

AVALIAÇÃO LABORATORIAL E DE ESTRESSE OXIDATIVO DE FELINOS COM AZOTEMIA PRÉ-RENAL

LABORATORY EVALUATION OF OXIDATIVE STRESS IN FELINES WITH PRE-RENAL AZOTEMIA.

¹SIQUEIRA, Lucas Ariel Florentino; ¹BELISARIO, Luis Gustavo Ferreira; ²SILVA, Maria Fernanda Cazini da; ²SILVA, Cristiane Laurindo da; ²DORTI, Thais Oliveira da Silva; ²LIMA, Rafael Xavier Benito de; ³RODELLA, Maryanna Carolina Nemet, ³NAZARI, Raquel Richter; ³BOSCULO, Maria Rachel Melo ^{1,3}ALMEIDA, Breno Fernando Martins de

¹ Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Marília (Unimar), Marília, São Paulo, Brasil.

² Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos (Unifio/FEMM), Ourinhos, São Paulo, Brasil.

³ Centro Médico Veterinário Roque Quagliato, Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos (Unifio/FEMM), Ourinhos, São Paulo, Brasil.

RESUMO

O desequilíbrio na produção de radicais livres, associado à deficiência dos sistemas antioxidantes, resulta em condições de estresse oxidativo (EO), um fenômeno que ocasiona em lesões celulares progressivas e irreversíveis. O objetivo deste estudo foi investigar as alterações laboratoriais e de biomarcadores de EO em felinos com azotemia de origem pré-renal. Foram selecionados 20 felinos divididos igualmente em dois grupos: grupo controle, composto por felinos sem alterações clínicas e laboratoriais; e grupo azotêmicos, composto por felinos sem alterações clínicas significativas e que apresentaram aumento de creatinina ($>1,8$ mg/dL) e/ou ureia (>64 mg/dL). As variáveis foram testadas quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e as diferenças entre grupos pelos testes t não pareado ou Mann-Whitney, sendo significativas quando $p < 0,05$. Felinos azotêmicos apresentaram aumento significativo de ureia, ALT, globulinas, proteínas totais e monócitos, sem alterações hematológicas e nos indicadores de EO. Conclui-se que a azotemia pré-renal não induziu alterações significativas nos marcadores de estresse oxidativo utilizados no presente estudo, além de alterar de maneira inespecífica alguns marcadores bioquímicos.

Palavras-chave: gato; ureia; creatinina; antioxidante; oxidante.

ABSTRACT

The imbalance in the production of free radicals, associated with a deficiency in antioxidant systems, results in conditions of oxidative stress (OS), a phenomenon that leads to progressive and irreversible cellular damage. The aim of this study was to investigate laboratory alterations and OS biomarkers in felines with pre-renal azotemia. Twenty felines were selected and equally divided into two groups: control group, composed of felines without clinical or laboratory abnormalities; and azotemic group, composed of felines without significant clinical alterations but presenting increased creatinine (>1.8 mg/dL) and/or urea (>64 mg/dL). Variables were tested for normality using the Shapiro-Wilk test, and differences between groups were assessed using the unpaired t-test or Mann-Whitney test, with significance set at $p < 0.05$. Azotemic felines showed a significant increase in urea, ALT, globulins, total proteins, and monocytes, without hematological alterations or changes in OS indicators. It is concluded that pre-renal azotemia did not induce significant alterations in the oxidative stress markers assessed in this study, besides causing nonspecific changes in some biochemical parameters.

Keywords: cat; urea; creatinine; antioxidant; oxidant.

INTRODUÇÃO

Alguns dos radicais livres correspondem a espécies reativas derivadas do oxigênio conhecidas popularmente como espécies reativas de oxigênio (EROs), que

apresentam um perfil instável e altamente reativo associadas ao metabolismo aeróbico natural do organismo, que se somam aos demais radicais livres advindos de diferentes mecanismos geradores, tornando-se moléculas deletérias ao organismo, gerando o desequilíbrio dos níveis de radicais livres em relação aos sistemas de defesa antioxidante (Ozbek, 2012; Small *et al.*, 2012; Ling *et al.*, 2018), fenômeno conhecido como estresse oxidativo (Velloso, 2021).

