



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Artigo de revisão

CISTATINA B URINÁRIA – UM NOVO BIOMARCADOR DE LESÃO RENAL

Hélène Jeanne Yvonne Le Cavorzin

Coimbra, julho 2025



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária
Artigo de revisão

CISTATINA B URINÁRIA – UM NOVO BIOMARCADOR DE LESÃO RENAL

Coimbra, julho 2025

Hélène Jeanne Yvonne Le Cavorzin

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Professora Doutora Anabela
Maduro de Almeida Francisco

Arguente: Professora Doutora Maria Carolina Rocha
de Medeiros Bento

Orientador: Professora Doutora Ana Catarina Pais
dos Santos Figueira

Trabalho realizado sob a orientação da Professora

Doutora Ana Catarina Figueira



Dissertação do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da
Escola Universitária Vasco da Gama



“Il n’y a qu’une façon d’échouer, c’est
d’abandonner avant d’avoir réussi”

Georges Clemenceau



AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à Escola Universitária Vasco da Gama e a todos os professores e funcionários por me terem permitido realizar o meu sonho de criança de ser médica veterinária. Estes cinco anos em Portugal permitiram-me evoluir pessoal e profissionalmente, aprendendo uma nova língua e uma nova cultura, descobrindo um novo país e, acima de tudo, aprendendo as bases da minha futura profissão.

Durante este último ano, estava ansiosa por descobrir as práticas médico-veterinárias nouro continente e por melhorar o meu inglês profissional. O programa Erasmus disponibilizado pela EUVG proporcionou um verdadeiro apoio financeiro para este projeto. Tive a oportunidade de fazer o meu estágio final numa clínica privada em Montréal, no Canadá.

Gostaria também de agradecer à minha orientadora de estágio curricular, Prof Dra. Ana Catarina Figueira, pelas suas correções e paciência, no apoio ao desenvolvimento e redação da minha tese final.

Um grande agradecimento à Dra. Marie-Chantal Halwagi por me ter acolhido na sua clínica durante o meu estágio final. A sua paciência, amabilidade e abordagem pedagógica com os seus pacientes, a sua equipa e comigo foram um verdadeiro modelo na minha formação prática. Este ano foi mais do que enriquecedor na minha formação e foi um verdadeiro prazer partilhar a vida quotidiana da clínica durante este estágio. Gostaria também de agradecer a toda a equipa do *Vet Club* por me terem feito parte do vosso dia e por tudo o que me ensinaram sobre prática, teoria e relações com os clientes.

Por último, gostaria de agradecer a todas as pessoas que me são próximas: família e amigos, pelo apoio constante em todos os meus projetos e sem os quais não estaria aqui hoje. Obrigado por estarem presentes e por fazerem de mim a pessoa que sou hoje.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS	VII
LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	VIII
1. INTRODUÇÃO	4
2. A DOENÇA RENAL NOS ANIMAIS DE COMPANHIA	6
2.1. A LESÃO RENAL AGUDA E A DOENÇA RENAL CRONICA	6
2.2. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	8
2.3. FISIOPATOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO DA LESÃO RENAL AGUDA	8
2.4. APRESENTAÇÃO CLÍNICA DAS DOENÇAS RENAIAS	10
2.5. MONITORIZAÇÃO DA DOENÇA RENAL	11
2.6. PROGNÓSTICO DA DOENÇA RENAL	12
3. PAPEL DOS BIOMARCADORES NA AVALIAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DAS LESÕES RENAIAS	13
4. CISTATINA B	14
4.1. PROPRIEDADES E PAPEL FISIOLÓGICO NOS ANIMAIS DE COMPANHIA	14
4.2. UM BIOMARCADOR DE LESÕES RENAIAS	15
4.3. ALTERAÇÕES NOS NIVEIS DE CISTATINA B DURANTE A LESÃO RENAL: INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS	16
4.4. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE RELATIVAMENTE AOS BIOMARCADORES TRADICIONAIS	16
4.5. A CISTATINA B NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DE LESÃO RENAL AGUDA	18
5. IMPLEMENTAÇÃO DA AVALIAÇÃO DA CISTATINA B URINÁRIA NO AMBITO DA PRÁTICA CLÍNICA	20
5.1. MATERIAL E MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DA CISTATINA B URINÁRIA	20
5.2. ANIMAIS CANDIDATOS À MEDIÇÃO DA CISTATINA B URINÁRIA	21
5.3. PAPEL NA INTERVENÇÃO TERAPÉUTICA DA LESÃO RENAL AGUDA	22

5.4.	PAPEL NA AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO TRATAMENTO E DA PROGRESSÃO DA DOENÇA RENAL	22
5.5.	OUTRAS APLICAÇÕES POSSÍVEIS DA CISTATINA B URINÁRIA	23
6.	LIMITAÇÕES E DESAFIOS	24
7.	PERSPETIVAS FUTURAS DE NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL	25
8.	CONCLUSÃO	29
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30



ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Sistema de classificação para a LRA	9
---	---



LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AINE: Anti-Inflamatório Não Esteroide

BUN: Azoto ureico sanguíneo (*Blood Urea Nitrogen*)

CysB: Cistatina B (*Cystatin B*)

CysC: Cistatina C (*Cystatin C*)

DU: Densidade Urinária

DRA: Doença Renal Aguda

DRCA: Doença Renal Crónica Aguda

DRC: Doença Renal Crónica

FGR: Filtração Glomerular Renal

IL-6: InterLeucina-6

IRIS: Sociedade Internacional de Interesse Renal (*International Renal Interest Society*)

LRA: Lesão Renal Aguda

NGAL: Lipocalina Associada à Gelatinase de Neutrófilos (*Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*)

sCr: Creatinina sérica (*serum Creatinine*)

SDMA: Dimetilarginina simétrica (*Symmetric DiMethylArginine*)

uCLust: Clusterina urinária (*urinary Clusterin*)

uCysB: Cistatina B urinária (*urinary Cystatin B*)

uIL-6: InterLeucina-6 urinária

Cistatina B urinária - um novo biomarcador de lesão renal

Hélène Le Cavorzin^a, Ana Catarina Figueira^{b,c}

^a Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (aluno.1900417@euvg.pt)

^b Centro de Investigação Vasco da Gama (CIVG), Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (ana.figueira@euvg.pt)

^c OneVetGroup Hospital Veterinário Universitário de Coimbra (HVUC), Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal

RESUMO

A lesão renal aguda (LRA) continua a ser uma das principais causas de morbidade e mortalidade em animais de companhia. A deteção precoce da lesão renal na fase subclínica permitiria aos médicos veterinários intervir o mais rapidamente possível, a fim de preservar a saúde renal dos pacientes e evitar danos irreversíveis ou o desenvolvimento de doença renal crónica (DRC). Os parâmetros bioquímicos atuais, nomeadamente a creatinina sérica, a di-metilarginina simétrica e a densidade urinária, não permitem identificar a lesão renal subclínica. Além disso, o sistema de classificação da LRA proposto pela Sociedade Internacional de Interesse Renal baseia-se nos níveis de creatinina sérica, mas estudos demonstraram que não é muito sensível.

O novo biomarcador Cistatina B urinária (uCysB) é uma proteína intracelular libertada na urina quando os túbulos renais são danificados. A uCysB é, portanto, um marcador de lesão renal, sem ser necessariamente acompanhada por uma perda da função renal.

É um parâmetro que demonstrou ter uma sensibilidade e especificidade próximas de 90% nas espécies caninas e felinas domésticas para o diagnóstico de LRA. Vários estudos destacaram múltiplas aplicações da uCysB, nomeadamente o diagnóstico precoce de lesões renais, bem como preditivo de prognóstico e monitorização do tratamento da DRC.

A uCysB é o único marcador disponível na prática clínica em medicina veterinária como ferramenta de diagnóstico de lesões renais. No entanto, continuam a decorrer estudos para implementar outros marcadores de lesão.

PALAVRAS-CHAVE: Animais de companhia, Biomarcador, Cistatina B urinária, Diagnóstico precoce, Lesão renal aguda, Prognóstico

ABSTRACT

Acute kidney injury (AKI) in domestic canine and feline species is still a major cause of morbidity and mortality. Early detection of subclinical kidney damage would enable veterinarians to intervene as quickly as possible to preserve patients' renal health and avoid irreversible damage or the development of chronic kidney disease (CKD) in the future. Current biochemical parameters - namely serum creatinine, symmetric di-methylarginine and urine density - do not allow subclinical kidney damage to be identified. In addition, the AKI classification system proposed by the International Renal Interest Society is currently based on the serum creatinine level but studies have shown that it is not very sensitive.

The new biomarker urinary Cystatin B (uCysB) developed in this review article is an intracellular protein released in urine when renal tubules are damaged. As such, uCysB is a marker of renal injury and is not necessarily accompanied by a loss of renal function.

This parameter has been shown to have a sensitivity and specificity of around 90% in domestic canine and feline species for the diagnosis of AKI. Various studies have highlighted the possible applications of uCysB: from diagnosing kidney damage to predicting prognosis and monitoring treatment of CKD.

uCysB is the only marker available in clinical veterinary practice as a diagnostic tool for kidney injury. However, studies are ongoing to implement other markers of lesion.

KEY WORDS: Acute kidney injury, Biomarker, Companion animals, Early diagnosis, Prognosis, Urinary Cystatin B

1. INTRODUÇÃO

Os rins desempenham um papel fundamental na manutenção da homeostasia do organismo (Lunn, 2011). As suas funções essenciais incluem a filtração do sangue, a regulação do volume extracelular, a excreção de metabolitos e toxinas como o azoto ureico sanguíneo (BUN), a creatinina sérica (sCr) e o ácido úrico, a regulação de eletrólitos e minerais, a produção de hormonas como a eritropoietina e a renina, a conversão da vitamina D na sua forma ativa: 1,25-dihidroxitamina D e a gliconeogénese (Gounden *et al.*, 2024).

