creatinina, a quantidade de proteína perdida pode ser quantificada, eliminando-se a interferência do volume de urina (Castro, et al., 2009). Habitualmente o diagnóstico de hipocitratúria é feito em amostras urinárias colhidas durante 24 horas, porém a coleta desse tipo de amostra apresenta grandes dificuldades práticas. (Penido et al., 2002).

Os inconvenientes desse tipo de coleta levaram os pesquisadores a utilizarem os quocientes de citrato/creatinina em amostras urinárias simplificadas ou avaliar a excreção desses elementos nessas mesmas amostras em mg/dl do ritmo de filtração glomerular – RFG (Trinchieri et al., 1992). Infelizmente, o estudo da citratúria ainda não figura na rotina das avaliações metabólicas de pacientes litíasicos e pouco se sabe sobre o quociente citrato/creatinina de amostra urinária única, matinal. Alguns autores estudaram esse quociente em urina em 24h de adultos (Penido et al., 2002).

Face ao aumento na incidência de novos casos de urolitíase por cristais de oxalato de cálcio em cães, bem como, a alta taxa de recidiva, o presente estudo buscou

estabelecer um valor de referencia “cut-off” da relação citrato/creatinina em amostras de urina isolada de cães hígdos.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Determinar os valores de citrato, creatinina e relação citrato/creatinina em amostras de urina isoladas (ao acaso) de cães hígdos de dois grupos etários e ambos os gêneros.

2.2 Específicos

- Analisar os valores obtidos para níveis de citrato, creatinina e relação citrato/creatinina em 46 amostras de urina isolada de cães hígdos, colhidas por micção espontânea ou cistocentese na clínica veterinária do Instituto Federal Catarinense, campus Concórdia/SC.
- Verificar se há variação desses parâmetros quando submetidos às seguintes variáveis: faixa etária (adulto e senil) e gênero.
- Definir um valor de referência “cut-off” para relação e citrato/creatinina em cães hígdos.

3 ARTIGO

Intervalo de referência “cut-off” da relação citrato/creatinina em amostras de urina isolada de cães hígdos

Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor

Manuscrito a ser submetido à Acta Biomedica Brasiliensia

(<https://www.actabiomedica.com.br/index.php/acta>)

Autores:

Baldissera, D. M. F.¹; Gomes, T. M. A.²; Surian, S. R. S.³

¹Dímitry Macedonio Fracaro Baldissera, Biomédico Especialista em Patologia Clínica, Mestrando em Produção e Sanidade Animal, Instituto Federal Catarinense, Concórdia/SC – Autor correspondente: dimitrybaldissera@hotmail.com

²Teane Milagres Augusto Gomes, Professora Doutora em Patologia Veterinária, Instituto Federal Catarinense, Concórdia/SC.

³Soraya Regina Sacco Surian, Professora Doutora em Clínica Veterinária, Instituto Federal Catarinense, Concórdia/SC.

Resumo - A relação citrato/creatinina serve como marcador de hipocitratúria no auxílio diagnóstico de urolitíase em humanos. A urolitíase é uma das doenças mais importantes do sistema urinário de caninos domésticos, sendo a grande maioria dos cálculos composto de oxalato de cálcio, fatores como a diminuição na concentração de inibidores da cristalização urinária, aumentam progressivamente o risco de formação de urólitos. O citrato urinário na medicina humana age como um inibidor da formação de cálculos de oxalato de cálcio, sendo que, a excreção de citrato urinário baixo (hipocitratúria) é um fator de risco bem aceito para a formação de cálculos de cálcio. O objetivo do trabalho foi determinar o intervalo de referência da relação citrato/creatinina em amostras de urina ao acaso em cães hígidos. Foram totalizadas 46 amostras de urina isolada colhidas por cistocentese, cateterismo ou micção espontânea de cães atendidos no Centro de Práticas Clínicas e Cirúrgicas do IFC- Campus Concórdia. Para isso, os animais foram separados em quatro grupos de acordo com o gênero e faixa etária (adulto e senil). Os dados foram submetidos à análise estatística para cálculo da mediana, teste de Kruskal Wallis e teste de correlação de Spearman, onde o valor de $p < 0,05$ foi utilizado para definir significância estatística. Os valores das relações citrato/creatinina não sofreram variações significativas quando comparadas entre os grupos, indicando o valor de 0,18 como um possível intervalo de referência “cut-off” único para cães, assim como ocorre na medicina humana.

Palavras-chave: Hipocitratúria; Urinálise; Urolitíase; Inibidores da cristalização; Ácido cítrico.

Abstract - The citrate / creatinine ratio serves as a marker of hypocitraturia in the diagnostic aid of urolithiasis in humans. Urolithiasis is one of the most important diseases of the urinary system of domestic canines, with the vast majority of stones composed of calcium oxalate, factors such as the decrease in the concentration of inhibitors of urinary crystallization, progressively increase the risk of urolith formation. Urinary citrate in human medicine acts as an inhibitor of the formation of calcium oxalate stones, being that the excretion of low urinary citrate (hypocitraturia) is a well-accepted risk factor for the formation of calcium stones. The aim of this study was to determine the reference range for the citrate / creatinine ratio in random urine samples in healthy dogs. A total of 46 isolated urine samples collected by cystocentesis, catheterization or spontaneous urination of dogs attended at the IFC-Campus Concórdia Clinical and Surgical Practice Center were totaled. The animals were separated into four groups according to gender and age group (adult and senile). The data were submitted to statistical analysis to calculate the median, Kruskal Wallis test and Spearman's correlation test, where the p value < 0.05 was used to define statistical significance. Values of the citrate / creatinine ratios did

not suffer significant variations when compared among groups, indicating the value of 0.18 a possible single reference interval for dogs, as occurs in human medicine.

Keywords: Hypocitraturia; Urinalysis; Urolithiasis; Crystallization inhibitors; Citric acid.

