Investigação

CONCEITOS E APLICABILIDADE DOS PRINCIPAIS BIOMARCADORES NA NEFROLOGIA VETERINÁRIA – REVISÃO DE LITERATURA

Concepts and applicability of main biomarkers in veterinary nephrology - literature review

MV. Mariana R. Nascimento^{1*}, M.V. Charles S. de Lima¹, M.V. Jéssica C. Barros, M.V. Michele Padovan¹, MV. Cristiane A. Cintra¹, M.V. Ilan M. Ayer¹, Luisa P. B. Borges, MV. Dr. Leandro Z. Crivellenti¹

1. Universidade de Franca - UNIFRAN, Franca, São Paulo, Brasil.

* Av. Dr Armando Sales Oliveira, 201, CEP: 14.404-600, Pq. Universitário, Franca – SP. e-mail: nanareato@hotmail.com

RESUMO

Os biomarcadores são substâncias específicas de um órgão ou tecido sob investigação, que são produzidas ou liberadas proporcionalmente à injúria ou doença intercorrente. Na nefrologia a análise dos biomarcadores renais permitiu melhor entendimento das doenças, diagnóstico precoce, além de respostas à terapia. Porém, na veterinária ainda existem muitas lacunas não respondidas ou com resultados questionáveis. O objetivo desta revisão de literatura foi abordar temas referentes aos principais biomarcadores renais visando sua realização técnica e aplicabilidade clínica. Biomarcadores, como a cistina C, a lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos (NGAL), N-acetil-β-d-glucosaminidase (NAG), a gama glutamiltransferase urinária (GGT urinária), interleucina 18 (IL-18) e a dimetilarginina simétrica (SDMA) serão abordadas nessa revisão. Conclui-se que apesar dos biomarcadores renais serem uma ferramenta promissora para diagnóstico precoce, prognóstico e auxiliar no tratamento de nefropatias são ainda necessários maiores estudos na medicina veterinária buscando identificar suas particularidades clínicas.

Palavras-chave: Doença renal crônica, lesão renal aguda, diagnóstico precoce.

ABSTRACT

TBiomarkers are specific substances of an organ or tissue under investigation that are produced or released proportionally to the injury or disease. In nephrology the renal biomarkers allowed a better understanding of the disease, early diagnosis, and response to the therapy. However, there are still many unanswered or questionable gaps in veterinary medicine. The objective of this literature review was to discuss topics related to the renal biomarkers and their technical realization and clinical applicability. New biomarkers, such as cystine C, lipocalin associated with neutrophil gelatinase (NGAL), N-acetyl-β-d-glucosaminidase (NAG), urinary glutathyltransferase (urinary GGT), interleukin 18 (IL-18) and Symmetrical dimethylarginine (SDMA) will be addressed in this review. It is concluded that although renal biomarkers are a promising tool for early diagnosis, prognosis and help in the treatment of nephropathies, further studies in veterinary medicine are still necessary to identify their clinical characteristics and relevance.

Keywords: Chronic kidney disease, acute kidney injury, renal damage, early diagnosis.

INTRODUÇÃO

Os biomarcadores são substâncias específicas que indicam a ocorrência de processo biológico (normal ou patológico) de um órgão ou tecido que são produzidas ou liberadas proporcionalmente à lesão ou doença (OYAMA e SISSON, 2004). Porém, para que essas substâncias sejam clinicamente úteis como exames complementares de diagnóstico, idealmente devem possuir critérios de alta sensibilidade, detectar processos subclínicos, auxiliar no diagnóstico de processos agudos e crônicos de forma precoce, estabelecerem as condições de risco de um paciente, monitorar a progressão de uma doença e fornecer informações que permitam uma melhor orientação na opção terapêutica (MORROW e LEMOS, 2007).