A produção excessiva de EROs e a ineficiência do sistema antioxidante dão condições para o desenvolvimento do estresse oxidativo, acelerando o envelhecimento celular e aumentando a suscetibilidade a inúmeras afecções, distúrbios inflamatórios, cardiovasculares, neurológicos e metabólicos, elevando a vulnerabilidade e risco de mortalidade (Simas, 2019).

Quando aplicamos a análise dos biomarcadores de estresse oxidativo em animais azotêmicos, sabe-se que uma grande porcentagem de animais que apresentam alterações nos níveis de ureia e creatinina sérica apresentam afecções de origem renal (azotemia renal). A doença renal crônica (DRC), por exemplo, está associada a um estado persistente de estresse oxidativo, concomitante a processos inflamatórios (Oberg *et al.*, 2004; Bartges, 2012; Amdur *et al.*, 2016; Machowska *et al.*, 2016; Zoccall *et al.*, 2017; Raj *et al.*, 2020).

Considerando outros tipos de azotemia, há diversos fatores que corroboram para a ocorrência da azotemia pré-renal, podendo estar relacionada a dietas hiperproteicas, aumento do catabolismo proteico, desidratação, doenças cardíacas, entre outros. O estresse oxidativo está acompanhado em casos de insuficiência renal em humanos (Rysz *et al.*, 2004), gatos (Keegan *et al.*, 2010) e cães (Silva, 2011), tornando relevante investigar se fenômeno semelhante ocorre em condições azotêmicas de origem pré-renal.

Com este propósito, o presente estudo buscou avaliar parâmetros laboratoriais e de estresse oxidativo em felinos com azotemia pré-renal.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos (Unifio) sob protocolo número 01/2024 e a inclusão dos animais ocorreu mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelo tutor do animal.

Foram selecionados 76 felinos oriundos de tutores na região de Ourinhos-SP, de diversas idades, sexos e padrões raciais, sendo submetidos à avaliação laboratorial com hemograma e perfil bioquímico (albumina, proteína total, globulina, creatinina, ureia, alanina aminotransferase - ALT e gama glutamiltransferase - GGT). Após avaliação clínica e laboratorial, os felinos foram divididos em dois grupos experimentais:

- Grupo controle: composto por dez felinos hígidos sem alteração dos parâmetros clínicos e laboratoriais, pareados seguindo-se as categorias etárias dos felinos azotêmicos;
- Grupo azotêmicos: composto por dez felinos sem alterações clínicas evidentes que apresentaram aumento nos valores séricos de ureia (> 64 mg/dL) e/ou creatinina ($>1,8$ mg/dL);

Em todos os grupos, foram selecionados somente animais domiciliados, que se alimentam exclusivamente de ração comercial, que não faziam uso de medicação alguma, não possuíam histórico prévio de doença, não eram obesos e não possuíam alterações clínicas evidenciadas pelos seus tutores. O exame físico consistiu na aferição da frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal com termômetro digital e tempo de preenchimento capilar.

O sangue foi colhido por punção jugular (cerca de 3 mL) e acondicionado em tubos com K₂EDTA (BD Vacutainer®, Becton-Dickson, New Jersey, USA) para a realização do hemograma e em tubo com ativador de coágulo (BD Vacutainer®, Becton-Dickson, New Jersey, USA) para obtenção de soro para demais análises. O tubo destinado à obtenção de soro foi centrifugado 20 min após a colheita e todo o processamento da amostra ocorreu na ausência de luz, sendo as amostras armazenados a -20°C sob proteção da luz até o momento das determinações.