Introdução

A urina dos cães é uma complexa solução que contém sais como oxalato de cálcio, fosfato amoníaco magnésiano entre outros. Estes podem permanecer em condições de supersaturação na urina, sendo que a mesma possui uma força de precipitação ou a capacidade de formar sólidos (cristais) a partir dos sais dissolvidos em excesso (SILVA FILHO et al., 2013). A urolitíase humana é uma doença que pode formar urólitos vesicais, renais e uretrais, sendo bastante comum em adultos com uma prevalência estimada de 3% a 5% (STAMATELOU et al., 2003).

A urolitíase canina tem prevalência 0,4 a 2% dos casos que ocorrem na clínica de pequenos animais, sendo a terceira doença mais importante do sistema urinário de caninos domésticos (SOSNAR, 2005). Os urólitos podem lesionar o uroepitélio, resultando em uma inflamação do trato urinário, além de (hematúria, polaciúria, disúria, estrangúria). Ainda, quando os urólitos ficam alojados nos ureteres ou na uretra, poderá resultar em obstrução, com possível comprometimento do fluxo urinário (GRAUER, 2003). Os fatores que predispõem a formação de urólitos nos animais são os mesmos observados em humanos (ROBINSON et al., 2008).

Em cães os urólitos são formados na sua maioria por estruvita ou oxalato de cálcio, porém outros minerais podem precipitar, tais como urato, fosfato de cálcio, cistina e sílica. A incidência de urólitos de oxalato de cálcio (CaOx) em cães tem aumentado substancialmente nos últimos 20 anos (STEVENSON et al., 2004), relacionado ao crescente uso das dietas comerciais com acidificantes, ao sedentarismo, à redução de consumo de água e à preferência por raças de pequeno porte susceptíveis, como *Bichon Frisé*, *Cairn Terrier*, *Lhasa Apso*, *Mini Poodle*, *Mini Schnauzer*, *Shih Tzu* e *Yorkshire Terrier* (GRAUER, 2000; PICALET et al., 2007).

Dentre os principais fatores de risco para a formação de urólitos, a alta concentração de cristaloides na urina, a diminuição na concentração de inibidores da cristalização urinária, o pH favorável e a infecção também estão diretamente relacionados (CASTRO e MATERA, 2005). Há substâncias orgânicas ou inorgânicas na urina, denominadas inibidores, que inibem a formação do cristal, sua agregação ou crescimento. Dentre os diversos inibidores, o citrato,

magnésio e pirofosfato são responsáveis por 20% da atividade inibitória. De acordo com a teoria da deficiência de inibidores da cristalização, a falta de inibidores promoveria a formação de concrementos na urina. Os urólitos de oxalato de cálcio se ajustam a esta teoria, pois sua formação está ligada à presença de inibidores de sua formação como magnésio e o citrato. (OSBORNE et al., 2008).

Nos últimos anos, o citrato tem recebido muito interesse no estudo da nefrolitíase, principalmente por causa da forte ação inibidora da cristalização de urólitos de cálcio, a importância desse papel inibitório do citrato é fundamental, já que a agregação de cristais desempenha um papel crítico na formação de urólitos, portanto um mecanismo protetor na formação de cálculos renais é ter uma capacidade adequada para inibir a agregação destes cristais (DEL VALLE et al., 2013).

A hipocitratúria (citrato urinário baixo) é um importante fator de risco para nefrolitíase de cristais de cálcio (SOYGUR et al., 2002; MATTLE e HESS, 2005; EL-NAHAS et al., 2006; KANG et al., 2007;). A hipercalciúria, a hiperuricosúria e a hipocitratúria são hoje reconhecidas como importantes fatores na patogênese da urolitíase em adultos e crianças. Habitualmente o diagnóstico de hipocitratúria é feito em amostras urinárias colhidas durante o intervalo de 24 horas, ou seja, todo o volume de urina colhido no período de 24 horas é submetido à análise. Porém a coleta desse tipo de amostra apresenta grandes dificuldades práticas (PENIDO et al., 2002). As evidências atuais sugerem que a hipocitratúria desempenha um papel principal na patogênese da nefrolitíase de cálcio em humanos. (ABDULHADI et al., 1988)

Segundo Abdulhadi et al., (1988), a terapia com citrato de potássio parece impedir a formação de cálculos por vários mecanismos. Primeiro, diminui a saturação urinária de cálcio, formando um complexo solúvel com cálcio, além de aumentar o pH urinário, que por sua vez parece melhorar a ação de outros inibidores da cristalização, como o pirofosfato. (PAK, 1987). Em estudo realizado por Pak, (1994), relatou-se que a suplementação com citrato de potássio ao longo prazo foi eficaz no tratamento de cálculos renais de cálcio isolados ou em conjunto com outros distúrbios metabólicos.

A terapia com citrato de potássio tem sido bem sucedida não apenas no tratamento da nefrolitíase de cálcio, mas também no tratamento da urolitíase do ácido úrico que se apresenta com ou sem nefrolitíase de cálcio (ABDULHADI et al., 1988). Segundo (MINNESOTA UROLITH CENTER), no monitoramento urinário, o pH deve ficar na faixa de $\geq 6,5$, sendo que o citrato de potássio, pode ser adicionado se necessário para manter o pH nesta faixa, considerando uma dose de 75mg/kg a cada 12-24 horas se o pH da urina for consistentemente menor que 6,5.

Em virtude de não haver muitos relatos na medicina veterinária sobre a análise, interpretação diagnóstica, comportamento fisiológico e a real importância da relação citrato/creatinina nos casos de nefrolitíase de cães, o objetivo deste trabalho foi determinar os valores de citrato, creatinina e relação citrato/creatinina em amostras isoladas (ao acaso) em cães hígidos de dois grupos etários e ambos os gêneros, atendidos na clínica veterinária do Instituto Federal Catarinense, campus Concórdia/SC.

Material e Métodos

A população foi constituída de 46 amostras de urina isolada colhidas por cistocentese, cateterismo, ou micção espontânea de cães atendidos no Centro de Práticas Clínicas e Cirúrgicas do Instituto Federal Catarinense, *Campus Concórdia – SC*. Um volume de 5 a 10 mL de urina, aproximadamente, foi colhida por animal no momento que deram entrada para consulta clínica, sendo acondicionada em seringas ou frascos estéreis, próprios para este material. Em relação aos grupos etários, foram divididos em animais com idade menor a 9 anos, sendo considerados adultos, já os com idade igual ou maior a 9 anos foram considerados senis.

