

URINA COMO FLUIDO ALTERNATIVO PARA USO DO MÉTODO DA ÁGUA DUPLAMENTE MARCADA EM CÃES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA (ESTUDO PRELIMINAR)

ARIEL DE CASTRO¹, TICIANE G. B. FREIRE¹, JHENNIFER DE C. FENERICK¹, MARIA EDUARDA G. TOZATO¹, STEPHANIE DE S. THEODORO¹, LETÍCIA G. PACHECO¹, CAMILA GOLONI¹, LETÍCIA A. SILVA¹, LARA M. VOLPE², VLADIMIR E. COSTA³, AULUS C. CARCIOFI¹.

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal, SP; ²Adimax Indústria e Comércio de Alimentos, Salto de Pirapora, SP; ³Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu, SP.

Contato: aulus.carciofi@unesp.br / Apresentador: ARIEL DE CASTRO

Resumo: Isótopos estáveis são ferramentas promissoras para estudos em animais afetados por diversas condições clínicas. Cães com doença renal crônica (DRC) frequentemente têm poliúria, o que poderia afetar a taxa de eliminação de deutério (²H) e oxigênio-18 (¹⁸O) no método de água duplamente marcada (ADM). Este estudo comparou urina e plasma para aplicar a ADM em cães com DRC. Amostras dos dois fluidos de cinco cães com DRC em estágios 2 e 3 foram coletadas antes (basal) da aplicação subcutânea dos isótopos, após 3 horas de enriquecimento e aos 2, 4 e 6 dias de eliminação. As concentrações isotópicas foram utilizadas para cálculo do gasto energético (GE), turnover hídrico (TH) e composição corporal (CC). As concentrações isotópicas foram similares entre fluidos nos momentos basal e eliminação (P>0,05), porém foram menores na urina no enriquecimento (P<0,05). Bland-Altman e Correlação de Pearson mostraram forte correlação entre fluidos (P<0,05). Usando urina para detecção basal e da eliminação e o plasma para enriquecimento, resultados similares de GE, TH e CC foram obtidos em comparação ao uso de apenas plasma (P>0,05). Concluiu-se que a urina é fluido adequado para avaliação dos isótopos nos momentos basal e de eliminação.

PalavrasChaves: cães; necessidade energética; isótopos estáveis; doença renal crônica.

URINE AS AN ALTERNATIVE FLUID FOR THE USE OF THE DOUBLY LABELED WATER METHOD IN DOGS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE (PRELIMINARY STUDY)

Abstract: Stable isotopes are promising tools for studies in animals affected by various clinical conditions. Dogs with chronic kidney disease (CKD) often have polyuria, which could affect the elimination rate of deuterium (²H) and oxygen-18 (¹⁸O) in the doubly labelled water method (DLW). This study compared urine and blood to apply DLW to dogs with CKD. Samples of the two fluids from five dogs with CKD stages 2 and 3 were collected before (baseline) the subcutaneous application of the isotopes, after 3 hours of enrichment and at 2, 4 and 6 days of elimination. Isotopic concentrations were used to calculate energy expenditure (EE), water turnover (WT) and body composition (BC). Isotopic concentrations were similar between fluids at baseline and elimination (P>0.05) but were lower in urine during enrichment (P<0.05). Bland-Altman and Pearson Correlation showed a strong correlation between fluids (P<0.05). Using urine for baseline and elimination detection and plasma for enrichment, similar EE, WT and BC results were obtained compared to using blood alone (P>0.05). It was concluded that urine is a suitable fluid for evaluating isotopes at baseline and elimination.

Keywords: dogs; energy requirements; stable isotopes; chronic kidney disease.