As mensurações de biomarcadores renais, como a creatinina e ureia, são práticas de rotina laboratorial há mais de 60 anos, tanto na medicina quanto na medicina veterinária (HONKAMP e NABITY, 2016), auxiliando com esse advento no diagnóstico de doenças (SCHLEY et al. 2015). Atualmente os biomarcadores mais estudados na medicina objetivam cada vez mais o diagnóstico precoce das enfermidades, como por exemplo a lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos humanos (NGAL), interleucina-18, kidney injury molecule-1 (KIM-1), cistatina-C, n-acetil-β-d-glucosaminidase (NAG), netrina-1 e vanina-1 (SIROTA et al. 2011; SLOCUM et al. 2012). Da mesma forma, novos biomarcadores para o diagnóstico tanto para lesão renal aguda quanto para a doença renal crônica tem sido foco na medicina veterinária, tornando-se um importante e promissor alvo de estudos.

O objetivo desta revisão de literatura foi abordar temas referentes aos principais biomarcadores de função renal visando sua técnica de realização e aplicabilidades clínicas.

BIOMARCADORES

São classificados de acordo com o local onde se expressam caracterizando disfunção glomerular ou tubular e marcadores de doença renal crônica.

Biomarcadores de disfunção na taxa de filtração glomerular

Depuração de creatinina

O melhor método para se avaliar a função renal é a mensuração da taxa de filtração glomerular (TFG), pois está diretamente relacionada com o número de nefrônios funcionais. Isso é feito mensurando o volume de plasma filtrado pela cápsula de Bowman por unidade de tempo. A depuração de creatinina endógena é uma das mais utilizadas apesar de não ser um procedimento simples (TRALL et al. 2015). Para a realização da depuração ou clearance de creatinina, deve-se mensurar tanto a creatinina sérica quanto a urinária; pode ser usado o método colorimétrico, que é um teste cinético baseado na reação de creatinina com picrato alcalino (HALL et al. 2014) ou o enzimático que mensura tanto a creatinina quanto a ureia no soro sanguíneo de humanos e animais (PAGITZ et al. 2007). Com a finalidade de estimar a taxa de filtração glomerular (TFG), pode-se mensurar o clearance de creatinina (Ccr) em período de 24 horas. A fórmula apresentada a seguir descreve o cálculo e apresenta os dados pertinentes ao procedimento.

Ccr (mL/min./kg) =	Ucr (mg/mL) x Uv (mL)	x p. c. (kg)
	Scr (mg/mL) x T (min)	

Onde:

Ccr = clearance de creatinina

Ucr = concentração urinária de creatinina

Uv = volume de urina

Scr = concentração sérica de creatinina

T = tempo em minutos

p. c. = peso corporal

Creatinina e ureia séricas

Já a creatinina sérica é o biomarcador endógeno mais amplamente utilizado (HONKAMP e NABITY, 2016), pela pequena variação intra individual (STEINBACH et al. 2014), podendo dessa forma, ser utilizada tanto para a doença renal crônica quanto para a lesão renal aguda (MACEDO, 2011). No entanto, deve ser analisado com cautela, devido ao fato de que sua concentração poder sofrer variações por fatores não renais como sexo, idade, peso corporal, índice de hidratação (PERES et al. 2014), massa e metabolismo muscular, estado nutricional e anorexia (PALACIO et al., 1997; PERES et al. 2014).

Vale ressaltar que a creatinina não é biomarcador precoce (PALACIO et al., 1997), consequentemente para que se observe a elevação dos seus valores, a TFG tem que sofrer uma redução superior a 75% (Trall et al. 2015).

A ureia é o segundo biomarcador renal mais utilizado na prática clínica e, assim como a creatinina, também só avalia tardiamente as lesões renais (ARONSON et al., 2004). É filtrada livremente pelo glomérulo, sendo reabsorvido pelos túbulos, onde essa taxa sofre influência do fluxo de urina que passa pelos túbulos. Logo, vale ressaltar sua inespecificidade, pois sua produção pode aumentar em casos de desidratação, onde ocorre maior reabsorção da ureia

elevando sua concentração sérica, e também em animais com hemorragia gastrointestinal, onde a fração proteica da hemácia é convertida em amônia pelas bactérias locais, sendo reabsorvida pelo fígado e transformada em ureia (Trall et al. 2015), quanto também pode diminuir em algumas condições, como na insuficiência hepática e na desnutrição proteica (ARONSON et al., 2004).