As amostras foram devidamente identificadas com os dados do cão e submetidas imediatamente à análise físico-química semi-automatizada por reflectância (Uryxxon 500-Abbot) e análise automatizada com contraste de fase em campo escuro do sedimento urinário (Urised 3-Abbot), para descartar presença de proteinúria, bem como, a presença de hematúria, leucocitúria, bacteriúria, cristalúria e cilindrúria que pudessem indicar algum dano renal e/ou infecção no trato urinário (OYAFUSO et al., 2009).

Em seguida as amostras foram transportadas em temperatura de refrigeração (4-8 °C), acidificadas com ácido clorídrico a 50% na proporção de 1 gota (50 uL) para cada 5 mL de urina, acondicionadas em “bags” apropriadas para esse material e enviadas ao Instituto Hermes Pardini em Belo Horizonte - MG, onde foram analisadas pelo setor de veterinária. Os níveis de citrato (mg/dL) e creatinina (mg/dL) foram quantificados em equipamento automatizado (Attelica Solution-Siemens Healthineers EUA), ambos por metodologia enzimática colorimétrica, e feito o cálculo da relação citrato/creatinina.

Por fim os dados foram submetidos à análise estatística para cálculo da mediana da relação citrato/creatinina em cada grupo, teste de Kruskal Wallis e teste de correlação de Spearman (dados não normais), onde o valor de $p < 0,05$ foi utilizado para definir significância estatística.

Resultados

Das 46 amostras analisadas, 29 amostras eram de fêmeas (63,04%), 17 de machos (36,96%), 26 de adultos (56,52%) e 20 de senis (43,48%) (Tabela 1). Em relação ao gênero, as fêmeas apresentaram valores de citrato urinário variando de 1,60 mg/dL a 150,9 mg/dL; para creatinina urinária, os valores variaram de 7,1 mg/dL a 245,0 mg/dL e a relação citrato/creatinina urinária entre 0,02 a 11,09. Já nos machos, os valores de citrato na urina variaram entre 0,8 mg/dL a 56,60 mg/dL; a creatinina urinária entre 10,4 mg/dL a 307,70 mg/dL e a relação citrato/creatinina na urina entre 0,02 a 0,97. Com base nas medianas, não houve diferença estatística entre os sexos ($p>0,05$).

Em relação à faixa etária, nos adultos os valores de citrato urinário variaram de 0,8 mg/dL a 113,40 mg/dL, enquanto para a creatinina urinária, os valores variaram de 10,4 mg/dL a 307,70 mg/dL e na relação citrato/creatinina na urina, os valores ficaram entre 0,02 a 2,09. Já nos senis, o citrato urinário variou entre 1,6 mg/dL e 150,90 mg/dL; a creatinina entre 7,1 mg/dL e 245,0 mg/dL e a relação citrato/creatinina entre 0,02 e 11,09, não havendo diferença estatística em relação à faixa etária analisada ($p>0,05$).

A mediana geral entre os grupos para o parâmetro de citrato urinário, foi de 14,55 mg/dL, variando entre 12,00 mg/dL e 18,00 mg/dL, para a creatinina urinária foi de 74,70 mg/dl, variando entre 64,00 mg/dl e 82,30 mg/dl e a relação citrato/creatinina na urina foi de 0,18, variando entre 0,13 e 0,27 (Tabela 1).

Ao realizar a correlação de Spermán (dados não normais), nenhuma correlação foi encontrada para o citrato urinário ($r=0,03$; $p=0,83$), creatinina urinária ($r=0,16$; $p=0,26$), nem para a relação citrato/creatinina urinária ($r=0,11$; $p=0,44$)

Desta maneira, foi calculado um valor de referência único de 0,18 para relação citrato/creatinina na urina, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Estatística descritiva para os valores de citrato, creatinina e relação citrato/creatinina por sexo, faixa etária e geral.

| | Grupo | n | Mínimo | 1º Quartil | Mediana | Média | 3º Quartil | Máximo | p |
|-------------------------------|---------|----|--------|------------|---------|--------|------------|--------|------|
| Citrato (mg/dL) | Fêmeas | 29 | 1,6 | 6,20 | 18,00 | 30,36 | 31,60 | 150,90 | 0,92 |
| | Machos | 17 | 0,8 | 4,60 | 12,00 | 16,64 | 25,60 | 56,60 | |
| | Adultos | 26 | 0,8 | 5,40 | 14,35 | 21,85 | 26,65 | 113,40 | |
| | Senil | 20 | 1,6 | 4,08 | 15,20 | 29,75 | 27,88 | 150,90 | |
| | Geral | 46 | 0,8 | 5,20 | 14,55 | 25,28 | 27,32 | 150,90 | |
| Creatinina (mg/dL) | Fêmeas | 29 | 7,1 | 32,00 | 82,30 | 89,93 | 126,50 | 245,00 | 0,95 |
| | Machos | 17 | 10,4 | 50,10 | 64,00 | 98,59 | 126,70 | 307,70 | |
| | Adultos | 26 | 10,4 | 39,08 | 69,10 | 103,46 | 152,38 | 307,70 | |
| | Senil | 20 | 7,1 | 27,10 | 80,85 | 79,72 | 121,10 | 245,00 | |
| | Geral | 46 | 7,1 | 32,10 | 74,70 | 93,13 | 126,65 | 307,70 | |
| Relação Citrato/Creatinina | Fêmeas | 29 | 0,02 | 0,06 | 0,27 | 0,91 | 0,65 | 11,09 | 0,91 |
| | Machos | 17 | 0,02 | 0,10 | 0,13 | 0,24 | 0,29 | 0,97 | |
| | Adultos | 26 | 0,02 | 0,05 | 0,22 | 0,35 | 0,42 | 2,09 | |
| | Senil | 20 | 0,02 | 0,09 | 0,16 | 1,07 | 0,58 | 11,09 | |
| | Geral | 46 | 0,02 | 0,06 | 0,18 | 0,67 | 0,50 | 11,09 | |