A unidade funcional e estrutural do rim é o nefrónio (Lunn, 2011). Os cães e gatos têm cerca de 500.000 e 200.000 nefrónios por rim respetivamente, número este que diminui com o tempo e/ou com a progressão da doença renal (Evans *et al.*, 2012; Osborne *et al.*, 1995). Cada nefrónio é constituído por um corpúsculo renal que inclui o glomérulo e a cápsula glomerular (anteriormente cápsula de Bowman) e um tubo do nefrónio constituído por um túbulo contornado proximal, uma ansa de nefrónio (anteriormente ansa de Henle), com uma parte descendente e ascendente, e um túbulo contornado distal. Os nefrónios continuam através dos tubos coletores, que se conectam à pélvis renal (Barone, 2020).

Considerando o papel vital desempenhado pelos rins no organismo e a sua unidade funcional esgotável, é dever, enquanto médicos veterinários, monitorizar de forma rigorosa a saúde renal dos pacientes, a fim de lhes garantir a melhor qualidade de vida possível (Ostermeier, 2023).

A lesão renal aguda (LRA) apesar de, na sua maioria, ser reversível, está frequentemente associada a uma elevada mortalidade nas espécies felina e canina domésticas, o que pode ser consequência de um reconhecimento tardio pelos testes de diagnóstico tradicionais (Palm *et al.*, 2016). O diagnóstico precoce da LRA é, por conseguinte, de extrema importância, uma vez que pode facilitar a intervenção terapêutica atempada em lesões que são geralmente reversíveis (Chen *et al.*, 2024).

Nos últimos anos, foram realizados numerosos estudos para desenvolver novos biomarcadores de lesões renais e, assim, detetar precocemente os pacientes que sofrem desta condição. O diagnóstico de LRA é um processo difícil pois os sinais clínicos e as alterações dos resultados laboratoriais relativos à função renal, como os da dimetilarginina simétrica (SDMA) e da sCr, aparecem geralmente apenas numa fase mais tardia, quando os rins já sofreram danos significativos. Um melhor prognóstico poderia

ser alcançado se a lesão renal pudesse ser identificada durante fases precoces, daí a importância de novos marcadores de lesão renal (Ross, 2022), como a cistatina B urinária (uCysB), com destaque nesta revisão bibliográfica.



2. A DOENÇA RENAL NOS ANIMAIS DE COMPANHIA

2.1. A LESÃO RENAL AGUDA E A DOENÇA RENAL CRONICA

A lesão renal aguda (LRA) representa um processo contínuo de lesão renal, desde a perda ligeira e subclínica de nefrónios até à insuficiência renal aguda grave (antigamente denominada de doença renal aguda (DRA)) (Cowgill, 2016). As LRA afetam cães e gatos de forma semelhante aos humanos, podendo estar associadas a uma ou mais etiologias e variar em termos de gravidade.

A LRA pode ter origem numa causa pré-renal (hemodinâmica), renal (doença renal intrínseca) ou pós-renal (nefropatia obstrutiva ou rutura do sistema coletor de urina) (Ross, 2022).

As causas pré-renais de lesão tubular referem-se a condições que afetam o fluxo sanguíneo a jusante do rim. Podem incluir por exemplo insuficiência cardíaca congestiva, hipovolemia, hipotensão, sepsis, doença da artéria renal e síndrome de disfunção de múltiplos órgãos (Lunn, 2011).

Exemplos de causas renais incluem a exposição a substâncias tóxicas, como anti-inflamatório não esteróide (AINE), gentamicina, vitamina D (principalmente em roenticidas ou em medicamentos contendo vitamina D), etilenoglicol, uvas (Stokes *et al.*, 2004) ou certas plantas tóxicas (ex. lírios em felinos) (Monaghan *et al.*, 2012) e infeções como Babesiose, Borreliose ou Leptospirose (Stokes *et al.*, 2004).

Por fim, a presença de cálculos no trato urinário inferior (ureteres, bexiga, uretra), hipertrofia da próstata, hérnia perineal, neoplasia que bloqueia a passagem da urina, rutura da bexiga ou laceração dos ureteres ou da uretra são todos exemplos de causas de danos renais com origem pós-renal (Monaghan *et al.*, 2012).

As causas de LRA mais frequentemente documentadas na literatura são: declínio hemodinâmico, infecciosas, exposição a agentes nefrotóxicos e obstrução do trato urinário inferior (Legatti *et al.*, 2018).

A DRC é definida como uma lesão funcional e/ou estrutural persistente de um ou de ambos os rins durante um período superior a três meses (Syme *et al.*, 2024). A principal etiologia é um ou mais episódios de lesões nos rins, que resultam em danos estruturais ou funcionais no parênquima renal, que não são reparados de forma adequada e conduzem a uma disfunção renal (Cowgill *et al.*, 2016).

Em medicina humana, a LRA é definida como um declínio abrupto da função renal que ocorre em menos de sete dias. Diferencia-se da DRA, que é definida entre sete e 90 dias, e da DRC que ocorre após 90 dias (Chawla *et al.*, 2017).

Em medicina veterinária, e de acordo com o sistema de classificação atual, a LRA diferencia da DRC em dois aspetos: o tempo e a reversibilidade. Quando os rins estão afetados durante menos de três meses e que se mantém o potencial de recuperação e de retorno da função renal denomina-se LRA (Cowgill, 2016). Durante este período, é possível observar uma diminuição súbita e grave da função renal resultando numa queda abrupta da taxa de filtração glomerular renal (FGR), numa alteração da diurese e da função tubular, com ou sem azotemia (Le Sueur, 2023). Por outro lado, a DRC caracteriza-se por um período superior a três meses com progressão lenta (Syme *et al.*, 2024), por uma perda da função renal irreversível e, conseqüentemente, azotemia, que corresponde a um aumento dos resíduos azotados, principalmente da sCr e do BUN (Cowgill *et al.*, 2016).

Importa ainda referir que a LRA pode levar à DRC e que também existem casos de LRA em doentes com DRC, uma condição conhecida como Doença Renal Crónica Aguda (DRCA) (Segev *et al.*, 2024).

A doença renal nos animais de companhia era, historicamente, dividida em duas entidades distintas: DRC e LRA. Estas duas condições continuam a ter dois sistemas de classificação próprios propostos pela Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS). No entanto e apesar dos dois sistemas de classificação distintos, recentemente, foi demonstrado a interligação entre a DRC e a LRA. De facto, a DRC é um fator de risco conhecido para o desenvolvimento de LRA e a LRA é cada vez mais reconhecida como um fator de risco para o desenvolvimento ou a progressão de DRC (Cowgill *et al.*, 2016). No caso dos doentes com DRC, quando estão sujeitos a uma infeção não detetada, quando sofrem flutuações da pressão arterial que conduzem a hipo ou hipertensão ou quando são expostos a medicamentos nefrotóxicos, podem ocorrer lesões renais e agravar esta deficiência, progredindo para uma fase mais avançada da doença (Segev *et al.*, 2023). Outros fatores de risco documentados incluem a idade, a hipertensão, a proteinúria, os agentes infecciosos, as doenças endócrinas, a predisposição racial e as doenças cardíacas (Cowgill *et al.*, 2016). As fases iniciais da doença renal são frequentemente detetadas durante avaliações específicas de animais em risco ou em exames de rotina (Yerramilli *et al.*, 2016).

2.2. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Estima-se que mais de 1 em cada 3 gatos (Lulich *et al.*, 1992) e mais de 1 em cada 10 cães (Brown, 2018) sofrerão de doença renal durante a sua vida. A DRC é considerada uma doença de animais idosos, embora possa ocorrer em qualquer idade. A incidência estimada de DRC na população geral de cães e gatos domésticos é de 0,5% a 3,74% (Syme *et al.*, 2024).

Dos gatos com DRC, 53% têm mais de 7 anos de idade (Bartges, 2012). Um estudo epidemiológico de doença renal publicado por Chaitanya *et al* em 2020 mostrou que, de 318 cães afetados, 18,24% sofriam de LRA e 81,76% de DRC. Além disso, a ocorrência de LRA foi maior em cães com idades entre 4 e 8 anos, enquanto a DRC foi mais elevada em cães com mais de 8 anos (Chaitanya *et al.*, 2020).

2.3. FISIOPATOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO DA LESÃO RENAL AGUDA

A LRA pode ser dividida em quatro fases. A primeira ou fase de iniciação, corresponde ao período que se segue à lesão renal. A segunda é a fase de extensão, durante a qual advém uma progressão da lesão renal com a continuação da isquémia, da hipóxia, da inflamação e da lesão celular. É de realçar que as anomalias clínicas e laboratoriais podem não ser evidentes durante estas duas primeiras fases. A terceira fase ou fase de manutenção, corresponde ao aparecimento de sinais clínicos (vómitos, diarreia, oligúria, anorexia, letargia) e é normalmente caracterizada por azotemia, uremia ou ambas (Monaghan *et al.*, 2012). Esta fase pode demorar dias ou semanas e, no decurso desse período, pode ocorrer uma alteração da diurese com oligúria (<0,5 ml de urina por quilograma de peso corporal por hora) ou anúria (ausência de produção de urina). Finalmente, a quarta fase ou fase de recuperação consiste na regeneração das células tubulares, no regresso a FGR normalizada e na melhoria da azotemia. A função renal pode voltar ao normal ou o animal pode ficar com uma disfunção renal residual. Dependendo da gravidade da LRA, pode ocorrer fibrose, levando ao desenvolvimento ou progressão de DRC (Ross, 2022).