Para realização do hemograma, as contagens totais de hemácias, leucócitos e plaquetas, determinação do hematócrito, teor de hemoglobina, amplitude de distribuição eritrocitária (RDW), concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM) e volume corpuscular médio (VCM) foram realizadas em contador automatizado de células veterinário (ABX Micros ESV 60, Paris, França) previamente verificado com controles comerciais níveis baixos, normal e alto (ABX Minotrol 16, Paris, França). A contagem diferencial de leucócitos, estimativa de plaquetas por campo e avaliação morfológica de hemácias, leucócitos e plaquetas, foram realizados em esfregaço sanguíneo corado com corante hematológico comercial (Instant-Prov,

Newprov, Pinhais, PR, Brasil), seguindo-se recomendações de Jain (1986). O teor de proteína plasmática total (PPT) foi determinado em refratômetro portátil (ATAGO, Mod. Master-SUR-NM, Tokio, Japan).

O estresse oxidativo foi avaliado pela mensuração da CAT por quatro diferentes metodologias, da COT, da determinação dos antioxidantes ácido úrico e albumina, segundo metodologia previamente descrita (Almeida *et al.*, 2013; Almeida *et al.*, 2017). A CAT foi determinada em bioquímico automatizado (SX-260, Sinnova Medical, China), sendo que o primeiro método foi o da capacidade antioxidante equivalente a trolox pela inibição da redução do cátion *2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid* (ABTS, CAT-ABTS) descrito por Erel (2004), o segundo método foi pela inibição da redução do cátion ABTS associado à peroxidase (CAT-ABTS+HRP) descrita por Rubio *et al.* (2016a), o terceiro pela capacidade antioxidante cúprica redutora (CAT-CUPRAC) descrito em cães por Rubio *et al.* (2016b) e o quarto pela capacidade de redução férrica do plasma (CAT-FRAP) descrito por Benzie e Strain (1996). A COT foi determinada em bioquímico automatizado pelo método colorimétrico do xilenol laranja descrito por Erel (2005).

Todos os reagentes foram provenientes da Sigma Aldrich Chemical Co. As variáveis foram testadas quanto à normalidade (Teste de Shapiro-Wilk) e as diferenças entre os grupos foram verificadas pelos testes de t não-pareado ou Mann-Whitney. Todas as análises estatísticas foram efetuadas em programa computacional (GraphPad Prism, v.6.00 para Windows, GraphPad Software, La Jolla, CA, USA, www.graphpad.com), sendo considerados significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionados 10 felinos hígidos como controle, e 10 felinos com os níveis de creatinina e ureia elevados caracterizando uma azotemia de origem pré-renal, domiciliados, oriundos da região de Ourinhos-SP, a distinção quanto idade mínima, média, máxima, sexo e padrão racial estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição dos grupos de felinos selecionados segundo número de animais, sexo, faixa etária e padrão racial.

Característica	Controle	Azotêmicos
Idade		
Idade mínima	4 meses	4 meses
Idade média	7 anos	7 anos
Idade máxima	15	15
Média e desvio-padrão	7,7 ± 4,2 anos	7,7 ± 4,2 anos
Sexo		
Fêmeas	80%	60%
Machos	20%	40%
Estado Gonadal		
Castrados	100%	90%
Não castrados	0%	10%
Padrão Racial		
Sem raça definida	100%	80%
Persa	0%	20%

A análise do eritrograma não revelou diferenças significativas entre os grupos na concentração de eritrócitos, teor de hemoglobina, hematócrito, CHCM, VCM e RDW (Figura 1). A análise da série vermelha permite estabelecer informações importantes que podem ser utilizadas para classificação do tempo de evolução da doença renal, auxiliando na conduta terapêutica (Galvão *et al.*, 2010). Em animais com doença renal crônica é comum observar quadros de anemias não regenerativas normocíticas normocrômicas devido à deficiência de eritropoetina circulante (Teixeira *et al.*, 2023), cuja intensidade varia de acordo com a severidade da doença (Brum, 2012). Tais resultados demonstram que os felinos com azotemia de origem pré-renal selecionados apresentaram eritrograma semelhante a animais hígidos da mesma espécie, não apresentando evidência de anemia ou eritrocitose.