Discussão

A urolitíase tem prevalência 0,4 a 2% dos casos que ocorrem na clínica de pequenos animais, sendo a terceira doença mais importante do sistema urinário de caninos domésticos (SOSNAR et al., 2005). A hipocitraturia é um fator de risco para formação de cálculos de cálcio na medicina humana (PAK, 1994). Já na medicina veterinária, não há muitos estudos que apontem a hipocitraturia, como um fator de risco na formação de cálculos de cálcio, tornando-se fundamental o reconhecimento dessa alteração metabólica também na medicina veterinária. Pois na medicina humana, a análise da hipocitraturia é fundamental para que se possa atuar de

maneira objetiva na prevenção da formação de urólitos de oxalato de cálcio (PENIDO et al., 2002), já que os índices de risco são regidos pela forte contribuição das concentrações de cálcio e oxalato, bem como dos fracos efeitos inibitórios do citrato e magnésio (OGAWA et al., 2003). Essa prevenção poderia acontecer a partir da avaliação, controle e acompanhamento dos pacientes predispostos a formarem urólitos (PENIDO et al., 2002).

Sabe-se que a população canina afetada por urolitíase é constituída predominantemente por machos (64,5%) e adultos (52,6%) (Inkelmann et al., 2012). Em relação à composição mineral dos cálculos, de acordo com o sexo dos cães, nota-se predomínio de estruvita nas fêmeas e de oxalato de cálcio nos machos (HOUSTON et al., 2004; PICAVET et al., 2007; OSBOURNE et al., 2008; HOUSTON et al., 2009; DEL ALGEL-CARAZA et al., 2010; ROGERS et al., 2011).

Assim os índices de risco na formação de urólitos de cálcio são regidos pela forte contribuição das concentrações de cálcio e oxalato, advindos da dieta, bem como dos fracos efeitos inibitórios do citrato e magnésio (OGAWA et al., 2003). O citrato é um potente inibidor da cristalização de sais de cálcio (DEL VALLE et al., 2013). A detecção de componentes minerais na urina, com potencial urolítico, se tornam valiosos na identificação de indivíduos com maior potencial de risco e poderiam ser usados para monitorar o progresso do distúrbio ou a eficácia dos tratamentos para prevenção de recorrência (YANG et al., 2009).

Em estudo realizado por Ogawa et al. (2003), a concentração de citrato urinário em amostras ao acaso (isoladas) foi de $2,257 \pm 2,038$ mmol/l ($43,36 \pm 39,15$ mg/dl) e $1,498 \pm 1,279$ mmol/l ($28,78 \pm 24,57$ mg/dl) em pacientes humanos não formadores de cálculo e formadores de cálculos respectivamente. Já em estudo realizado por Stevenson et al. (2003), os valores médios para a concentração de citrato urinário de 24 horas em 17 cães do grupo controle (não formadores de cálculos de oxalato de cálcio) foi de $0,82 \pm 1,07$ mmol/l ($15,75 \pm 20,56$ mg/dl) e nos 17 cães formadores de cálculos de oxalato foi de $0,74 \pm 1,10$ mmol/l ($14,22 \pm 21,13$ mg/dl), mostrando que não houve diferença estatística entre os cães formadores e não formadores de cálculo de oxalato de cálcio ($p=0,54$).

Estes dados evidenciam dessa forma a possibilidade de não se avaliar o parâmetro de citrato isoladamente, e sim, corrigido pela creatinina, através da relação citrato/creatinina, já que a creatinina é considerada um bom indicador da estimativa da taxa de filtração glomerular e, conseqüentemente, a concentração urinária de creatinina é proporcional à concentração total de soluto na urina (CASTRO et al., 2009).

Em estudo realizado por Penido et al. (2002) em humanos, a média para os valores para excreção de citrato em mmol/kg/24h não variaram com a idade ($0,03 \pm 0,02$; $0,04 \pm 0,03$ e

0,03±0,02) em adolescentes, crianças em idade escolar e crianças em idade pré-escolar, respectivamente. Já a média para os valores de excreção de citrato em mg/dL do ritmo de filtração glomerular (RFG), no mesmo estudo, foram de (0,18±0,18 e 0,17±0,17), para amostras únicas com jejum e sem jejum, respectivamente. Observou-se que fatores como idade e sexo não alteraram os valores encontrados nas amostras urinárias, semelhante aos resultados encontrados neste estudo, em que valores de citrato em mg/dL, não variaram entre os grupos etários e por gênero ($p=0,92$). Em contrapartida, em estudo realizado por Ogawa et al. (2003), os valores da excreção urinária de citrato foram maiores em mulheres formadoras de cálculo do que em homens, bem como o citrato corrigido pela creatinina, tendia a ser maior em mulheres.

Habitualmente, o diagnóstico de hiporexcreções de ácido úrico, ácido oxálico, citrato, entre outros minerais, são feitas em amostras urinárias colhidas durante 24 horas, porém esse tipo de amostra apresenta grandes dificuldades práticas, especialmente em pacientes pediátricos, podendo incorrer em erros e representar incômodo para a criança e ônus para a família (PENIDO et al., 2002). Os inconvenientes desse tipo de coleta levaram os pesquisadores a utilizarem o quociente citrato/creatinina (TRINCHIERI et al., 1992). Portanto, a medição de amostras de urina isoladas, sendo a primeira da manhã, pode ser útil para identificar alguns fatores de risco, incluindo hipercalciúria e hipocitratúria (OGAWA et al., 2003).

Em estudo realizado por FURROW et al., (2015), a dosagem da excreção de cálcio na urina de 24 horas de cães era preferível, porém essa técnica não foi usada em virtude de ser mais onerosa, apresentar inconveniências aos proprietários e dificuldade técnica na coleta do volume completo da urina de 24 horas em cães.