Introdução: Isótopos estáveis são traçadores metabólicos promissores para estudos em animais afetados por diversas condições clínicas. No método da água duplamente marcada (ADM), a água corporal é enriquecida com deutério (²H) e oxigênio-18 (¹⁸O) e suas concentrações são medidas no sangue, saliva ou urina para se estimar o gasto energético (GE), composição corporal e turnover hídrico (TH) (GOLONI et al., 2020). Cães com doença renal crônica (DRC) comumente apresentam poliúria devido à capacidade reduzida de concentração da urina (BARTGES, 2012), o que poderia alterar a taxa de eliminação dos isótopos. Enquanto estudos anteriores utilizaram a urina como fluido alternativo para análise isotópica de ADM em humanos com DRC (VILAR et al. 2021) e cães saudáveis (MARCUSSEN et al., 2023), nenhum avaliou sua eficácia em cães com DRC. Este estudo teve como objetivo comparar a urina com o fluido padrão sangue para a análise da concentração de isótopos na condução do método da ADM em cães com DRC.

Material e Métodos: Foram utilizados 5 cães (5,2±1,4 anos) com DRC em estágio 2 e 3 (IRIS, 2023) (creatinina: 2,3±0,3 mg/dL; SDMA: 17,4±2,7ug/dL; densidade urinária: 1,010±0,0). A hidratação dos animais foi previamente verificada por meio de avaliação física da elasticidade da pele, tempo de preenchimento capilar, hidratação de mucosas e da osmolalidade sanguínea e nenhum dos cães precisou receber fluidoterapia durante o estudo. Uma dose de 0,12g de ²H₂O a 99,9% atm e 2g de H¹⁸O a 10% atm por Kg de água corporal foi injetada por via subcutânea após 12 horas de jejum alimentar e 1 hora de jejum hídrico. Amostras de sangue e urina foram coletadas antes da aplicação (basal) e após 3 horas (enriquecimento), 2, 4 e 6 dias (eliminação) e analisadas em espectrômetro de massa de razão isotópica (IRMS; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Os resultados foram aplicados a equações para se calcular o GE (Elia & Livesey, 1992), TH (Hendriks, Wamberg & Tartelin, 1999) e a composição corporal (Rathbun & Pace, 1945). Médias foram analisadas por análise de variância, teste t de Student e a concordância entre os fluidos foi avaliada segundo Bland e Altman e Correlação de Pearson (P<0,05).

Resultado e Discussão: As concentrações dos isótopos nos momentos basal e de eliminação foram semelhantes no plasma e urina (P>0,05). A fração atômica de ²H no hidrogênio total do plasma e da urina durante os períodos basal e de eliminação apresentou viés baixo de 0,217 (DP 3,7) ppm, alta precisão (fator de correção de viés) de 1,0, erro absoluto médio de 1,91, erro quadrático médio de 3,6, alto coeficiente de correlação de concordância (0,99) e correlação de Pearson forte (? 0,99; P<0,001). Para o ¹⁸O, foi observado baixo viés de -0,134 (DP 6,0) ppm, alta precisão de 1,0, erro absoluto médio de 3,4, erro

quadrático médio de 5,8, alto coeficiente de correlação de concordância (0,99) e correlação de Pearson forte (? 0,99; $P < 0,001$). No entanto, durante o período de enriquecimento, a concentração de isótopos foi menor na urina do que no plasma ($P < 0,05$). A urina provavelmente requer mais tempo para equilibrar os isótopos durante o enriquecimento, pois as amostras iniciais podem incluir urina previamente armazenada na bexiga (Colley et al., 2007). Em comparação com o uso de plasma, a adoção de resultados de urina para os tempos basal e de eliminação, e valores no plasma para o enriquecimento, resultou em cálculos semelhantes do contingente de água corporal (estimado com ^2H ou ^{18}O), massa corporal magra e gorda (kg), GE ($96,7 \pm 6,8$ e $91,5 \pm 7,3$ kcal/kg 0,75 /d) e TH ($110,6 \pm 17$ e $114,0 \pm 33,6$ mL/kg 0,75 /d) para os cães com DRC ($P > 0,05$; Tabela 1).

Tabela 1. Gasto energético, turnover hídrico e composição corporal de cães com doença renal crônica estágios 2 e 3 calculados pelo método da água duplamente marcada utilizando o fluido plasma, ou o fluido urina para valores basal e de eliminação e plasma para enriquecimento.