Ao se avaliar o leucograma, felinos azotêmicos apresentaram maior contagem de monócitos que os felinos controles, porém ainda dentro do intervalo de referência para a espécie. Não foram observadas diferenças significativas para os parâmetros leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos, eosinófilos e basófilos (Figura 2). As variações no leucograma podem aparecer de acordo com a severidade do estágio da doença renal, em que alterações como leucopenia ou leucocitose são frequentemente encontradas em animais com doença renal em estágios mais avançados (Brum, 2012). O aumento de células de defesa, associado ao estresse oxidativo, podem ser fatores desencadeantes, uma vez que a mieloperoxidase (MPO) é uma heme proteína produzida pelo metabolismo dos monócitos. Ela é uma enzima liberada pela degranulação dos leucócitos durante o processo de fagocitose de

antígenos e resposta inflamatória, sendo um marcador de estresse oxidativo endotelial (Velloso, 2013). Logo o aumento de monócitos em animais azotêmicos está relacionado a quadros inflamatórios concomitantes, nos quais animais nefropatas tendem a apresentar alterações significativas na contagem diferencial de leucócitos (Krofič Žel, 2024), enfatizando que os animais selecionados no presente estudo não parecem apresentar quadro inflamatório evidente.

Quanto aos valores do plaquetograma e PPT não foram observadas diferenças significativas entre os grupos (Figura 3). Brum *et al.* (2012) em seu estudo sobre os parâmetros laboratoriais de animais com doença renal crônica destacou a ausência de alterações significativas no plaquetograma, indicando que os níveis de plaquetas em animais azotêmicos e animais sadios são semelhantes, como observado no presente estudo. Em animais urêmicos, é recorrente encontrar agregados plaquetários durante a análise de esfregaço, porém mantendo os valores de plaqueta ainda dentro dos intervalos de referência (Benson, 2021). Já em relação aos níveis de proteínas plasmáticas, não há distinção dos valores entre felinos azotêmicos e sadios, não podendo associar a PPT como marcadora discriminante na progressão da azotemia em felinos (Chakrabarti, 2012).

Nos parâmetros bioquímicos de avaliação renal, o grupo de animais azotêmicos apresentou maiores níveis de ureia (Figura 4B) que o grupo controle, sem diferença significativa para creatinina (Figura 4A). A hipovolemia é um dos fatores principais da azotemia de origem pré-renal. A elevação do hormônio antidiurético (ADH) no organismo faz com que haja retenção de líquidos através da retenção de sódio, estímulo este que cria um ciclo de retroalimentação positiva para retenção de ureia, aumentando a concentração de ureia, diminuindo também a excreção desse substrato. Para controle efetivo dos níveis de líquido há uma resposta compensatória inicial que ocorre nos túbulos renais, aumentando a reabsorção de água e outros eletrólitos nas regiões dos túbulos proximais e distais em função do sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, culminando em maior reabsorção tubular e consequentemente a diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG), ocasionando no aumento nos biomarcadores ureia e creatinina em animais azotêmicos (Blantz, 1998).

Considerando os demais parâmetros bioquímicos, foi possível evidenciar maiores valores de proteínas totais (Figura 5J) e globulinas (Figura 5I) e maior atividade sérica de ALT (Figura 5A) em felinos azotêmicos em relação aos felinos

controle, sem diferenças significativas nos demais parâmetros bioquímicos avaliados (Figura 5). O aumento na concentração de proteínas totais está muito provavelmente relacionado à hemoconcentração, na qual a hiperproteinemia é um resultado da concentração de proteínas plasmáticas por perda de água do plasma. Essa perda de água em animais azotêmicos pré-renais pode estar associada com a perda do fluído extracelular em quadros de vômitos, diarreia, restrição hídrica, transpiração, perda insensível pela respiração, aumento da permeabilidade vascular combinado com as perdas normais, o que pode colaborar para a concentração do sangue dando origem a uma hiperproteinemia (Stockham *et al.*, 2011), ressaltando que os animais do presente estudo não apresentaram alterações clínicas significativas.