Na rotina laboratorial humana, as dosagens bioquímicas em urina de 24 horas estão constantemente sujeitas a discordância nos resultados em virtude da necessidade da correta aferição do volume urinário a ser colhido pelo paciente, visto que, a maioria dos cálculos para o correto resultado em dosagens bioquímicas em amostras urinárias de 24 horas depende diretamente do volume colhido, sendo este um fator pré-analítico de responsabilidade exclusivamente dos pacientes, o que na maioria das vezes implica em erros de coleta, perda de amostra no período de coleta e principalmente esquecimento por parte dos pacientes.

No estudo realizado por Penido et al. (2002), os valores dos quocientes citrato/creatinina em urinas humanas de amostra única (isolada), matinal, com jejum ($p=0,36$) e sem jejum ($p=0,22$), não variaram com a idade, semelhante aos resultados encontrados neste estudo, em que valores da relação citrato/creatinina, não variaram entre os grupos etários e por gênero ($p=0,91$). Porém, em outro estudo, valores diferentes foram obtidos para esse quociente em relação ao sexo e à idade (TRINCHIERI et al., 1992).

Em nosso estudo, o valor geral (mediana), de referência para a relação citrato/creatinina foi de 0,18 para todos os grupos analisados (machos, fêmeas, adultos e senis). Desta forma foi possível estabelecer um valor de referência único “cut-off”, onde, valores abaixo de 0,18 seriam considerados hipocitráticos, enquanto valores acima, seriam considerados normais. Isto se assemelha ao que ocorre na medicina humana, onde um “cut-off” único, definido para hipocitraturia em amostra de urina isolada, são valores abaixo de 0,20. Assim os dados evidenciam que a relação citrato/creatinina em urina de amostra isolada poderia ser utilizada para controle de pacientes caninos com hipocitraturia. Assim como ocorre na medicina humana (PENIDO et al., 2002).

Infelizmente, o estudo, dosagem e interpretação clínica e diagnóstica da hipocitraturia em amostras de urina isolada, não figura na rotina das avaliações metabólicas de cães litíasicos formadores de cálculos na medicina veterinária, diferentemente do que ocorre na medicina humana, mesmo sabendo de seu importante papel na calculose renal recidivante e no possível auxílio diagnóstico deste parâmetro, quando associado a outros achados clínicos indicativos de urolitíase nesses animais.

A relação citrato/creatinina em amostra de urina isolada ainda não é considerada uma ferramenta de grande valor no auxílio diagnóstico em conjunto com outros parâmetros metabólicos em cães litíasicos e recidivantes. Esse parâmetro pode ser eficaz no diagnóstico de hipocitraturia, auxiliando desta maneira no tratamento, suplementação e acompanhamento desses animais.

O custo do teste bioquímico para dosagem da relação citrato/creatinina na urina isolada é baixo, atualmente o valor é de R\$ 15,00 sendo acessível à maioria dos proprietários, desta forma, pode ser um importante exame laboratorial no auxílio diagnóstico dos cães litíasicos, podendo por sua vez, ser inserido na gama de exames de rotina dos animais suspeitos e até mesmo os que já estão em tratamento, avaliando a resposta e a eficácia da suplementação com citrato de potássio.

Dessa forma foi o primeiro trabalho que buscou estabelecer um valor de referência “cut-off” único, para relação citrato/creatinina, para indicar hipocitraturia em amostras de urina isolada de cães hígdos, afim de auxiliar no diagnóstico, tratamento, suplementação e acompanhamento de cães com suspeita de quadro de urolitíase, bem como, em quadros de recidiva.

Conclusões

As amostras de urina isolada de cães hígdos submetidas a análise da relação citrato/creatinina usando reagentes comerciais aplicados na medicina humana, acabaram por apresentar valores após as análises, indicando que o uso de reagente comercial humano pôde ser usado para dosagens veterinárias de relação citrato/creatinina

Não houve associação significativa dos valores de citrato, creatinina e relação citrato/creatinina entre os sexos e faixa etária (adulto e senil). Porém foi possível gerar um valor de referência “cut-off” único de 0,18 para relação citrato/creatinina em todos os grupos estudados.

Contudo, são necessários estudos futuros, afim de, dosar a relação citrato/creatinina em amostras de urina isolada de cães formadores de urólitos de oxalato de cálcio, com o intuito de constatar a presença de hipocitratúria, nestes animais.

Referências bibliográficas

ABDULHADI, M.H.; HALL, P.M.; STREEM, S.B. Hypocitraturia and its role in renal stone disease. **Cleve Clin J Med**, v. 55, p. 242-245, 1988.

CASTRO, P.F.; MATERA, J.M. Ureterolitíases obstrutivas em cães: avaliação da função renal na indicação da ureterotomia ou ureteronefrectomia. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.8, p. 38-47, 2005.

CASTRO, M.C.N.; MARCELLO, G.C.G; ALENCAR, N.X.; FERREIRA, A.M.R. Urinary protein/creatinine ratio measurement in cats with chronic renal failure. **Pesq Vet Bras**, v.29, p. 605-609, 2009.

DEL ANGEL-CARAZA, J.; DIEZ-PRIETO I.; PÉREZ-GARCÍA, C.C.; GARCIA-RODRÍGUEZ, M.B. Composition of lower urinary tract stones in canines in Mexico City. **Urol Res**, v.38, p. 201-204, 2010.

DEL VALLE; E.E.; SPIVACOW, F.R.; NEGRI, A.L. Citrate and renal lithiase. **Medicina (B Aires)**, v.73, p. 363-368, 2013.

EL-NAHAS, A.R.; EL-ASSMY, A.M.; MADBOULY, K.; SHEIR, K.Z. Predictors of clinical significance of residual fragments after extracorporeal shockwave lithotripsy for renal stones. **J Endourol**, v.20, p. 870-874, 2006.

FURROW, E.; PATTERSON, E.E.; ARMSTRONG, P.J.; OSBORNE, C.A.; LULICH, J.P. Fasting urinary calcium-to-creatinine and oxalate-to-creatinine ratios in dogs with calcium oxalate urolithiasis and breed- matched controls. **J Vet Intern Med**, v. 29, p. 113-119, 2015.