Para determinar com mais exatidão o grau de severidade da lesão renal, a IRIS recomenda um sistema de classificação para a LRA em cães e gatos. Este sistema baseia-se na concentração de sCr e inclui cinco graus (Cowgil, 2016), como demonstrado na tabela 1.

Tabela 1: Sistema de classificação para a LRA (adaptado de Sigrist *et al.*, 2017)

Grau da LRA	Descrição da LRA	Nível de creatinina sérica	Alteração da creatinina	História, exame físico
0	Sem LRA	<140 µmol/L (<1,6 mg/dL)	<26,4 µmol/L (<0,3 mg/dL)	Sem sinais clínicos, laboratoriais ou de diagnóstico por imagem de LRA
1	LRA não azotémica	<140 µmol/L (<1,6 mg/dL)	>26,4 µmol/L (>0,3 mg/dL) aumento em 48 horas	Qualquer sinal clínico, laboratorial ou de diagnóstico por imagem de LRA, oligúria, ou anúria >6 horas
2	LRA ligeira	141-220 µmol/L (1,7-2,5 mg/dL)		LRA documentada, azotemia estática ou progressiva, oligúria, ou anúria >6 horas
3		221-439 µmol/L (2,6-5,0 mg/dL)	>26,4 µmol/L (>0,3 mg/dL) no prazo de 48 horas	
4	LRA moderada a grave	440-880 µmol/L (5,1-10,0 mg/dL)		LRA documentada
5		>880 µmol/L (>10 mg/dL)		

LRA, lesão renal aguda

2.4. APRESENTAÇÃO CLÍNICA DAS DOENÇAS RENAIIS

A diferenciação entre um animal que sofre de LRA ou de DRC pode ser difícil, mas é fundamental. Ao contrário da DRC, a LRA pode ser reversível, razão pela qual é necessário um diagnóstico precoce para uma recuperação total ou parcial da função renal (Segev *et al.*, 2024).

Os critérios de diferenciação clínica da fase de manutenção de LRA (correspondente a antiga denominação DRA) e da DRC, são considerados específicos, mas não sensíveis (ou seja, são úteis se estiverem presentes, mas não se estiverem ausentes) (DiBartola *et al.*, 2020).

Animais com DRC geralmente apresentam dimensão renal reduzida, sinais de poliúria/polidipsia, anemia não regenerativa, perda de peso e mau estado do pelo e/ou baixa condição corporal. Outro indicador é a aparência ecográfica das glândulas paratireoides que podem apresentar-se aumentadas (DiBartola *et al.*, 2020).

Em geral, admite-se que cerca de 3/4 dos rins devam estar incapacitados para que os sinais clínicos de DRC se manifestem (Syme *et al.*, 2024).

A cronicidade da DRC pode ser estabelecida a partir da duração da doença com base na história clínica, no exame físico do sistema urinário, nas alterações dos resultados laboratoriais ou nas alterações estruturais renais. A ocorrência de sinais clínicos, tais como os acima referidos durante aproximadamente três meses ou mais, constitui uma prova substancial de cronicidade (Syme *et al.*, 2024).

A DRC é um processo longo que leva a mecanismos de compensação. Estes mesmos mecanismos estão ausentes em doentes com DRA, razão pela qual as anomalias clínico-patológicas são frequentemente mais graves do que as observadas em doentes com DRC (DiBartola *et al.*, 2020). Os sinais clínicos da LRA avançada são inespecíficos, súbitos e na maior parte reversíveis (Hébert, 2006). Incluem anorexia, letargia, vômitos, diarreia e fraqueza. Estes sinais são de aparecimento recente (menos de uma semana) e não deve existir um histórico prévio de poliúria ou polidipsia prolongada (Syme *et al.*, 2024). Num estudo realizado em cães com LRA, aproximadamente 18% apresentavam anúria, 43% oligúria, 25% débito urinário normal e 14% poliúria (DiBartola *et al.*, 2020). Além disso, é possível no exame físico de alguns pacientes observar dor ao nível abdominal cranial, aumento do volume dos rins, taquicardia ou bradicardia (Syme *et al.*, 2024).

2.5. MONITORIZAÇÃO DA DOENÇA RENAL

A classificação da doença renal baseia-se nos marcadores de função renal: sCr e SDMA para a DRC e sCr para a LRA (Yerramilli *et al.*, 2016). Para além da sCr e da SDMA, na prática clínica, a monitorização da saúde renal dos pacientes assenta ainda na densidade urinária (DU) e na proteinúria, avaliada pelo rácio proteína: creatinina urinária (DiBartola *et al.*, 2020) assim como pela ecografia renal que ajuda a diagnosticar um estadio precoce de doença renal (Syme *et al.*, 2024).

Um animal diagnosticado com LRA deve ser monitorizado para otimizar os seus parâmetros hemodinâmicos, monitorizar complicações urémicas comuns e avaliar a sua resposta ao tratamento. Os parâmetros a monitorizar incluem a hidratação (avaliado indiretamente pela elasticidade da pele, perda de peso recente, presença de mucosa seca ou enoftalmia) e a pressão arterial (avaliada por métodos oscilométricos ou método Doppler). Um eletrocardiograma contínuo é também importante durante um episódio de LRA porque pode detetar modificação na onda T (alta e pontiaguda) com bradiarritmia, dois parâmetros indicativos de hipercalemia (Syme *et al.*, 2024). Finalmente, a análise de gases no sangue venoso é útil para determinar o estado ácido-base e a monitorização do fluxo e da composição da urina são outros parâmetros fundamentais para a monitorização durante este tratamento (Syme *et al.*, 2024).

Relativamente à DRC, são recomendadas avaliações a cada duas a quatro semanas no início do tratamento. No entanto, a frequência destas avaliações pode variar em função da gravidade da disfunção renal, das complicações presentes, dos tratamentos efetuados e da resposta aos mesmos (Syme *et al.*, 2024). A IRIS apresenta recomendações específicas para o controlo da DRC em função do seu estágio (Cowgill, 2016).

2.6. PROGNÓSTICO DA DOENÇA RENAL

Em média, um gato/cão em cada dois com LRA morrem. Dos sobreviventes, metade desenvolve DRC e a outra metade recupera uma função renal normal (definida por valores normais de sCr) (Syme *et al.*, 2024; DiBartola *et al.*, 2020). Fatores de mau prognóstico nos casos de LRA incluem oligúria, aumento inicial grave da sCr, o grau de hipercalemia e a etiologia (Syme *et al.*, 2024). De facto, num estudo realizada por Worwag *et al.*, 2008, a taxa de sobrevivência para gatos com LRA devido a causas nefrotóxicas foi de 50%, em comparação com 75% para gatos com causas isquémicas. Além disso, as LRA de origem obstrutiva, infecciosa e metabólica/hemodinâmica apresentam melhores taxas de sobrevivência do que as LRA de origem nefrotóxicas tanto para cães como para gatos (Syme *et al.*, 2024).

A DRC é considerada a segunda causa principal de morte em gatos (Bartges, 2012). Os fatores a ter em conta para estabelecer um prognóstico fiável para os animais de companhia com DRC são múltiplos e incluem: a etiologia primária, a gravidade e a duração dos sinais clínicos e das complicações da uremia, a probabilidade de melhoria da função renal, a gravidade da insuficiência funcional renal intrínseca, a taxa de progressão da disfunção renal com ou sem tratamento e a idade (Syme *et al.*, 2024). Os fatores indicativos de mau prognóstico incluem anemia grave intratável, incapacidade de manter o equilíbrio de fluidos e azotemia progressiva, apesar da fluidoterapia e do tratamento médico conservador (DiBartola *et al.*, 2020).

3. PAPEL DOS BIOMARCADORES NA AVALIAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DAS LESÕES RENAIS

Indicadores como a sCr, o SDMA e a densidade urinária (DU) podem ser utilizados para quantificar a perda de função renal. No entanto, os valores de sCr no sangue, em caso de lesão renal irreversível, só aumentam de forma persistente após perda de 75% dos nefrónios (Halfon, 2024). Além disso, fatores como a massa muscular, o peso corporal, o grau de hidratação, a idade e a medicação do paciente podem contribuir para variações nos valores de sCr (Yerramilli *et al.*, 2016). O parâmetro SDMA permite detetar a perda de função renal numa fase mais precoce. Dependendo dos estudos há indicação de aumento do SDMA quando há 40% de perda na unidade funcional do rim (Hall *et al.*, 2014), sendo que outros referem mesmo um aumento quando ocorreu uma perda de função renal igual a 20% (Nabity *et al.*, 2015). Além disso, o SDMA não está sujeito a variações de massa muscular (Gordin *et al.*, 2024), da idade ou do peso corporal (Nabity *et al.*, 2015). Por último, a medição da DU, ou seja, a capacidade dos rins para concentrar a urina, só é afetada quando há perda de 67% da função renal (DiBartola *et al.*, 2020).

Dadas as limitações da sCr na determinação de lesão renal precoce e a constante evolução da LRA no tempo, este sistema de classificação deve ser interpretado em função do quadro clínico do animal e não apenas com base nos valores da sCr (Cowgil, 2016). Além disso, devido à grande reserva renal, os marcadores como SDMA e sCr não detetam lesões renais subclínicas, razão pela qual estes biomarcadores tradicionais são frequentemente ineficientes para detetar lesões renais precoces (Le Sueur, 2023).

Desta forma, revela-se importante a introdução de biomarcadores de diagnóstico, como a uCysB, capazes de identificar a presença de LRA, antes ou na ausência de alterações nos biomarcadores convencionais da função renal (Le Sueur, 2023).