O aumento de globulina observado em felinos azotêmicos do presente estudo corrobora com os achados de Vetter (2023) em felinos com estomatite e azotemia. As globulinas são marcadores de inflamação aguda, de forma que gatos que apresentam alterações nos níveis de ureia e creatinina frequentemente também apresentam processos inflamatórios, nos quais é esperado que haja um aumento significativo nos níveis de globulina proveniente de respostas inflamatórias sistêmicas. Além disso, assim como a hiperproteinemia, a hiperglobulinemia em animais azotêmicos também pode existir hemoconcentração, na qual há uma perda de fluidos extracelulares por diversos mecanismos isolados ou simultâneos, causando o aumento das quantidades de proteínas totais, albumina e globulina (Stockham *et al.*, 2011). Estes fatores justificam os aumentos das proteínas totais e dos valores de globulina em felinos com azotemia pré-renal, nos quais a alteração destes parâmetros na grande maioria dos casos está relacionada, primeiramente, a hemoconcentração causada pela desidratação e, posteriormente, a processos inflamatórios secundários.

A maior atividade sérica de ALT em felinos azotêmicos observada no presente estudo também poderia ser, mesmo que parcialmente, explicada pela hemoconcentração. A desidratação pode ser a causa da alteração de diversos parâmetros laboratoriais, inclusive das enzimas utilizadas como marcadoras de hepatopatias, levando a resultados falsamente elevados. Ainda sobre a dosagem de enzimas em amostras hemoconcentradas, os resultados dos exames laboratoriais podem estar dentro do intervalo de referência (DIR), mas ainda refletir um estado patológico, devendo sempre levar com relevância o estado clínico do paciente (Stockham *et al.*, 2011). A literatura sugere que o aumento crônico de cortisol por

estresse, comum em felinos, pode levar a elevações leves a moderadas na atividade de ALT. Segundo Van Vertloo e Carnevale (2024), cães e gatos com excesso iatrogênico ou natural de cortisol sérico comumente desenvolvem uma “hepatopatia esteroide”, caracterizada por um aumento dos valores de ALT durante períodos de hipercortisolismo persistente. Porém, quando trata-se do estresse agudo durante a coleta, o incremento de cortisol de forma aguda não é suficiente para provocar alterações nas enzimas hepáticas, sendo mais comumente observadas alterações no eritrograma, leucograma e hiperglicemia transitória (Pavlova, 2018). Por fim, conclui-se que o aumento de ALT no grupo dos felinos azotêmicos está mais relacionada à hemoconcentração, causada pela diminuição do volume plasmático em decorrência a perda de fluidos extracelulares em animais desidratados;

Em relação aos biomarcadores de EO, não foram identificadas diferenças significativas entre os grupos para os parâmetros avaliados ácido úrico, albumina, bilirrubinas direta e total, CAT-ABTS, CAT-ABTS+HRP, CAT-CUPRAC, CAT-FRAP, COT e peroxidação lipídica determinada pelas TBARS (Figura 6). Galvão (2014) relatou que há uma tendência de aumento da peroxidação lipídica e diminuição expressiva no potencial antioxidante em pacientes caninos com doença renal crônica, visto que esta condição está associada a uma azotemia de origem renal. Entretanto, conforme observado no presente estudo, tais alterações parecem não se aplicar a felinos com azotemia pré-renal. Esses resultados indicam que as azotemias de origem pré-renal em felinos não tendem a causar desequilíbrio na produção de EROs e nos níveis dos mecanismos antioxidantes do organismo, não podendo ser relacionada a fatores concomitantes de estresse oxidativo.

Figura 1 - Eritrócitos (A), Hemoglobina (B), Hematócrito (C), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (D), Volume Corpuscular Médio (E) e amplitude de distribuição eritrocitária (RDW) (F) em felinos controle saudáveis (n=10) e felinos com azotemia pré-renal (n=10) diagnosticados a partir de perfil bioquímico. As barras indicam valores mínimos e máximos e o quadro representa o primeiro e terceiro quartis e a diferença estatisticamente significativa é indicada por * (p<0,05), ** (p<0,01), *** (p<0,001) ou **** (p<0,0001).