Além dessas interferências, parte da ureia é reabsorvida após o processo de filtração nos túbulos (MARTIN et al., 2004). Dessa forma, para minimizar alterações na sua dosagem é importante que tanto a creatinina quanto a ureia sejam dosadas simultaneamente (em jejum) para avaliar função renal e devem ser avaliados de forma seriada diante da suspeita de lesão aguda ou crônica.

Cistatina C

De acordo com Pagitz et al. (2007) a cistatina C pode ser mensurada tanto no soro quanto na urina de humanos e nos de cães, através do ensaio comercial de imunoturbidimetria de partículas; e atualmente o imuno-ensaio de nefelometria reforçada (PENIA) está sendo utilizado no soro e urina de humanos, porém devido ao seu alto custo esse método ainda não é utilizado na veterinária (GHYS et al. 2014).

Pertencente à superfamília das proteínas inibidoras de cisteínas proteinases, também denominadas de superfamília das cistatinas (MARTIN et al. 2004). A cistatina C é uma proteína, de baixo peso molecular (13.359 Daltons) não glicada e com carga positiva (GRZONKA et al. 2001, MARES et al. 2003). É livremente filtrada pelo glomérulo, sendo quase totalmente reabsorvida e metabolizada pelos túbulos e não sofre interferência de outras proteínas de baixo peso molecular (OKAY, 2002).

A concentração sanguínea de cistatina C não se alteram significativamente pela idade, sexo, raça, ou massa muscular, sendo assim, um bom marcador da função glomerular em pacientes caquéticos (HERGET-ROSENTHAL et al. 2004). Sua produção pelo organismo é constante e sua concentração periférica é dependente da filtração glomerular (OKAY, 2002). Em condições fisiológicas, a concentração de cistatina C na urina é mínima não podendo ser usada para determinação da TFG utilizando sua depuração (SCHWARTZ e FURTH, 2007).

Na medicina a cistatina C sérica vem sendo utilizada como um marcador complementar da creatinina para avaliação da taxa de filtração glomerular (TFG) (GHYS et al. 2014). Acredita-se que em casos de lesão renal aguda, em humanos, sua concentração tenha boa correlação com a duração e gravidade da lesão, assim como os biomarcadores KIM-1 e IL-18 (NEJAT et al. 2012).

Neoplasias não interferem no resultado da cistatina C (MIYAGAWA et al. 2009). Os poucos fatores extras renais, descritos em humanos, que interferem na sua mensuração, ocorre nas desordens da tireóide. Dessa forma, o hipotireoidismo aumenta o nível sérico desse biomarcador e o hipertireoidismo reduz (FRICKER et al. 2003).

Dimetilarginina simétrica (SDMA)

Existem várias espécies de arginina metilada produzida como um subproduto da metilação da proteína intracelular seguido por degradação de proteínas. As variantes da arginina de interesse clínico são os derivados de arginina dimetilada, a dimetilarginina simétrica (SDMA) e dimetilarginina assimétrica (ADMA) (IRIS, 2015). De acordo com Tenderenda-banasiuk et al. (2013) SDMA deve ser mensurada no soro sanguíneo humano, através do teste de ELISA e seu resultado expressado em mol/L. Já em soro de cães e gatos a melhor forma de se mensurar SDMA é através da cromatografia

líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS) (HALL et al. 2014)

Em humanos com aumento da concentração de triglicérides, ácido úrico e colesterol (LDL), o valor de SDMA sofre variação (TENDERENDA-BANASIUK et al. (2013). No entanto, esse biomarcador parece não sofrer nenhuma interferência na sua mensuração em soro e plasma de cães e gatos (NABITY et al. 2015).