GRAUER, G.F. Canine urolithiasis. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Small animal internal medicine**. St Louis: Mosby; 2003. p 631-641

HOUSTON, D.M.; MOORE, A.E.P.; FAVRIN, M.G.; HOFF, B. Canine urolithiasis: a look at over 16,000 urolith submissions to the Canadian Veterinary Urolith Centre from February 1998 to April 2003. **Can Vet J**, v.45, p. 225- 230, 2004.

HOUSTON, D.M.; ANDREW, E.P.; MOORE, A.E.P. Canine and feline urolithiasis: Examination of over 50,000 urolith submissions to the Canadian Veterinary Urolith Centre from 1998 to 2008. **Can Vet J**, v.50, p. 1263-1268, 2009.

INKELMANN, M.A.; KOMMERS, G.D.; TROST, M.E.; BARROS, C.S.L.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; SILVEIRA, I. Urolithiasis in 76 dogs. **Pesq Vet Bras**, v.32, p. 247-253, 2012

KANG, D.E.; MALONEY, M.M.; HALEBLIAN, G.E.; SPRINGHART, W.P.; HONEYCUTT, E.F.; EISENSTEIN, E.L. Effect of medical management on recurrent stone formation following percutaneous nephrolithotomy. **J Urol**, v.177, p. 1785-1789, 2007.

MATTLE, D.; HESS, B. Preventive treatment of nephrolithiasis with alkali citrate--a critical review. **Urol Res**, v.33, p. 73-79, 2005.

OGAWA, Y.; YONOU, H.; HOKAMA, S.; ODA, M.; MOROZUMI, M.; SUGAYA, K. Urinary saturation and risk factors for calcium oxalate stone disease based on spot and 24-hour urine specimens. **Frontiers in Bioscience**, v.8, p. 167-176, 2003.

OSBORNE, C.A.; LULICH, J.P.; KRUGER, J.M.; ULRICH, L.K.; KOEHLER, L.A. Analysis of 451,891 canine uroliths, feline uroliths, and feline urethral plugs from 1981 to 2007: Perspectives from the Minnesota Urolith Center. **Vet Clin Small Anim**, v.39, p.183-197, 2008.

OYAFUSO, M. K.; KOGIKA, M. M.; PROSSER, C. S.; CAVALCANTE, C. Z.; WIRTHL, V. A. B. F. Urolitíase em cães: avaliação quantitativa da composição mineral de 156 urólitos. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2009

PAK, C.Y.C. Citrate and renal calculi. **Miner Electrolyte Metab**, v.13, p. 257-266, 1987.

PAK, C.Y.C. Citrate and renal calculi: an update. **Miner Electrolyte Metab**, v.20, p. 371-377, 1994.

PENIDO, M.G.M.G.; DINIZ, J.S.S.; GUIMARÃES, M.M.M.; CARDOSO, R.B.; OLIVEIRA SOUTO, M.F.; PENIDO, M.G. Urinary excretion of calcium, uric acid and citrate in healthy children and adolescents. **J Pediatr (Rio J)**, v.78, p. 153-160, 2002.

PICAVET, P.; DETILLEUX J.; VERSCHUREN, S.; SPARKES, A.; LULICH, J.; OSBORNE, C.; ISTASSE, L; DIEZ, M. Analysis of 4,495 canine and feline uroliths in the Benelux: A retrospective study, 1994–2004. **J Anim Physiol Anim Nutr**, v.91, p. 247-251, 2007.

ROBINSON, M.R.; NORRIS, R.D.; SUR, R.L.; PREMINGER, G.L. Urolithiasis: not just a 2-legged animal disease. **J Urol**, v.179, p. 46-52, 2008.

ROGERS, K.D.; JONES, B.; ROBERTS, L.; RICH, M.; MONTALTO, N.; BECKETT, S. Composition of uroliths in small domestic animals in the United Kingdom. **Vet J**, v.188, p. 228-230, 2011.

SILVA FILHO, E.F.; PRADO, T.D.; RIBEIRO, R.G.; FORTES, R.M. Urolitíase canina. **Enciclopédia Biosfera, Centro Cultural Conhecer**, v.9, p. 2517-2536, 2013.

SOSNAR M.; BULKOVA, T.; RUZICKA, M. Epidemiology of canine urolithiasis in the Czech Republic from 1997 to 2002. **J Small Anim Pract**, v.46, p. 177-184, 2005.

SOYGUR, T.; AKBAY, A.; KUPELI, S. Effect of potassium citrate therapy on stone recurrence and residual fragments after shockwave lithotripsy in lower caliceal calcium oxalate urolithiasis: a randomized controlled trial. **J Endourol**, v.16, p. 149-152, 2002.

STAMATELOU, K.K.; FRANCIS, M.E.; JONES C.A.; NYBERG, L.M.; CURHAN, G.C. Time trends in reported prevalence of kidney stones in the USA: 1976-1994. **Kidney Int**, v.63, p. 1817–1823, 2003.

STEVENSON, A.E.; ROBERTSON, W.G.; MARKWELL, P. Risk factor analysis and relative supersaturation as tools for identifying calcium oxalate stone-forming dogs. **J Small Anim Pract**, v.44, p. 491-496, 2003.

STEVENSON, A.E.; BLACKBURN, J.M.; MARKWELL, P.J.; ROBERTSON, W.G. Nutrient intake and urine composition in calcium oxalate stone-forming dogs: comparison with healthy dogs and impact of dietary modification. **Vet Ther**, v.5, p. 218-231, 2004.

TRINCHIERI, A.; MANDRESSI, A.; LUONGO, P.; ROVERA, F.; LONGO, G. Urinary excretion of citrate, glycosammonoglycans, magnesium and zinc in relation to age and sex in normal subjects and in patients who form calcium stones. **Scand J Urol Nephrol**, v.26, p. 379-386, 1992.