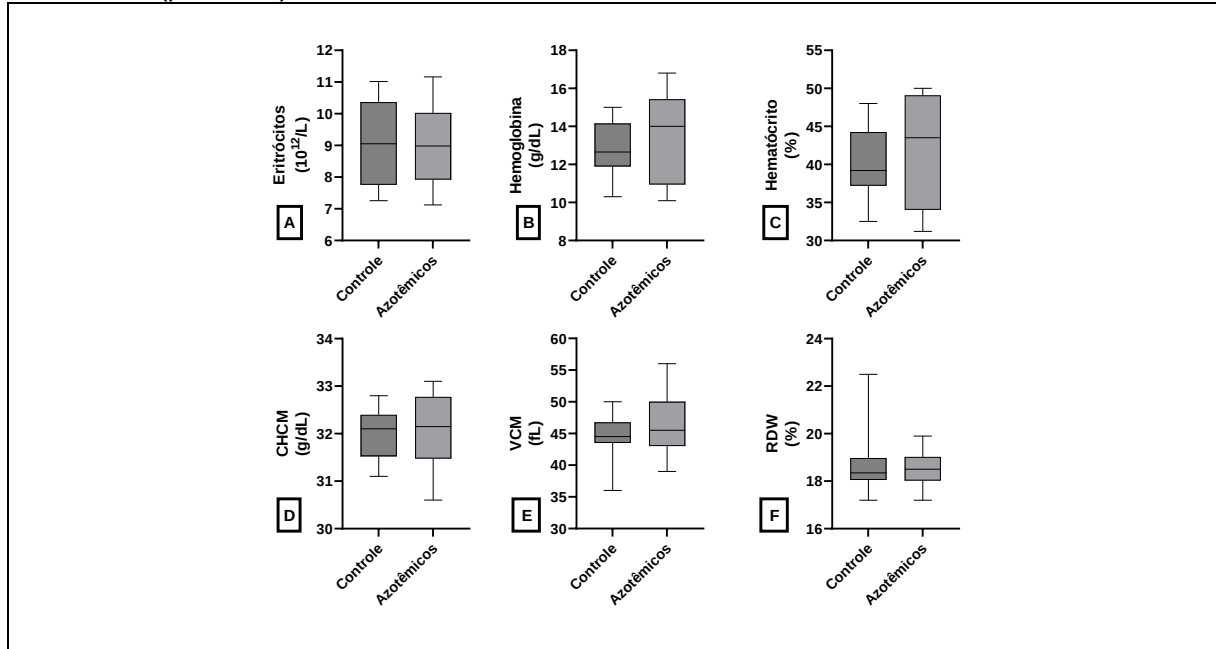


Figura 2 - Leucócitos totais (A), neutrófilos segmentados (B), linfócitos (C), monócitos (D), eosinófilos (E) e basófilos (F) em felinos controle saudáveis (n=10) e felinos com azotemia pré-renal (n=10) diagnosticados a partir de perfil bioquímico. As barras indicam valores mínimos e máximos e o quadro representa o primeiro e terceiro quartis e a diferença estatisticamente significativa é indicada por * (p<0,05), ** (p<0,01), *** (p<0,001) ou **** (p<0,0001).