4. CISTATINA B

O novo biomarcador uCysB apresenta-se de grande interesse clínico na deteção precoce de lesões tubulares renais (Ostermeier, 2023). A determinação do valor de uCysB em amostras de urina foi proposta por um laboratório internacional e foi validada recentemente para as espécies caninas e felinas domésticas (Yankowicz, 2023).

4.1. PROPRIEDADES E PAPEL FISIOLÓGICO NOS ANIMAIS DE COMPANHIA

A CysB é um membro da família das cistatinas inibidoras da cisteína protease. Todas as cistatinas partilham um alto grau de homologia de sequência e uma estrutura terciária comum, constituída por uma hélice alfa e folhas beta antiparalelas. A CysB é um membro da subfamília 1 das cistatinas, apresenta características de uma proteína intracelular de baixo peso molecular (cerca de 11 kDa), não glicosilada e presente na maior parte das células dos mamíferos (Yerramilli *et al.*, 2016). A CysB é amplamente expressa em diferentes tecidos e tipos de células no organismo, mas tem diferentes níveis de expressão consoante a localização (Singh *et al.*, 2024).

A CysB é um inibidor das enzimas tiol-proteases intracelulares. A proteína inibe as catepsinas L, H e B, assim como a papaína. É considerada um elemento-chave na regulação da proteostase celular, ao proteger contra as proteases que escapam dos lisossomas, nomeadamente as catepsinas, e sugere-se que também tem uma função similar à da chaperona (Singh *et al.*, 2024).

4.2. UM BIOMARCADOR DE LESÕES RENAIIS

Em indivíduos saudáveis a proteína CysB não circula livremente em concentrações elevadas, pelo que um aumento do seu valor no soro ou na urina é clinicamente significativo (Yerramilli *et al.*, 2016).

Estudos *in vitro* revelaram que a uCysB tem origem apenas em células renais lesionadas e não em células intactas (Gordin *et al.*, 2024). A CysB é libertada na urina quando o epitélio tubular renal é danificado (Chen *et al.*, 2024; Ostermeier, 2023) pelo que a sua medição na urina ajuda a determinar se ocorreu lesão renal, sendo particularmente útil no caso de lesão renal subclínica antes de haver alteração dos marcadores da função renal (Gordin *et al.*, 2021). De facto, as alterações dos resultados das análises bioquímicas relacionadas com a função renal, nomeadamente o SDMA e a sCr, aparecem geralmente tardiamente, durante a última fase da LRA e quando os rins já sofreram danos significativos (Ross, 2022). Por esse motivo, um aumento da uCysB pode ou não ser acompanhado de um aumento dos valores da função renal (BUN, sCr e SDMA) (Yankowicz, 2023).

Este marcador de lesão renal é específico da lesão tubular renal e não está dependente de variações na FGR (Gordin *et al.*, 2021).

4.3. ALTERAÇÕES NOS NÍVEIS DE CISTATINA B DURANTE A LESÃO RENAL: INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O valor limiar *cutoff* para a CysB na urina é de 100 ng/mL. Abaixo deste valor, não é sugerida lesão tubular renal no momento da colheita de urina. Pelo contrário, um valor de uCysB > 100 ng/mL é fortemente indicativo de lesão tubular aguda no momento da análise, sendo necessários outros testes de diagnóstico para identificar a etiologia da lesão tubular renal (Halfon, 2024).

O aumento do valor de uCysB pode ou não ser acompanhado de um aumento dos valores de SDMA e sCr. Quando não se registam alterações nestes dois últimos parâmetros, mas existe um aumento da CysB, significa que existe uma LRA precoce (IRIS LRA grau 1 ou 2). A intervenção nesta fase inicial pode constituir uma oportunidade para curar uma lesão renal potencialmente irreversível. Pelo contrário, quando o aumento da uCysB é acompanhado por uma alteração dos valores de SDMA e de sCr e por uma DU alterada, é fortemente sugestivo de um comprometimento da função renal (redução da FGR), para além de uma lesão tubular renal, o que seria favorável a uma LRA mais severa (IRIS LRA grau 3-5 provável) (IDEXX Reference Laboratories, Inc, 2024).

4.4. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE RELATIVAMENTE AOS BIOMARCADORES TRADICIONAIS

Num estudo comparativo de SDMA e sCr na avaliação da DRC foi realçado o facto de o SDMA sérico ter maior sensibilidade (100%) em comparação com a sCr (17%), mas menor especificidade (91% vs 100%) e menor valor preditivo positivo (86% vs 100%) (Hall *et al.*, 2014).

Na classificação IRIS, na fase mais precoce da DRC, os marcadores funcionais são frequentemente insensíveis para detetar a progressão da doença/novas lesões devido à sua relação não linear com a FGR e ao intervalo de referência relativamente amplo, tanto para a creatinina como para SDMA. Além disso, tendo em conta a baixa sensibilidade da sCr, poderiam ser considerados outros marcadores para identificar mais precocemente uma progressão na DRC ou uma lesão renal em curso (Segev *et al.*, 2023).

Um estudo prospetivo realizado na urina de cães e gatos divididos em quatro grupos (LRA, DRC, controlos, infeção do trato urinário/obstrução uretral) revelou valores significativamente elevados de uCysB em doentes com LRA e DRC em comparação com os outros dois grupos. Os resultados revelaram uma sensibilidade de 89% e uma especificidade de 100% para o parâmetro uCysB como marcador preditivo do desenvolvimento de LRA em cães. Além disso, o mesmo estudo demonstrou uma correlação negativa entre a taxa de sobrevivência de cães com LRA e o grau de elevação dos valores de uCysB. Assim, neste estudo, a uCysB teve uma sensibilidade de 78% e uma especificidade de 67% como fator preditivo de prognóstico da LRA (Chen *et al.*, 2020).

Em felinos domésticos, foi realizado um estudo prospetivo com objetivo de avaliar a utilidade diagnóstica e prognóstica do biomarcador uCysB. O estudo envolveu gatos saudáveis (grupo controlo), gatos com obstrução uretral, gatos com DRC e gatos com LRA. Ficou determinado que o diagnóstico de LRA com base na medição da uCysB teve uma sensibilidade de 76% e uma especificidade de 71%, correspondendo a um valor de “cut-off” de 180 ng/mL, quando incluíam todos os gatos do estudo: doentes e saudáveis. Ao incluir apenas o grupo de controlo e o grupo de gatos com LRA nesta mesma análise, a sensibilidade e especificidade do teste foram de 90% e 92%, respetivamente, correspondendo a um valor de “cut-off” de 84 ng/mL.

Por fim, como fator preditivo de prognóstico de LRA, incluindo toda a população do estudo o teste mostrou uma sensibilidade e especificidade de 71% com um valor de “cut-off” de 1023 ng/mL. Excluindo os gatos com DRCA do grupo de LRA, foi possível evidenciar uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 75% para o parâmetro uCysB com um “cut-off” de 469 ng/mL (Chen *et al.*, 2024).

De acordo com estes dois estudos prospetivos, a uCysB é um marcador mais sensível do que o SDMA e a sCr para a deteção da LRA. Além disso, é um marcador relativamente específico para a determinação do desenvolvimento de LRA (diagnóstico) e a avaliação do prognóstico dos cães e gatos que sofrem desta condição (Chen *et al.*, 2024; Chen *et al.*, 2020).

4.5. A CISTATINA B NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DE LESÃO RENAL AGUDA

Após a realização de um estudo por inquérito que revelou que um terço dos casos de doenças renais observados pelos médicos veterinários estavam relacionados com lesões renais, foi identificada a necessidade da existência de novos testes de diagnóstico para a deteção da LRA (Yankowicz, 2023). Por este motivo, antes da introdução no mercado do teste de diagnóstico que mede a concentração da CysB na urina, foram efetuados vários estudos que demonstraram a utilidade e a eficácia da uCysB como um novo biomarcador para a LRA (Chen *et al.*, 2024; Gordin *et al.*, 2024; Gordin *et al.*, 2021; Harjen *et al.*, 2022; Le Sueur *et al.*, 2023).

Assim, foi realizado um estudo longitudinal prospetivo que envolveu 18 cães com LRA confirmada e 10 cães controlos saudáveis, que demonstrou que a uCysB era significativamente mais elevada em cães com LRA do que em animais saudáveis. Além disso, o nível de elevação da uCysB correlacionou-se com a gravidade da LRA. Este estudo revelou também que, para além do seu papel na deteção de LRA, a uCysB poderia ter um valor prognóstico, uma vez que os níveis iniciais de uCysB eram significativamente superiores em doentes com LRA que morreram durante o período de *follow-up* de um mês em comparação com cães que sobreviveram a este período (Gordin *et al.*, 2024).

Num outro estudo retrospectivo que incluiu 25 cães envenenados pela cobra europeia *Vipera berus* e 13 controlos saudáveis, foi demonstrado que os valores de uCysB dos pacientes com envenenamento eram mais elevados do que os dos pacientes saudáveis. Por outro lado, o aumento dos valores de uCysB não foi acompanhado por um aumento dos valores dos marcadores tradicionais da função glomerular renal (sCr e SDMA), realçando mais uma vez o potencial deste novo biomarcador para a deteção precoce da LRA (Gordin *et al.*, 2021).

Harjen *et al.*, 2022 realizaram um estudo retrospectivo semelhante, que incluiu 34 cães saudáveis e 36 cães mordidos pela cobra europeia. Os resultados revelaram um aumento dos valores de uCysB nos cães que tinham sido mordidos, em comparação com os cães controlo saudáveis, nas primeiras quatro medições das cinco que constituíram o estudo (T1 - na apresentação, T2 - 12 horas mais tarde, T3 - 24 horas mais tarde, T4 - 36 horas mais tarde e T5 - 14 dias mais tarde), indicando potenciais lesões tubulares renais.