YANG, C.W.; ZEN, J.M.; KAO, Y.L.; HSU, C.T.; CHUNG, T.C.; CHANG, C.C.; CHOU, C.C. Multiple screening of urolithic organic acids with copper nanoparticle-plated electrode: Potential assessment of urolithic risks. **Analytical Biochemistry**, v.395, p. 224-230, 2009.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A relação citrato/creatinina em amostra de urina isolada ainda não é considerada uma ferramenta de grande valor no auxílio diagnóstico em conjunto com outros parâmetros metabólicos em cães litiásicos e recidivantes. Esse parâmetro pode ser eficaz no diagnóstico de hipocitratúria, auxiliando desta maneira no tratamento, suplementação e acompanhamento desses animais.

Optar por amostras de urina isoladas, ao invés da amostra colhida em 24 horas, pode acarretar em menor ônus aos proprietários, bem como minimizar as dificuldades técnicas da coleta desse material pelo período de 24 horas.

Um valor de referência “cut-off” único para relação citrato/creatinina em amostra de urina isolada, independente do gênero ou idade do animal, torna-se um importante aliado no auxílio diagnóstico em cães com urólitos de cálcio, visto que o mesmo teve sua incidência aumentada, nos últimos anos, buscando desta maneira complementar o diagnóstico e posterior tratamento de casos urolitíase por sais de cálcio.

A fim de expandir os conhecimentos a respeito do importante papel do quociente citrato/creatinina na calculose renal recidivante, novos estudos poderão ser realizados avaliando o potencial desse parâmetro nos cães já diagnosticados com urolitíase por oxalato de cálcio.

5 REFERÊNCIAS

ABDULHADI, M.H.; HALL, P.M.; STREEM, S.B. Hypocitratúria and its role in renal stone disease. **Cleve Clin J Med**, v. 55, p. 242-245, 1988.

BRENNAN, T.S.; KLAHR, S.; HAMM, L.L. Citrate transport in rabbit nephron. **Am J Physiol**. v. 251, p. 683-689, 1986.

CASTRO, P.F.; MATERA, J.M. Ureterolitíases obstrutivas em cães: avaliação da função renal na indicação da ureterotomia ou ureteronefrectomia. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.8, p. 38-47, 2005.

CASTRO, M.C.N.; MARCELLO, G.C.G; ALENCAR, N.X.; FERREIRA, A.M.R. Urinary protein/creatinine ratio measurement in cats with chronic renal failure. **Pesq Vet Bras**, v.29, p. 605-609, 2009.

DEL ANGEL-CARAZA, J.; DIEZ-PRIETO I.; PÉREZ-GARCÍA, C.C.; GARCIA-RODRÍGUEZ, M.B. Composition of lower urinary tract stones in canines in Mexico City. **Urol Res**, v.38, p. 201-204, 2010.

DEL VALLE; E.E.; SPIVACOW, F.R.; NEGRI, A.L. Citrate and renal lithiase. **Medicina (B Aires)**, v.73, p. 363-368, 2013.

EL-NAHAS, A.R.; EL-ASSMY, A.M.; MADBOULY, K.; SHEIR, K.Z. Predictors of clinical significance of residual fragments after extracorporeal shockwave lithotripsy for renal stones. **J Endourol**, v.20, p. 870-874, 2006.

FORRESTER, S.D., LEES, G.E. Nefropatias e Ureteropatias. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Manual Saunders: Clínica de pequenos animais**. 1 ed. São Paulo: Roca, 1998. Seção 8, Cap. 1. p. 918-919.

FURROW, E.; PATTERSON, E.E.; ARMSTRONG, P.J.; OSBORNE, C.A.; LULICH, J.P. Fasting urinary calcium-to-creatinine and oxalate-to-creatinine ratios in dogs with calcium oxalate urolithiasis and breed- matched controls. **J Vet Intern Med**, v. 29, p. 113-119, 2015.

GRAUER, G.F. Urolitiasus Canina. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Small animal internal medicine**, Buenos Aires: Mosby, 2000. p. 687-698.

GRAUER, G.F. Canine urolithiasis. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Small animal internal medicine**. St Louis: Mosby; 2003. p 631-641

GRAUER, G. **Manifestações clínicas dos distúrbios urinários; Urolíase canina**. In: Nelson, A. W. & Couto, C. G. (eds.) **Medicina Interna de Pequenos Animais**. Elsevier Editora, Rio de Janeiro. 2015.

HAMM L. L. Renal handling of citrate. **Kidney International**. v. 38, n. 4, p. 728-735, 1990

HOUSTON, D.M.; MOORE, A.E.P.; FAVRIN, M.G.; HOFF, B. Canine urolithiasis: a look at over 16,000 urolith submissions to the Canadian Veterinary Urolith Centre from February 1998 to April 2003. **Can Vet J**, v.45, p. 225- 230, 2004.

HOUSTON, D.M.; ANDREW, E.P.; MOORE, A.E.P. Canine and feline urolithiasis: Examination of over 50,000 urolith submissions to the Canadian Veterinary Urolith Centre from 1998 to 2008. **Can Vet J**, v.50, p. 1263-1268, 2009.

INKELMANN, M.A.; KOMMERS, G.D.; TROST, M.E.; BARROS, C.S.L.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; SILVEIRA, I. Urolithiasis in 76 dogs. **Pesq Vet Bras**, v.32, p. 247-253, 2012.

KALAISELVI, P.; UDAYAPRIYA, K.L.; SELVAM, R. Uric acid-binding proteins in calcium oxalate stone formers and their effect on calcium oxalate crystallization. **BJU International**, v.83, p. 919-923, 1999.

KANG, D.E.; MALONEY, M.M.; HALEBLIAN, G.E.; SPRINGHART, W.P.; HONEYCUTT, E.F.; EISENSTEIN, E.L. Effect of medical management on recurrent stone formation following percutaneous nephrolithotomy. **J Urol**, v.177, p. 1785-1789, 2007.

LULICH, J. P; OSBORNE, C. A.; LEKCHAROENSUK, C.; ALLEN, T. A.; NAKAGAWA, Y. Canine calcium oxalate uroliths. Case-based applications of therapeutic principles. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 29, n. 1, p. 123-139, 1999.