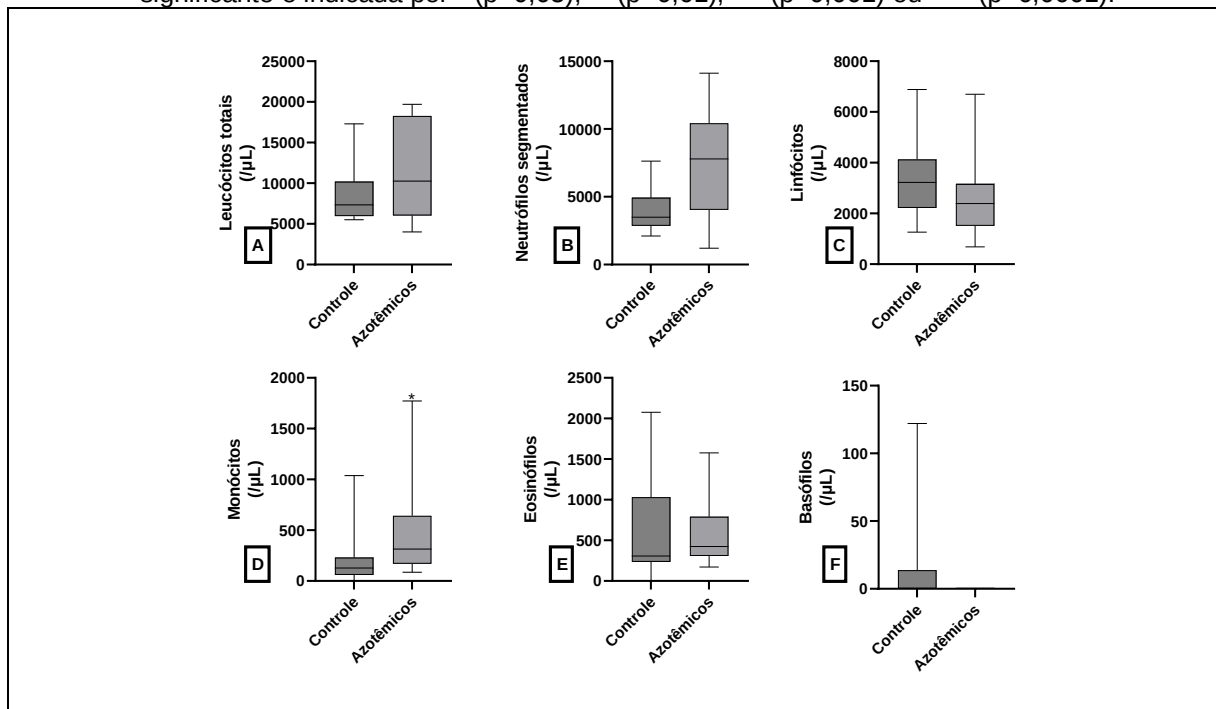


Figura 3 - Plaquetas (**A**) e proteínas plasmáticas totais (PPT, **B**) em felinos controle saudáveis (n=10) e felinos com azotemia pré-renal (n=10) diagnosticados a partir de perfil bioquímico. As barras indicam valores mínimos e máximos e o quadro representa o primeiro e terceiro quartis e a diferença estatisticamente significativa é indicada por * (p<0,05), ** (p<0,01), *** (p<0,001) ou **** (p<0,0001).