Cães com erliquiose aguda (uma doença transmitida por vetores causada pela bactéria intracelular obrigatória *Ehrlichia canis*) estudados retrospectivamente, revelaram um aumento dos valores de uCysB nos doentes sintomáticos. O mesmo estudo revelou também uma diminuição dos valores de uCysB quando a doença foi clinicamente resolvida pelo tratamento com antibiótico. Estes resultados foram observados na ausência de um aumento dos biomarcadores funcionais sCr e SDMA, o que apoia o potencial deste novo marcador de lesão para detetar danos renais subclínicos (Le Sueur *et al.*, 2023).

Em 2024 num estudo prospetivo realizado na espécie felina, foi demonstrado que os valores de uCysB eram mais elevados nos grupos de LRA do que em todos os outros grupos incluindo gatos saudáveis (grupo controlo), gatos com obstrução uretral e gatos com DRC. Foi também demonstrada a eficácia deste biomarcador na deteção de fases iniciais da LRA, uma vez que os valores de uCysB estavam acima do nível de limiar para gatos com LRA de grau 1 (Chen *et al.*, 2024).



5. IMPLEMENTAÇÃO DA AVALIAÇÃO DA CISTATINA B URINÁRIA NO AMBITO DA PRÁTICA CLÍNICA

5.1. MATERIAL E MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DA CISTATINA B URINÁRIA

O teste uCysB foi validado para amostras de urina de cães e gatos domésticos. Para realizar este teste, as amostras de urina devem ser colhidas num contentor estéril e sem aditivos. A urina pode ser colhida por cistocentese, cateterização ou micção espontânea (de preferência a meio do jato de urina). Antes da análise, a urina deve ser conservada refrigerada, não sendo recomendada a sua congelação (IDEXX Reference Laboratories, Inc, 2024).

O teste uCysB mede a concentração da CysB na urina através da tecnologia de aglutinação. A técnica envolve a utilização de partículas revestidas com anticorpos monoclonais contra a CysB canina recombinante com uma solução de reagente. Quando a CysB está presente na amostra, as partículas revestidas aglutinam-se e a alteração resultante na opacidade da solução é convertida num valor numérico, que é então expressa em ng/mL. O teste da uCysB encontra-se validado para valores entre 50 e 500 ng/mL (Chen *et al.*, 2024).

5.2. ANIMAIS CANDIDATOS À MEDIÇÃO DA CISTATINA B URINÁRIA

A medição da uCysB destina-se a pacientes com suspeita de danos renais ou com sinais de doença e não como teste de rastreio (Halfon, 2024). A lesão renal pode ocorrer por vários motivos tal como anteriormente descritos, razão pela qual a uCysB deveria ser monitorizada em todos os doentes apresentados em contexto de urgência (American Animal Hospital Association, 2023).

Os animais candidatos à realização do teste uCysB incluem aqueles com doenças infecciosas como a leishmaniose, a doença de Lyme ou a leptospirose (Stokes *et al.*, 2004), os envenenados pela cobra europeia, cujo veneno é reconhecido ser nefrotóxico (Harjen *et al.*, 2022), os animais que ingeriram substâncias tóxicas, como determinados produtos de uso doméstico, algumas toxinas presentes no lixo doméstico ou medicamentos como o ibuprofeno ou a gentamicina (Gordin *et al.*, 2024).

Cães com Dirofilariose provocada por *Dirofilaria immitis* propensos a lesões cardiovasculares, à formação de complexos antigénio-anticorpo ou ao desenvolvimento de embolias são igualmente bons candidatos a este teste. Também os animais com traumatismos severos, como uma queda ou um acidente rodoviário, com uma redução da perfusão sistémica, são predispostos a lesões renais secundárias, pelo que é importante controlar uma possível LRA (American Animal Hospital Association, 2023).

Cães com aumento dos valores dos parâmetros renais ou já diagnosticados com DRC, são elegíveis à determinação dos valores de uCysB, no âmbito de monitorizar a recuperação ou a progressão da doença (Segev *et al.*, 2023). Os animais com diabetes ou hipertiroidismo que são predispostos a doença renal concomitante e os doentes com alterações da pressão arterial sistémica, quer sejam crónicos ou agudos, também correm o risco de sofrer lesões renais, pelo podem ser alvo de medição da uCysB para determinação precoce de LRA. Por último, aqueles que sofrem de desnutrição ou desidratação secundária (Ostermeier, 2023) ou com obstrução urinária, também são candidatos à realização desta análise (Chen *et al.*, 2024).

Por último, o teste de Cistatina B urinária seria também útil para avaliar potenciais lesões renais durante a administração de medicamentos com potencial nefrotóxico a doentes de alto risco de LRA ou após uma anestesia prolongada. Este teste também é de interesse para monitorizar a recuperação

de um doente com LRA conhecida ou para monitorizar a progressão da DRC, particularmente nas fases iniciais (American Animal Hospital Association, 2023).

5.3. PAPEL NA INTERVENÇÃO TERAPÊUTICA DA LESÃO RENAL AGUDA

Através da análise da uCysB, os médicos veterinários podem detetar lesões renais em pacientes de risco numa fase inicial, antes do início de qualquer perda de função renal, permitindo-lhes intervir numa fase precoce do desenvolvimento da doença renal (Ostermeier, 2023). Assim, esta abordagem poderá incluir a reposição de fluidos, a interrupção e/ou exclusão de medicamentos nefrotóxicos (tal como os AINE's), o apoio nutricional, a correção da disúria (anúria ou oligúria), o controlo dos sinais como náuseas e vômitos e a correção dos desequilíbrios eletrolíticos e de ácido-base (Lunn, 2011). No entanto, apesar dos avanços no diagnóstico precoce, na classificação da LRA, no tratamento e da maior disponibilidade de terapias de reposição renal, a taxa global de mortalidade continua elevada nos casos de LRA. De facto, a mortalidade encontra-se entre 45% e 60% nos cães com LRA com terapêutica médica ou submetidos a hemodiálise (Rimer *et al.*, 2022).

5.4. PAPEL NA AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO TRATAMENTO E DA PROGRESSÃO DA DOENÇA RENAL

Um estudo de proteómica em novos biomarcadores urinários na doença renal em cães com leishmaniose, que incluiu a uCysB, tinha como objetivo de determinar qual dos marcadores poderia monitorizar a resposta ao tratamento nestes animais (González *et al.*, 2023). O biomarcador uCysB revelou ser de interesse na monitorização da progressão da DRC em cães. De facto, cães saudáveis ou com DRC estável apresentavam valores baixos para a uCysB, enquanto cães com DRC avançada apresentavam valores mais elevados para a uCysB (Segev *et al.*, 2023). No entanto, sabe-se que essa elevação pode ser a causa duma doença sistémica concomitante o que pode ser uma limitação (Segev *et al.*, 2023).

Um estudo longitudinal prospetivo realizado entre 2016 e 2021, para avaliar a concentração de uCysB em 20 cães com DRC de estadio 1 e 52 cães controlo, demonstrou que os cães com DRC de estadio 1

progressiva, ou seja, com lesões renais continuadas, apresentavam valores médios de uCysB cerca de nove vezes superiores aos dos cães com DRC estável e cerca de 12,5 vezes superiores aos dos animais saudáveis, revelando que a uCysB seria um marcador precoce da progressão da doença renal (Segev *et al.*, 2023). De forma semelhante, Gordin *et al.*, 2024 demonstraram que a uCysB estava presente em quantidades mais baixas em cães com DRC precoce e controlada, enquanto a uCysB era mais elevada em cães com DRC não controlada ou em progressão, sugerindo danos renais contínuos em doentes com valores mais elevados de uCysB (Gordin *et al.*, 2024).

Os resultados sugerem que a implementação deste teste na prática clínica de rotina permitirá monitorizar a progressão dos doentes com DRC, fazer ajustes na terapêutica e detetar lesões renais em curso nestes pacientes numa fase mais precoce. Este teste constituirá uma oportunidade para os médicos veterinários ajudarem a atrasar a progressão da doença renal (Yerramilli *et al.*, 2016).

5.5. OUTRAS APLICAÇÕES POSSÍVEIS DA CISTATINA B URINÁRIA

Vários estudos em medicina humana destacaram a utilidade da CysB no diagnóstico e na progressão de certos tumores (Arbel *et al.*, 2003; Ebert *et al.*, 1997; Feldman *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2008; Smid *et al.*, 1997). Um estudo realizado em carcinoma de células de transição/carcinoma de células uroteliais em humanos demonstrou a utilidade da uCysB como preditivo de recidiva e de progressão da doença. De facto, o valor da CysB encontrava-se elevado nos tecidos e na urina destes doentes e positivamente correlacionado com o grau e o estadió tumoral avançado, bem como com menor tempo de recidiva e com a progressão da doença (Feldman *et al.*, 2009).

Outros estudos demonstraram igualmente que os níveis séricos da proteína CysB em humanos correlacionavam-se positivamente com a presença e o estadió de tumores do pulmão (Ebert *et al.*, 1997), da laringe (Smid *et al.*, 1997), do ovário (Arbel *et al.*, 2003) e hepatocelular (Lee *et al.*, 2008)-

Estes resultados em medicina humana sugerem uma potencial perspetiva futura em medicina veterinária, o que exigirá mais estudos a fim de determinar o potencial da CysB em condições clínicas similares nos animais de companhia.