A SDMA é eliminada principalmente por excreção renal, surgindo como um potencial marcador endógeno de TFG (NABITY et al. 2015). Em cães com doença renal crônica (DRC), a SDMA constatou um aumento médio de 4-5 semanas antes da creatinina sérica, juntamente com a diminuição da taxa de filtração glomerular (HONKAMP E NABITY. 2016). Já em felinos domésticos esse fato também ocorre, mas com média de 15 meses de precocidade (HALL et al. 2014). A dosagem de SDMA já tem sido posta em prática na rotina de atendimentos de pequenos animais como biomarcador precoce de lesão renal e monitoramento de pacientes nefropatas, principalmente aqueles em que a creatinina e ureia encontram-se dentro do intervalo para a espécie (DRC estágio 1).

O SDMA acima de 14 µg/dl sugere redução da função renal considerando cães e gatos em estágio 1 da DRC (creatinina <1,4 ou <1,6 mg/dL). Ainda, a DRC estágio 2 considera-se SDMA ≥ 25 µg/dL; no estágio 3 da DRC, o SDMA ≥ 45 µg/dL. De acordo com critérios da IRIS, ainda que estes varões ainda sejam dados flutuantes e alvos de pesquisas (IRIS, 2015).

Biomarcadores de disfunção tubular

Gama glutamiltransferase urinária (GGT urinária)

É encontrada em maior concentração nas células epiteliais do túbulo contorcido proximal e alça de Henle. Geralmente o aumento de duas a três vezes superiores ao valor basal indica lesão do epitélio tubular, sendo por isso considerada um marcador precoce

de dano tubular renal (CLEMO, 1998). Em pequenas concentrações, pode ser encontrado em outros órgãos como fígado, pâncreas, baço, pulmões, intestino delgado, placenta, sistema nervoso central, próstata e coração (RUDOLPH e CORVALAN, 1992). A espectrofotometria é o método mais utilizado para sua dosagem urinária, porém outras técnicas também são descritas (CRIVELLENTI et al. 2014).

A maior parte dos experimentos mostra importante aumento da GGT urinária frente a lesão renal induzida, seja ela por fármacos nefrotóxicos como a gentamicina (HENNEMANN et al. 1997), ou modelos sépticos, como em cadelas com piometra, em que foram constatadas elevações nas concentrações de GGT urinária, assim como NAG, devido a lesões em células tubulares proximais e reduzida taxa de filtração glomerular (HEIENE et al. 2001). Em contrapartida Crivellenti et al. (2014) demonstram que aumento da GGT urinária pode não estar necessariamente relacionada as alterações histopatológicas dos rins em casos de intoxicação por substâncias não nefrotóxicas.

Dessa forma, apesar da potencial precocidade diagnóstica quando comparado aos testes convencionais de função renal (creatinina e ureia) (HARST et al., 2005) pode apresentar falsa-positividade em alguns casos, alterando o prognóstico e tratamento de forma errônea (CRIVELLENTI et al. 2014).

N-acetil-β-d-glucosaminidase (NAG)

A NAG é uma enzima lisossomal também conhecida por N-Acetil-β-d-glucosaminidase encontra nos túbulos renais e não é capaz de ser filtrada graças ao seu alto peso molecular. Dessa forma, seu aumento sugere lesão de células tubulares ou um aumento da atividade

de lisossomos, principalmente nos túbulos proximais, onde a glicosidase é mais abundante (BAZZI et al. 2002).

A mensuração da NAG é feita através do método de espectrofotometria (LIANGOS et al. 2007). Alguns fatores podem vir a interferir na mensuração da NAG urinária em humanos como, por exemplo, nefropatia diabética, hipertireoidismo e enfermidades reumatológicas (KATAGIRI et al. 2012).

O aumento da excreção urinária de NAG foi observado na insuficiência renal aguda de várias etiologias, induzida por agentes tóxicos, após a cirurgia cardíaca e após o transplante renal em humanos (KNOTEC et al. 2001). Corroborando com a literatura, Palacio et al. (1997) em estudo com animais portadores de leishmaniose, observou que lesões renais são precocemente detectadas pela mensuração de NAG, juntamente com a determinação da razão proteína creatinina urinária (UP/C) e gama glutamiltransferase urinária (GGT urinária) em comparação a creatinina e ureia. Mas a real utilidade desse marcador para avaliação precoce de doenças crônicas ainda não foi comprovada.