Item	Fluido		EPM	P
	Plasma	Urina		
Gasto energético (kcal/Kg 0,75 /dia)	96,7	91,5	4,8	0,61
Turnover Hídrico (mL/Kg 0,75 /dia)	110,6	114,0	7,9	0,8
Massa magra (Kg)	7,37	7,38	1,39	0,99
Massa magra (%)	73,94	74,04	2,0	0,98
Massa gorda (Kg)	2,99	2,98	0,9	0,99
Massa gorda (%)	26,06	25,96	2,0	0,98

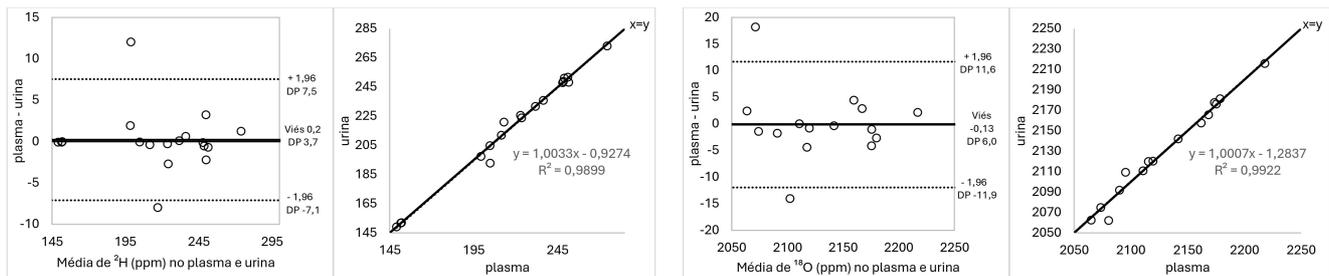


Figura 1. Estatísticas de Bland-Altman e Correlação de Pearson entre a fração atômica de deutério (^2H) e oxigênio-18 (^{18}O) no hidrogênio e oxigênio total em partes por milhão (ppm) em amostras de plasma e urina de cães com DRC em estágios 2 e 3.

Conclusão: O fluido urina pode ser utilizado com segurança para se medir a concentração de ^2H e ^{18}O nos períodos pré-aplicação (basal) e durante os períodos de eliminação dos isótopos, como substituto do fluido padrão plasma no método da ADM. Estudos adicionais são necessários para estabelecer o momento ideal para a coleta de urina durante o período de enriquecimento.

Agradecimentos: A FAPESP pela concessão da bolsa (2023/14917-5). Ao Centro de Isótopos Estáveis “Prof. Dr. Carlos Ducatti”, ADIMAX Pet Food pelo financiamento deste estudo, BRF Pet Food, BRF Ingredients e ADM do Brasil pelo apoio financeiro ao Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”.

Referências Bibliográficas: BARTGES, J. W. Chronic kidney disease in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 42, n. 4, p. 669-692, 2012; COLLEY, R. C.; BYRNE, N. M.; HILLS, A. P. Implications of the variability in time to isotopic equilibrium in the deuterium dilution technique. *European journal of clinical nutrition*, v. 61, n. 11, p. 1250-1255, 2007; ELIA, M.; LIVESEY, G. Energy expenditure and fuel selection in biological systems: the theory and practice of calculations based on indirect calorimetry and tracer methods. *World Rev Nutr Diet*. v. 70, p. 68–131, 1992; GOLONI, C. et al. Validation of saliva and urine use and sampling time on the doubly labelled water method to measure energy expenditure, body composition and water turnover in male and female cats. *British Journal of Nutrition*, 124(4), 457-469, 2020; IRIS (International Renal Interest Society). IRIS staging of CKD (chronic kidney disease). 2023; MARCUSSEN, C. et al. The ^{13}C -bicarbonate technique as a tool for measurement of energy expenditure in overweight dogs undergoing body weight reduction and the effect of different dietary composition. *Journal of Animal Science*, v. 101, p. skad075, 2023; PACE, N.; RATHBUN, E. N. Studies on body composition III. The body water and chemically combined nitrogen content in relation to fat content. *Journal of Biological Chemistry*, v. 158, n. 3, p. 685-691, 1945; VILAR, E. et al. Effect of chronic kidney disease on metabolic rate: Studies using doubly labelled water. *Journal of Renal Nutrition*, v. 31, n. 5, p. 475-483, 2021.