6. LIMITAÇÕES E DESAFIOS

Uma vez que a uCysB é uma proteína intracelular de carácter ubíquo e que está presente em numerosas outras células do corpo, não se pode excluir a possibilidade de influências extra-tubulares nas concentrações detetadas de uCysB. De facto, a CysB é uma molécula de peso molecular muito baixo (11 kDa) e pode ser livremente filtrada através do glomérulo, sendo possível que, em alguns doentes, a CysB provenha de outros órgãos com lesão. Tal pode ser o caso de pacientes caninos com doenças concomitantes que induzam inflamação (Segev *et al.*, 2023). No entanto, sabe-se que as concentrações circulantes da CysB são muito baixas em indivíduos saudáveis, mas a fim de minimizar a probabilidade de a uCysB ter origem em lesões celulares extrarrenais foram excluídos do estudo prospetivo de Segev *et al.*, 2023 os indivíduos com DRC e doenças inflamatórias ou sistémicas concomitantes o que não permite conhecer a influencia da CysB extra renal.

Outra limitação prende-se com o facto de este biomarcador só recentemente se ter tornado disponível como teste de diagnóstico de LRA, havendo ainda uma experiência limitada quanto ao seu uso (Halfon, 2024). Embora aprovado, este biomarcador não foi objeto de muitos estudos em cães e gatos, para além dos retrospectivos, e os que existem incluem apenas um pequeno número de indivíduos (Gordin *et al.*, 2024; Chen *et al.*, 2024). Assim, são necessários estudos prospetivos mais amplos para fundamentar o seu uso e aprovação pela comunidade de especialistas médico-veterinários (Halfon, 2024).

Existem ainda alguns fatores que necessitam de ser determinados, nomeadamente a influência da idade. Nos pacientes caninos incluídos no estudo de Segev *et al.*, 2023 o impacto da idade na medição da uCysB não foi avaliado, uma vez que existiam diferenças na idade entre cães com DRC estável (doentes mais jovens) e DRC progressiva (doentes mais velhos). Da mesma forma no estudo de Chen *et al.*, 2024, os gatos controlos eram mais novos do que os gatos com DRC. Assim, a idade é um fator que pode potencialmente ter um efeito independente na concentração de uCysB por isso, em estudos futuros, deverão ser considerados grupos faixas etárias equivalentes (Chen *et al.*, 2024; Segev *et al.*, 2023).

Por último, o impacto do armazenamento prolongado com recurso à congelação (-80°C) pode também ser uma limitação, uma vez que não é o método recomendado (IDEXX Reference Laboratories, Inc, 2024). A estabilidade a longo prazo da uCysB na urina de gatos durante a congelação não foi

estabelecida, pelo que não é possível excluir alterações na uCysB ao longo do tempo de armazenamento (Chen *et al.*, 2024). No futuro, seria interessante respeitar as condições ideais de análise (tempo e método) para não arriscar influenciar os resultados.

7. PERSPETIVAS FUTURAS DE NOVOS BIOMARCADORES DE LESÃO RENAL

Atualmente, em medicina veterinária, apenas a uCysB está disponível como ferramenta de diagnóstico de lesões renais. No entanto, continuam a decorrer estudos para implementar outros marcadores de lesão renal num futuro próximo (The IRIS board, 2023). Os marcadores de lesão renal atualmente sob investigação incluem: clusterina urinária (uClust), inosina sérica, lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL), molécula de lesão renal-1 (KIM-1), interleucina 6 (IL-6) e outras proteínas (por exemplo, proteína de ligação ao retinol (RBP)) (Segev *et al.*, 2024).

A clusterina é uma glicoproteína ligada ao di-sulfureto que tem propriedades protetoras, anti-apoptóticas e anti-fibróticas (Jung *et al.*, 2012). É expressa numa ampla diversidade de tecidos incluindo o tecido renal e está envolvida em muitos processos fisiológicos (Yerramilli *et al.*, 2016), como a proteção das células quando estas são agredidas, a reciclagem de lípidos, a agregação e a fixação celular (Gordin *et al.*, 2024). Diversos estudos determinaram que o teste da clusterina específico de rim é um marcador sensível e específico de LRA em animais de companhia. A uClust tem a maioria das características de um biomarcador de lesão ou doença renal, uma vez que é excretada na urina a níveis baixos ou indetetáveis em rins saudáveis (Yerramilli *et al.*, 2016) e os seus níveis aumentam significativamente em resposta a lesões renais nos túbulos proximais e distais (Gordin *et al.*, 2024). Verificou-se também que os níveis de uClust diminuem em resposta à cura da lesão renal, o que permitiria monitorizar a evolução/progressão da doença renal aguda. Por último, estudos demonstraram que a uClust é um marcador mais precoce e mais sensível de LRA do que a sCr (Yerramilli *et al.*, 2016). O diagnóstico precoce de LRA e o papel na monitorização da doença do biomarcador uClust é uma característica partilhada com a uCysB (Gordin *et al.*, 2024).

A inosina sérica é produzida pela conversão da adenosina durante a hipoxia celular. Num estudo de exposição a nefrotoxinas (gentamicina e bicromato) em modelos caninos de LRA, foi demonstrado que as concentrações de inosina no soro e no plasma diminuem rapidamente e significativamente após

cada exposição a nefrotoxinas. Os resultados sugerem que a inosina não só é um dos biomarcadores mais sensíveis à lesão, como também monitoriza a cicatrização da lesão através da restauração das concentrações circulantes normais (Yerramilli *et al.*, 2016). Foi efetuada uma observação semelhante num estudo prospetivo de cães submetidos a cirurgia cardíaca, em que após um decréscimo inicial, os níveis de inosina regressaram gradualmente aos níveis pré-operatórios, refletindo provavelmente a cessação da exposição a um evento de LRA (Sarybrat *et al.*, 2022). Estes dois estudos apoiam o potencial da inosina sérica como biomarcador da LRA e da recuperação do insulto renal (Sarybrat *et al.*, 2022; Yerramilli *et al.*, 2016).

Foi avaliado de forma semelhante o desempenho diagnóstico da inosina sérica, da uClust e da uCysB num modelo de LRA induzida por gentamicina em cães. Neste modelo, cada um destes novos biomarcadores demonstrou uma resposta ou alteração significativa no prazo de 72 a 120 horas após a indução de toxicidade, demonstrando uma lesão ativa precoce e contínua. Cada marcador detetou a LRA sete a dez dias antes de qualquer alteração identificável na sCr ou no SDMA (Cowgill *et al.*, 2016; Yerramilli *et al.*, 2016).

A NGAL é uma proteína de 25 kDa que pertence à superfamília das lipocalinas (Segev *et al.*, 2013). Esta proteína, secretada pelos neutrófilos e pelas células epiteliais tubulares lesadas (Natarajan *et al.*, 2024), encontra-se em muitos tecidos, como a pele, certas mucosas, o tecido adiposo e as células tubulares proximais e distais. Os valores de NGAL aumentam em resposta ao stresse provocado por uma infeção ou uma inflamação (Segev *et al.*, 2013) e durante processos neoplásicos (Yerramilli *et al.*, 2016). Em cães, vários estudos demonstraram que a concentração de NGAL aumenta mais cedo do que a sCr na LRA e pode, por conseguinte, ser considerada um marcador precoce da LRA (Yerramilli *et al.*, 2016). A NGAL revelou ser um marcador sensível e específico de formas azotémicas e não azotémicas de LRA em cães (Segev *et al.*, 2013). Num estudo prospetivo em cães com LRA induzida por gentamicina, a NGAL demonstrou ter potencial para ser um marcador precoce da LRA e da recuperação do paciente (Palm *et al.*, 2016). No entanto, tendo em conta a sua estreita correlação com outros marcadores e o facto de ser influenciada por outras condições patológicas, como a DRC ou a neoplasia, seriam necessários mais estudos que abrangessem doentes com patologias concomitantes para apoiar a validade deste marcador na deteção precoce da LRA (Segev *et al.*, 2013).

A KIM-1 é uma glicoproteína transmembranar expressa pelas células tubulares proximais que se encontra sobre regulada nas fases iniciais da lesão tubular renal. Esta molécula revelou potencial na

deteção da LRA em cães com leptospirose que ainda não apresentavam azotemia, com uma sensibilidade de 88% e uma especificidade de 100%, ou seja, surge como um possível marcador na monitorização futura de animais com leptospirose (Dias *et al.*, 2021). Num modelo canino de LRA induzido por gentamicina, foi também demonstrada a utilidade diagnóstica do KIM-1 na deteção precoce da LRA. A elevação deste biomarcador e da NGAL foi mais precoce do que a da sCr, mostrando a capacidade destes biomarcadores séricos na deteção precoce da LRA (Zheng *et al.*, 2019).

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória envolvida em muitos processos biológicos, incluindo a LRA. Em situações de lesão renal, o aumento das citocinas, a diminuição da absorção pelos túbulos proximais e o aumento da produção renal de IL-6 conduzem a um aumento da concentração de IL-6 urinária (uIL-6) (Chen *et al.*, 2022). Pensa-se que a IL-6 esteja envolvida na progressão da insuficiência renal aguda nos seres humanos, bem como no desenvolvimento de fibrose renal em cães (Nivy *et al.*, 2021). Um estudo revelou a uIL-6 como um potencial marcador de diagnóstico sensível e específico para a LRA em cães, com uma sensibilidade e especificidade de 71% e 78%, respetivamente (Chen *et al.*, 2022).

Por último, a RBP é uma proteína de baixo peso molecular (21 Kda), sintetizada no fígado, que é livremente filtrada pelo glomérulo renal e reabsorvida pelos túbulos proximais em condições fisiológicas. A sua deteção na urina indica a presença de danos tubulares e tem sido descrita em várias doenças renais e LRA, revelando-se um marcador precoce de lesão tubular quando os valores de sCr e BUN não se encontram elevados (Van den Berg *et al.*, 2018).