Em cães com lesão renal induzida por gentamicina, evidenciou a precocidade da NAG urinária juntamente com a NGAL urinária em relação a outros biomarcadores, onde esses dois biomarcadores já se elevaram no primeiro dia de mensuração (ZHOU et al. 2014).

Interleucina-18 (IL-18)

A IL-18 pode servir como um marcador para lesão tubular proximal (SIROTA et al. 2011 e CHAMNEY et al. 2002), e sua mensuração é realizada através do teste de imunoensaio ELISA (PARIKH et al. 2006). É uma citocina pró-inflamatória, onde são necessários três componentes para a liberação da IL-18, que são pró-IL-18, o P2X7 e a cisteína protease intracelular caspase-1, a qual converte a pró-forma da IL-18 na sua forma ativa, e que, em seguida, desloca-se da célula tubular para o lúmen (UCHINO et al. 2005).

Considerando-se a IL-18 ser uma citocina pró-inflamatória que desempenha um papel importante na sepse, sua concentração pode ser influenciada por um número de variáveis coexistentes, tais como endotoxemia, doenças inflamatórias e doenças autoimunes (URBSCHAT et al. 2011).

Em casos de lesão renal aguda e que sua concentração precoce na urina está relacionada com a gravidade da lesão renal aguda (SIROTA et al. 2011 e CHAMNEY et al. 2002). Este fato pode ser corroborado em estudo realizado por Nejat et al. (2012) onde observou-se que a concentração de IL-18 foi maior em pacientes em necrose tubular aguda em comparação com a creatinina.

Lipocalina associada com gelatinase de neutrófilos (NGAL)

Para mensuração desse biomarcador é utilizado o método de imunoensaio ELISA (SCHLEY et al. 2015). A NGAL é um membro da família da lipocalina associado a proteínas de ligação, presente em muitos tecidos normais, incluindo os rins, podendo ser dosada tanto em amostras de urina quanto de plasma (PERES et al. 2013).

É facilmente filtrada pelo glomérulo renal e amplamente reabsorvida pelos túbulo proximal e excretada em baixa concentração na urina, observando seu aumento em lesão renal aguda, lesão de células tubulares e diminuição da taxa de filtração glomerular (MARTENSSON e BELLOMO, 2014).

Em estudo realizado por Steinbach et al. (2014) evidenciou-se que a NGAL sérica canina é menos sensível que a urinária, isso ocorre devido a ativação da lipocalina-2 responsável por codificar NGAL sérica, além de a capacidade de filtração renal estar diminuída em casos de lesão renal aguda reduzindo a depuração de NGAL urinária.

Outro estudo que mostra a eficácia da NGAL urinária realizado por Lee et al. (2012), onde se observou que a NGAL urinária pode ser utilizado como um biomarcador precoce para IRA tanto em

humanos quanto em cães no pós-cirúrgico. Seu aumento ocorre dentro de 12 horas após a cirurgia, enquanto que a creatinina se eleva em 48 horas. Já Urbschat et al. (2011) descreve que esse biomarcador se eleva dentro de duas horas pós isquemia do rim humano e que seu aumento perdura enquanto a isquemia existir.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de todos os estudos realizados sobre os biomarcadores renais, esse assunto na medicina veterinária ainda é uma incógnita, precisa ser melhor estudado para aplicação na rotina clínica. Cada marcador tem sua função e local diferente de atuação, devido a esses fatores a melhor forma de se utilizar-los seria a aplicabilidade de vários marcadores conjuntos para um melhor diagnóstico, sempre buscando a precocidade.