LULICH, J. P; OSBORNE, C. A.; BARTGES, J. W.; LEKCHAROENSUK, C. Distúrbios do trato urinário inferior dos caninos. In. ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v. 2, p.1841-1877.

MATTLE, D.; HESS, B. Preventive treatment of nephrolithiasis with alkali citrate--a critical review. **Urol Res**, v.33, p. 73-79, 2005.

MEYER J. L.; SMITH L. H. Growth of calcium oxalate crystals. II. Inhibition by natural urinary crystal growth inhibitors. **Investigation Urology** n. 13, p. 36-39, 1975.

NICAR, M. J.; HILL K.; PAK C. Y. Inhibition by citrate of spontaneous precipitation of calcium oxalate in vitro. **Journal of Bone and Mineral Research** v. 2, p. 215-220, 1987.

OGAWA, Y.; YONOU, H.; HOKAMA, S.; ODA, M.; MOROZUMI, M.; SUGAYA, K. Urinary saturation and risk factors for calcium oxalate stone disease based on spot and 24-hour urine specimens. **Frontiers in Bioscience**, v.8, p. 167-176, 2003.

OSBORNE, C. A. Medical dissolution and prevention of canine uroliths. Seven steps from science to service. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 29, n. 1, p. 1-15, 1999.

OSBORNE, C.A.; LULICH, J.P.; KRUGER, J.M.; ULRICH, L.K.; KOEHLER, L.A. Analysis of 451,891 canine uroliths, feline uroliths, and feline urethral plugs from 1981 to 2007: Perspectives from the Minnesota Urolith Center. **Vet Clin Small Anim**, v.39, p.183-197, 2008.

OYAFUSO, M. K.; KOGIKA, M. M.; PROSSER, C. S.; CAVALCANTE, C. Z.; WIRTHL, V. A. B. F. Urolitíase em cães: avaliação quantitativa da composição mineral de 156 urólitos. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2009.

PAK, C.Y.C. Citrate and renal calculi. **Miner Electrolyte Metab**, v.13, p. 257-266, 1987.

PAK, C.Y.C. Citrate and renal calculi: an update. **Miner Electrolyte Metab**, v.20, p. 371–377, 1994.

PENIDO, M.G.M.G.; DINIZ, J.S.S.; GUIMARÃES, M.M.M.; CARDOSO, R.B.; OLIVEIRA SOUTO, M.F.; PENIDO, M.G. Urinary excretion of calcium, uric acid and citrate in healthy children and adolescents. **J Pediatr (Rio J)**, v.78, p. 153-160, 2002.

ROBINSON, M.R.; NORRIS, R.D.; SUR, R.L.; PREMINGER, G.L. Urolithiasis: not just a 2-legged animal disease. **J Urol**, v.179, p. 46-52, 2008.

ROGERS, K.D.; JONES, B.; ROBERTS, L.; RICH, M.; MONTALTO, N.; BECKETT, S. Composition of uroliths in small domestic animals in the United Kingdom. **Vet J**, v.188, p. 228-230, 2011.

SENIOR, D. F.; FINLAYSON, B. Initiation and growth of uroliths. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 16, n. 1, p. 19-26, 1986.

SILVA FILHO, E.F.; PRADO, T.D.; RIBEIRO, R.G.; FORTES, R.M. Urolitíase canina. **Enciclopédia Biosfera, Centro Cultural Conhecer**, v.9, p. 2517-2536, 2013.

SOSNAR M.; BULKOVA, T.; RUZICKA, M. Epidemiology of canine urolithiasis in the Czech Republic from 1997 to 2002. **J Small Anim Pract**, v.46, p. 177-184, 2005.

SOYGUR, T.; AKBAY, A.; KUPELI, S. Effect of potassium citrate therapy on stone recurrence and residual fragments after shockwave lithotripsy in lower caliceal calcium oxalate urolithiasis: a randomized controlled trial. **J Endourol**, v.16, p. 149-152, 2002.

STAMATELOU, K.K.; FRANCIS, M.E.; JONES C.A.; NYBERG, L.M.; CURHAN, G.C. Time trends in reported prevalence of kidney stones in the USA: 1976-1994. **Kidney Int**, v.63, p. 1817–1823, 2003.

STEVENSON, A.E.; ROBERTSON, W.G.; MARKWELL, P. Risk factor analysis and relative supersaturation as tools for identifying calcium oxalate stone-forming dogs. **J Small Anim Pract**, v.44, p. 491-496, 2003.

STEVENSON, A.E.; BLACKBURN, J.M.; MARKWELL, P.J.; ROBERTSON, W.G. Nutrient intake and urine composition in calcium oxalate stone-forming dogs: comparison with healthy dogs and impact of dietary modification. **Vet Ther**, v.5, p. 218-231, 2004.

SIMPSON, D.P. Citrate excretion: A window on renal metabolism. **Am J Physiol**. v. 244, p. 223-234, 1983.

TRINCHIERI, A.; MANDRESSI, A.; LUONGO, P.; ROVERA, F.; LONGO, G. Urinary excretion of citrate, glycosaminoglycans, magnesium and zinc in relation to age and sex in normal subjects and in patients who form calcium stones. **Scand J Urol Nephrol**, v.26, p. 379-386, 1992.

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e
adaptado pela CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia.

B177i Baldissera, Dímitry Macedonio Fracaro
Intervalo de referência ?cut-off? da relação
citrato/creatinina em amostras de urina isolada de
cães hígidos. / Dímitry Macedonio Fracaro Baldissera;
orientadora Soraya Regina Sacco Surian; coorientadora
Teane Milagres Augusto Gomes. -- Concórdia, 2020.
26 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal
Catarinense, campus Concórdia, Programa de Pós-graduação
em Produção e Sanidade Animal, Concórdia, 2020.

Inclui referências.

1. Hipocitratúria. 2. Inibidores da cristalização.
3. Ácido cítrico. 4. Urolitíase. 5. Urinálise. I.
Surian, Soraya Regina Sacco, II. Gomes, Teane
Milagres Augusto. III. Instituto Federal Catarinense.
Programa de Pós-graduação em Produção e Sanidade Animal.
IV. Título.