Antes da introdução do teste uCysB, tinha sido estudado outro membro desta família, a Cistatina C (CysC). Esta é uma proteína de baixo peso molecular (13 Kda), sintetizada por todas as células nucleadas, é filtrada livremente pelo glomérulo renal sendo reabsorvida e metabolizada pelos túbulos renais proximais (Gounden *et al.*, 2024). A CysC é produzida a uma taxa constante em todos os tecidos e a sua excreção não depende de fatores como a idade, o sexo ou a dieta. Como resultado, a medição da concentração sérica de CysC pode ajudar na determinação da FGR (DiBartola *et al.*, 2020). De facto, os níveis séricos de CysC estão inversamente correlacionados com a FGR (Gounden *et al.*, 2024). Estudos demonstraram a sua utilidade no diagnóstico precoce da DRC em humanos e cães. No entanto, não deve ser recomendada para o diagnóstico de DRC em gatos devido as limitações técnicas possivelmente causadas por falta de especificidade dos anticorpos anti-CysC humana usados (Martin *et al.*, 2002). Além disso, a concentração de CysC pode ser afetada pela presença de tumores e doenças tiroideias. Na prática clínica, a CysC não é medida em grande escala, por conseguinte, a *National Kidney*

Foundation e a American Society of Nephrology recomendam a utilização da equação baseada na creatinina em vez daquele baseada na CysC para estimar a FGR (Gounden *et al.*, 2024).

A uCysB trata-se de um novo teste disponível que proporciona novas perspetivas na avaliação global e monitorização da doença renal dos pacientes, bem como na sua deteção precoce. Este teste deve ser realizado juntamente com uma análise de urina completa, incluindo a DU e parâmetros de avaliação da função renal: SDMA e sCr, sendo importante realçar que o teste uCysB complementa, e não substitui, a avaliação renal geral com os marcadores da função renal (André, 2024).



8. CONCLUSÃO

A uCysB é um novo biomarcador promissor para a deteção da LRA, uma vez que é detetada na urina antes do aparecimento de alterações nos marcadores funcionais tradicionais, nomeadamente a sCr, o SDMA e a DU. Estudos demonstraram a sua sensibilidade e especificidade nas espécies canina e felina domésticas para o diagnóstico de LRA de qualquer grau. Foram igualmente demonstrado valor na monitorização de doentes com DRC e como valor preditivo de prognóstico dos pacientes com LRA.

Este novo parâmetro oferece uma nova abordagem para a determinação do tratamento precoce dos doentes com LRA e para o acompanhamento da resolução da lesão renal, ajudando assim a preservar, tanto quanto possível, a saúde dos pacientes.



9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Animal Hospital Association (2023) 'Renal health in veterinary medicine', pp. 8–11. Available at: <https://aaha.org/wp-content/uploads/globalassets/05-pet-health-resources/renal-health/idx-renal-health-evaluation-is-critical-trends-nov-2023.pdf> (Accessed: 23 November 2024).

André, S. (2024) *Nouveau test de diagnostic IDEXX pour les lésions rénales*, *Le Point Vétérinaire.fr*. LePointVétérinaire.fr. Available at: <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/la-semaine-veterinaire/article/n-2051/nouveau-test-de-diagnostic-idexx-pour-les-lesions-renaes.html> (Accessed: 22 May 2025).

Arbel, R., Rojansky, N., Klein, B.Y., Levitzki, R., Hartzstark, Z., Laufer, N. and Ben-Bassat, H. (2003) 'Inhibitors that target protein kinases for the treatment of ovarian carcinoma', *American journal of obstetrics and gynecology*, 188(5), pp. 1283–90. Available at: <https://doi.org/10.1067/mob.2003.298>.

Barone, R. (2020) *Anatomie comparée des mammifères domestiques - TOME 4, SPLANCHNOLOGIE II . 3E ÉDITION*, pp. 19–38.

Bartges, J.W. (2012) 'Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats', *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 42(4), pp. 669–692. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.04.008>.

Brown, S. (2018) MSD Manuals, Merckmanuals.com. Available at: www.merckmanuals.com/vet/urinary_system/noninfectious_diseases_of_the_urinary_system_in_small_animals (Accessed: 4 June 2025).

Chaitanya, Y., Srinu, M., Ravi Kumar, P., Lakshmi Rani, N. and Vaikunta Rao, V. (2020) *The Pharma Innovation Journal 2020; SP-9(12): Epidemiological studies of renal diseases in dogs*, pp. 6–7.

Chawla, L.S., Bellomo, R., Bihorac, A., Goldstein, S.L., Siew, E.D., Bagshaw, S.M., Bittleman, D., Cruz, D., Endre, Z., Fitzgerald, R.L., Forni, L., Kane-Gill, S.L., Hoste, E., Koyner, J., Liu, K.D., Macedo, E., Mehta, R., Murray, P., Nadim, M. and Ostermann, M. (2017) 'Acute kidney disease and renal recovery: consensus report of the Acute Disease Quality Initiative (ADQI) 16 Workgroup', *Nature Reviews Nephrology*, 13(4), pp. 241–257. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.2>.

Chen, H., Avital, Y., Mazaki-Tovi, M., Aroch, I. and Segev, G. (2022) 'Urinary interleukin-6 is a potentially useful diagnostic and prognostic marker of acute kidney injury in dogs', *Veterinary Record*, 191(8). Available at: <https://doi.org/10.1002/vetr.2079>.

Chen, H., Avital, Y., Peterson, S., Yerramilli, M., Segev, G. and Aroch, I. (2020) Evaluation of Cystatin B as a Marker of Acute Kidney Injury in Dogs and Cats, *Vin.com*. Available at: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pld=25810&id=9731685> (Accessed: 13 March 2025).

Chen, H., Yochai Avital, Peterson, S., Ouyang, Z., Murthy Yerramilli, Itamar Aroch and Gilad Segev (2024) 'Urinary Cystatin B as a marker of acute kidney injury in cats', *The Veterinary Journal*, 308, p. 106262. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2024.106262>.

Cowgill, L.D., Polzin, D.J., Elliott, J., Nabity, M.B., Segev, G., Grauer, G.F., Brown, S., Langston, C. and van Dongen, A.M. (2016) 'Is Progressive Chronic Kidney Disease a Slow Acute Kidney Injury?', *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 46(6), pp. 995–1013. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.06.001>.

Cowgill, L. (2016) *Grading of acute kidney injury*, *IRIS*. Available at: <https://www.iris-kidney.com/iris-guidelines-1> (Accessed: 20 March 2025).

Dias, C.S., Paz, L.N., Solcà, M.S., Portela, R.W.D., Bittencourt, M.V. and Pinna, M.H. (2021) 'Kidney Injury Molecule-1 in the detection of early kidney injury in dogs with leptospirosis', *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 76, p. 101637. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101637>.

DiBartola, S.P. and Westropp, J.L. (2020) 'PART FIVE *Urinary tract disorders*', *Small animal internal medicine*. 6th edn. Nelson, R.W. and Couto, C.G. St. Louis, Missouri: Elsevier, pp. 649–703.

Données de référence enregistrées à IDEXX Reference Laboratories, Inc., Westbrook, Maine, États-Unis. Available at: <https://www.idexx.fr/files/cystatin-b-algorithm-fr-fr.pdf> (Accessed: 03 April 2025).

Ebert, E., Werle, B., Jülke, B., Kopitar-Jerala, N., Kos, J., Lah, T., Abrahamson, M., Spiess, E. and Ebert, W. (1997) 'Expression of cysteine protease inhibitors stefin A, stefin B, and cystatin C in human lung tumor tissue', *Advances in experimental medicine and biology*, 421. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9613-1_34.



Evans, H.E. and de Lahunta, A. (2012) *Miller's Anatomy of the Dog*. 4th edn. Elsevier Health Sciences, pp. 361–405.

Feldman, A.S., Banyard, J., Wu, C.-L., McDougal, W.S. and Zetter, B.R. (2009) 'Cystatin B As a Tissue and Urinary Biomarker of Bladder Cancer Recurrence and Disease Progression', *Clinical Cancer Research*, 15(3). Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-08-1143>.

González, M.A., Barrera-Chacón, R., Peña, F.J., Belinchón-Lorenzo, S., Robles, N.R., Pérez-Merino, E.M., Martín-Cano, F.E. and Duque, F.J. (2023) 'Proteomic research on new urinary biomarkers of renal disease in canine leishmaniosis: Survival and monitoring response to treatment', *Research in Veterinary Science*, 161, pp. 180–190. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2023.06.016>.

Gordin, E., Gordin, D., Viitanen, S., Szlosek, D., Coyne, M., Farace, G., Murphy, R., Quinn, J., Yerramilli, M., Yerramilli, M. and Spillmann, T. (2021) 'Urinary clusterin and cystatin B as biomarkers of tubular injury in dogs following envenomation by the European adder', *Research in Veterinary Science*, 134, pp. 12–18. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.11.019>.

Gordin, E., Sanna Viitanen, Gordin, D., Szlosek, D., Peterson, S., Spillmann, T. and Mary Anna Labato (2024) 'A Clinical Study on Urinary Clusterin and Cystatin B in Dogs with Spontaneous Acute Kidney Injury', *Veterinary Sciences*, 11(5). Available at: <https://doi.org/10.3390/vetsci11050200>.

Gounden, V., Jialal, I. and Bhatt, H. (2024) 'Renal Function Tests', National Library of Medicine. StatPearls Publishing. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507821/> (Accessed: 2 December 2024).