REFERÊNCIAS

- Aronson D, Mittleman M, Burger A. 2004. Elevated blood urea nitrogen level as a predictor of mortality in patients admitted for decompensated heart failure. *The American journal of medicine*. 116(7):466-473.
- Bazzi C, Petrini C, Rizza V. et al. 2002. Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrology, dialysis, transplantation*. 17(11):1890-1896.
- Chamney PW, Krämer M, Rode C. et al. 2002. A new technique for establishing dry weight in hemodialysis patients via whole body impedance. *Kidney international*. 61(6):2250-2258.
- Clemo F A. 1998. Urinary enzyme evaluation of nephrotoxicity in the dog. *Toxicologic Pathology*. 26(1):29-32.
- Doc. eletrônico (internet): International Renal Interest Society. 2015. Symmetric dimethylarginine (SDMA): new biomarker of renal function in cats and dogs. 2 p. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com> [Acessado em: 08/2016].
- Doc. eletrônico (internet): International Renal Interest Society. 2013. Grading of acute kidney injury. 7 p. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com> [Acessado em: 08/2016].
- Crivellenti LZ, Mesa JS, Meirelles AE. et al. False positivity of gamma-glutamyl transpeptidase measurement in urine. *Renal failure*. 2014;36:581-584.
- Finco DR, Brown SA, Brown CA. et al. 1999. Progression of chronic renal disease in the dog. *Journal of veterinary internal medicine*. 13(6):516-528.
- Fricker M, Wiesli P, Brändle M. et al. 2003. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney international*. 63(5):1944-1947.
- Peres LAB, Junior ADC, Assumpção RAB. Et al. 2014. Papel da lidocaína associada à gelatinase neutrofílica (NGAL) urinária na nefrotoxicidade da cisplastina em pacientes com câncer de cabeça e pescoço. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*. 36(3):1-9.
- Ghys L, Paepe D, Smets P. et al. 2014. Cystatin C: A New Renal Marker and Its Potential Use in Small Animal Medicine. *Journal of veterinary internal medicine*. 28(4):1152-1164.
- Grauer GF, Lane IF. 1997. Insuficiência renal aguda. *Tratado de medicina interna veterinária*. 4.ed. São Paulo. Manole, p.2374-2393.
- Grzonka Z, Jankowska E. et al. 2001. Structural studies of cysteine proteases and their inhibitors. *Acta biochimica Polonica*. 48(1):1-20
- Hall JA, Yerramilli M, Obare E. et al. 2014. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *Journal of veterinary internal medicine*. 28(6):1676-1683.
- Harst MR, Bull S, Laffont CM, Klein WR. 2005. Gentamicin nephrotoxicity: a comparison of in vitro findings with in vivo experiments in equines. *Veterinary Research Communications*. 29(3):247-261.
- Hennemann CRA, Silva CF, Schoenau-Wet al. 1997. Atividade da gama glutamil transpeptidase urinária, dosagens séricas de uréia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeo em cães. *Ciência Rural*. 27(2):237-244.
- Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J. et al. 2004. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney international*. 66(3):1115-1122.
- Heiene R, Moe L, Molmen G. et al. 2001. Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra. *Research in veterinary science*. 70(2):129-137.
- Hokamp JA, Nabity MB. 2016. Renal biomarkers in domestic species. *Veterinary clinical pathology*. 45(1):28-56.
- Katagiri D, Doi K, Honda K. et al. 2012. Combination of two urinary biomarkers predicts acute kidney injury after adult cardiac surgery. *The Annals of thoracic surgery*. 93(2):577-583.
- Knotek M, Prkacin I, Skegro D. et al. 2001. *Continuous renal replacement therapy*. Lijecnički vjesnik. 123(10):255-258.
- Lee YJ, Hu YY, Lin YS et al. 2012. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as biomarker for acute canine kidney injury. *BMC veterinary research*. 248(8):1-9.
- Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS. 2007. Urinary N-Acetyl-(D)-Glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology*. 18(3):904-912.
- Macedo E. 2011. Biomarcadores na Insuficiência Renal Aguda. In: Abensur H. Biomarcadores na Nefrologia. São Paulo: Roche. pp.19-35.
- Mares J, Stejskal D, Vavroušková J. et al. 2003. Use of cystatin C determination in clinical diagnostics. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký*. 147(2):177-180.
- Martin D, Rojo AI, Salinas M. et al. 2004. Regulation of heme oxygenase-1 expression through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway and the Nrf2 transcription factor in response to the antioxidant phytochemical carnosol. *The Journal of biological chemistry*. 116(7):466-473.
- Martensson J, Bellomo 2014. R. The rise and fall of NGAL in acute kidney injury. *Blood Purif*. 37(4):304-310.
- Miyagawa Y, Takemura N, Hirose H. 2009. Evaluation of the measurement of serum cystatin C by an enzyme-linked immunosorbent assay for humans as a marker of the glomerular filtration rate in dogs. *The Journal of veterinary medical Science*. 1(9):1169-1176.
- Morrow DA, Lemos JA. 2007. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. *Circulation*. 115(8):949-952.
- Nabity MB, Lees GE, Boggess MM. et al. 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):1036-1044.
- Nejat M, Pickering JW, Devarajan P. et al. 2012. Some biomarkers of acute kidney injury are increased in pre-renal acute injury. *Kidney international*. 81(12):1254-1262.
- Okay TS. 2002. Cistatina c: um novo marcador de função renal em crianças. *Revista Associação Medicina Veterinária*. 48(2):93-117.
- Oyama, M.A, Sisson DD. 2004. Cardiac troponin-I concentration in dogs with cardiac disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 18(6):831-839.
- Pagitz M, Frommlet F, Schwendenwein I. 2007. Evaluation of biological variance of cystatin C in comparison with other endogenous markers of glomerular filtration rate in healthy dogs. *Journal of veterinary internal medicine*. 21(5):936-942.
- Palacio J, Liste F, Gascón M. 1997. Enzymuria as an index of renal damage in canine leishmaniasis. *The Veterinary record*. 140(18):477-480.
- Parikh CR, Jani A, Mishra J. et al. 2006. Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney Transplantation. *American journal of transplantation*. 6(7):1639-1645.
- Peres LA, Cunha Júnior AD, Schäfer AJ. et al. 2013. Biomarkers of acute kidney injury. *Jornal brasileiro de nefrologia*. 35(3):229-36.
- Rudolph WG, Corvalan EO. 1992. Urinary and serum gamma glutamyl transpeptidase in relation to urinary pH and proteinuria in healthy thorough bred horses in training. *Equine Veterinary Journal*. 24(4):316-317.
- Schley G, Köberle C, Manuilova E. et al. 2015. Comparison of Plasma and Urine Biomarker Performance in Acute Kidney Injury. *Public Library of Science one*. 10(12):0145042.
- Schwartz GJ, Furth SL. 2007. Glomerular filtration rate measurement and estimation in chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology*. 22(11):1839-1848.
- Shemin D, Dworkin LD. 2011. Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for early acute kidney injury. *Critical care clinics*. 27(2):379-389.

Slocum JL, Heung M, Pennathur S. 2012. Marking renal injury: can we move beyond serum creatinine?. Translational research: *the journal of laboratory and clinical medicine*. 159(4):277-289

Sirota JC, Klawitter J, Edelstein CL. 2011. Biomarkers of acute kidney injury. *Journal of toxicology*. [epub ahead of print]

Steinbach S, Weis J, Schweighauser A. et al. 2014. Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in dogs with acute kidney injury or chronic kidney disease. *Journal of veterinary internal medicine*. 28(2):264-9.

Tenderenda-Banasiuk E, Wasilewska A, Taranta-Janusz K. et al. 2013. Asymmetric and symmetric dimethylarginine in adolescents with hyperuricemia. *Disease markers*. 35(5):407-412.

Trall MA, Weiser G, Allison RW. et al. 2015. Bioquímica clínica em animais domésticos. In: Trall MA, Weiser G, Allison RW. et al. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. 2. Ed. São Paulo: Roca. pp. 689-806..

Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS. et al. 2005. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *Journal of the American Medical Association*. 294(7):8-13

Urbschat A, Obermüller N, Haferkamp A. 2011. Biomarkers of kidney injury. *Biomarkers: biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals*. 16 (1): 22-30

Zhou X, Ma B, Lin Z et al. 2014. Evaluation of the usefulness of novel biomarkers for drug-induced acute kidney injury in beagle dogs. *Toxicology and applied pharmacology*. 280(1):30-35.