Halfon, T. (2024) *Quelle place pour la cystatine B dans le parcours soin ? - La Semaine Vétérinaire n° 2058 du 29/11/2024, Le Point Vétérinaire.fr. LePointVétérinaire.fr. Available at: https://www.lepointveterinaire.fr/publications/la-semaine-veterinaire/article/n-2058/quelle-place-pour-la-cystatine-b-dans-le-parcours-soin.html (Accessed: 13 February 2025).*

Hall, J.A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M. and Jewell, D.E. (2014) 'Comparison of Serum Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine as Kidney Function Biomarkers in Cats with Chronic Kidney Disease', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(6), pp. 1676–1683. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.12445>.

Harjen, H.J., Anfinen, K.P., Hultman, J., Moldal, E.R., Szlosek, D., Murphy, R., Friis, H., Peterson, S. and Rørtveit, R. (2022). Evaluation 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*, [online] 46, p.100586. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tcam.2021.100586>.

Hébert, F. (2006) *Guide pratique de médecine interne canine et féline*. 2nd edn. Med'Com, pp. 239–240.

Jung, G.-S., Kim, M.-K., Jung, Y.-A., Kim, H.-S., Park, I.-S., Min, B.-H., Lee, K.-U., Kim, J.-G., Park, K.-G. and Lee, I.-K. (2012) 'Clusterin Attenuates the Development of Renal Fibrosis', *Journal of the American Society of Nephrology*, 23(1), pp. 73–85. Available at: <https://doi.org/10.1681/asn.2011010048>.

Le Sueur, A.N.V., de Souza, A.A.L., Paes, A.C., Takahira, R.K., Melchert, A., Okamoto, A.S., Coyne, M., Murphy, R., Szlosek, D., Peterson, S. and Guimarães-Okamoto, P.T.C. (2023) 'Novel renal injury markers in dogs with ehrlichiosis', *PLOS ONE*, 18(12), p. e0293545. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293545>.

Legatti, S.A.M., El Dib, R., Legatti, E., Botan, A.G., Camargo, S.E.A., Agarwal, A., Barretti, P. and Paes, A.C. (2018) 'Acute kidney injury in cats and dogs: A proportional meta-analysis of case series studies', *PLOS One*, 13(1). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190772>.

Lee, M.-J., Yu, G.-R., Park, S.-H., Cho, B.-H., Ahn, J.-S., Park, H.-J., Song, E.-Y. and Kim, D.-G. (2008) 'Identification of cystatin B as a potential serum marker in hepatocellular carcinoma', *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 14(4). Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1615>.

Lulich, J.P., Osborne, C.A., O'Brien, T.D. and Polzin, D.J. (1992) 'Feline renal failure: questions, answers, questions', *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, pp. 127–152.

Lunn, K.F. (2011) 'The Kidney in Critically Ill Small Animals', *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 41(4), pp. 727–744. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.03.020>.

Martin, C., Péchereau, D. and Braun, J.-P. (2002) 'Cystatine C plasmatique chez le chat: Les technique actuelles ne permettent pas de l'utiliser comme marqueur d'insufficance rénale', *Revue Méd Vét*, 153(5), pp. 305–310. Available at:

https://www.researchgate.net/publication/280091304_Cystatine_C_plasmaticque_chez_le_chat_Les_technique_actuelles_ne_permettent_pas_de_l'utiliser_comme_marqueur_d'insufficance_renale

Monaghan, K., Nolan, B. and Labato, M. (2012) 'Feline acute Kidney injury', *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14(11), pp. 775–784. Available at: <https://doi.org/10.1177/1098612x12464458>.

Nabity, M.B., Lees, G.E., Boggess, M.M., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., Rakitin, A., Aguiar, J. and Relford, R. (2015) 'Symmetric Dimethylarginine Assay Validation, Stability, and Evaluation as a Marker for the Early Detection of Chronic Kidney Disease in Dogs', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(4), pp. 1036–1044. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.12835>.

Natarajan, B., Kannan, P., Subramanian, P. and Maduraiveeran, G. (2024) 'Metal nanoparticles based electrochemical biosensing of neutrophil gelatinase-associated lipocalin biomarker for monitoring acute kidney injury', *Microchemical Journal*, 203, p. 110890. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110890>.

Nivy, R., Chaim, N., Hanael, E., Sutton, G.A., Bruchim, Y., Aroch, I. and Segev, G. (2021) 'Prospective evaluation of 5 urinary biomarkers as predictors of acute kidney injury in nonazotemic, hospitalized dogs', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(6), pp. 2812–2820. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.16308>.

Osborne, C.A., Fletcher, T.F. (1995) 'Applied anatomy of the urinary system with clinicopathologic correlation', OSBORNE CA, FINCO DR. Canine and feline nephrology and urology. Baltimore, William and Wilkins, pp. 3-28.

Ostermeier, N. (2023) Common Causes of Kidney Injury in Pets and a New Option for Detection, Thevetiverse.com. IDEXX. Available at: <https://www.thevetiverse.com/en/latest/common-causes-of-kidney-injury-in-pets-and-a-new-option-for-detection/> (Accessed: 10 November 2024).

Palm, C.A., Segev, G., Cowgill, L.D., LeRoy, B.E., Kowalkowski, K.L., Kanakubo, K. and Westropp, J.L. (2016) 'Urinary Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin as a Marker for Identification of Acute Kidney Injury and Recovery in Dogs with Gentamicin-induced Nephrotoxicity', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(1), pp. 200–205. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.13819>.

Rimer, D., Chen, H., Bar-Nathan, M. and Segev, G. (2022) 'Acute kidney injury in dogs: Etiology, clinical and clinicopathologic findings, prognostic markers, and outcome', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 36(2), pp. 609–618. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.16375>.

Ross, L. (2022) 'Acute kidney injury in dogs and cats', *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 52, pp. 659–672. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2022.01.005>.

Segev, G., Cortellini, S., Foster, J.D., Francey, T., Langston, C., Londoño, L., Schweighauser, A. and Jepson, R.E. (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*, 305, p. 106068. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2024.106068>.

Segev, G., Palm, C., LeRoy, B., Cowgill, L.D. and Westropp, J.L. (2013) 'Evaluation of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as a Marker of Kidney Injury in Dogs', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(6), pp. 1362–1367. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.12180>.

Segev, G., Vaden, S., Ross, S., Dufayet, C., Cohn, L.A., Farace, G., Szlosek, D., Ouyang, Z., Peterson, S., Beall, M., Murthy Yerramilli, Polzin, D. and Cowgill, L.D. (2023). Urinary cystatin B differentiates progressive versus stable IRIS Stage 1 chronic kidney disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, [online] 37(6), pp.2251–2260. doi:<https://doi.org/10.1111/jvim.16887>.

Sigrist, N., Kälin, N. and Dreyfus, A. (2017) 'Changes in Serum Creatinine Concentration and Acute Kidney Injury (AKI) Grade in Dogs Treated with Hydroxyethyl Starch 130/0.4 From 2013 to 2015', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(2). Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.14645>.

Singh, S. and Hämläinen, R.H. (2024) 'The Roles of Cystatin B in the Brain and Pathophysiological Mechanisms of Progressive Myoclonic Epilepsy Type 1', *Cells*, 13(2), p. 170. Available at: <https://doi.org/10.3390/cells13020170>.

Smid, L., Strojan, P., Budihna, M., Skrk, J., Vrhovec, I., Zargi, M. and Kos, J. (1997) 'Prognostic value of cathepsins B, D and steffins A and B in laryngeal carcinoma', *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 254 Suppl 1, pp. S150-3. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF02439748>.



Starybrat, D., Jepson, R., Bristow, P., Peterson, S., Yerramilli, M., Yerramilli, M., Chang, Y. and Cortellini, S. (2022) 'Prospective evaluation of novel biomarkers of acute kidney injury in dogs following cardiac surgery under cardiopulmonary bypass', *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 32(6), pp. 733–742. Available at: <https://doi.org/10.1111/vec.13250>.

Stokes, J.E. and Forrester, S.Dru. (2004) 'New and unusual causes of acute renal failure in dogs and cats', *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 34, pp. 909–922. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2004.03.006>.

Syme, H.M., Foster, J.D., Quimby, J.M. and Jepson, R. (2024) 'SECTION XX Renal Disease', *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Ettinger, S.J., Feldman, E.C. and Côté, E., 9th edn. Saunders, pp. 2057–2106.

Van den Berg, M.F., Schoeman, J.P., Defauw, P., Whitehead, Z., Breemersch, A., Goethals, K., Daminet, S. and Meyer, E. (2018) 'Assessment of acute kidney injury in canine parvovirus infection: Comparison of kidney injury biomarkers with routine renal functional parameters', *The Veterinary Journal*, 242, pp. 8–14. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.10.002>.

Worwag, S. and Langston, C.E. (2008) 'Acute intrinsic renal failure in cats: 32 cases (1997–2004)', *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(5), pp. 728–732. Available at: <https://doi.org/10.2460/javma.232.5.728>.

Yankowicz, S. (2023) 'New diagnostic test for kidney injury', *DVM* 360, 5(7), pp. 6–6. Available at: <https://www.dvm360.com/view/new-diagnostic-test-for-kidney-injury> (Accessed: 4 December 2024).

Yerramilli, M., Farace, G., Quinn, J. and Yerramilli, M. (2016) 'Kidney Disease and the Nexus of Chronic Kidney Disease and Acute Kidney Injury', *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 46(6). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.06.011>.

Zheng, J.-S., Nie, J., Zhu, T.-T., Ruan, H.-R., Wei, X. and Wu, R. (2019) 'Screening of Early Diagnostic Markers of Gentamicin-induced Acute Kidney Injury in Canines', *Journal of veterinary research*, 63(3), pp. 405–411. Available at: <https://doi.org/10.2478/jvetres-2019-0048>