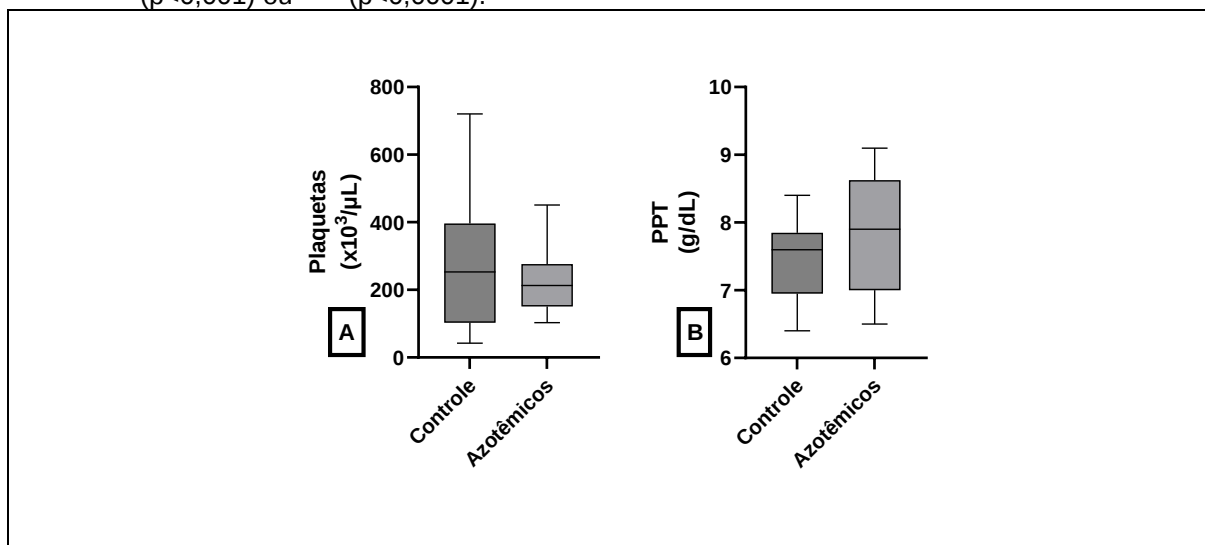


Figura 4 - Creatinina (**A**) e ureia (**B**) em felinos controle saudáveis (n=10) e felinos com azotemia pré-renal (n=10) diagnosticados a partir de perfil bioquímico. As barras indicam valores mínimos e máximos e o quadro representa o primeiro e terceiro quartis e a diferença estatisticamente significativa é indicada por * (p<0,05), ** (p<0,01), *** (p<0,001) ou **** (p<0,0001).

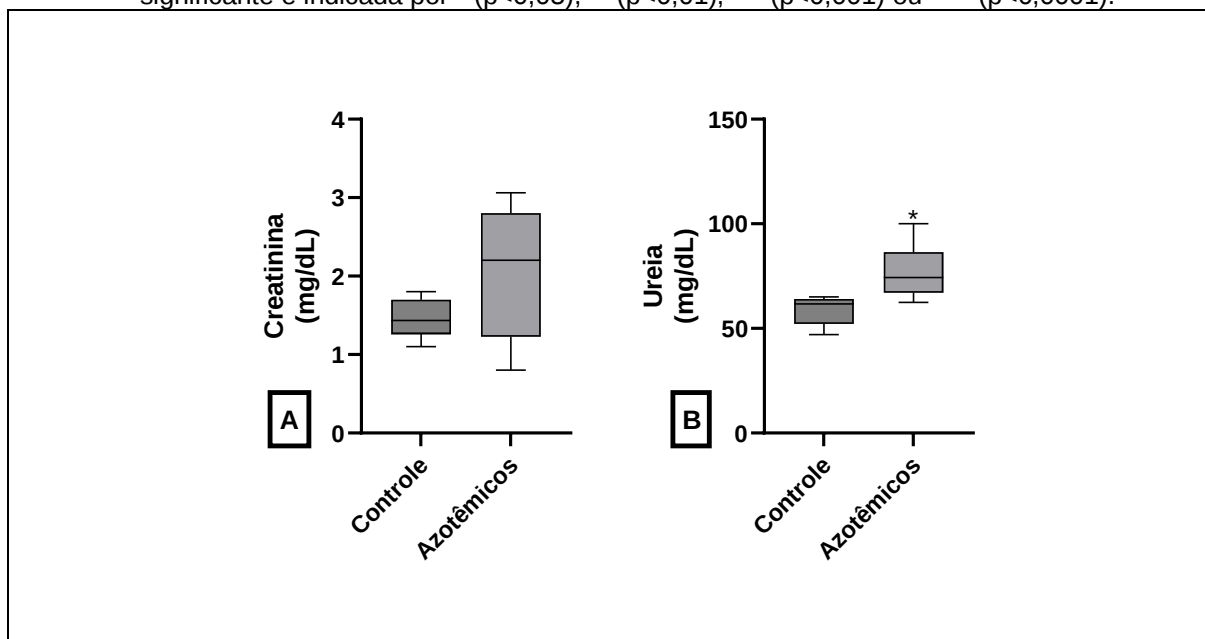


Figura 5 - Alanina aminotransferase (ALT, **A**), aspartato aminotransferase (AST, **B**), cálcio total (**C**), colesterol (**D**), fosfatase alcalina (FA, **E**), fósforo Inorgânico (**F**), gama-glutamilttransferase (GGT, **G**), glicose (**H**), globulinas (**I**), proteínas totais (PT, **J**) e triglicerídeos (**K**) em felinos controle saudáveis (n=10) e felinos com azotemia pré-renal (n=10) diagnosticados a partir de perfil bioquímico. As barras indicam valores mínimos e máximos e o quadro representa o primeiro e terceiro quartis e a diferença estatisticamente significativa é indicada por * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), *** ($p<0,001$) ou **** ($p<0,0001$).

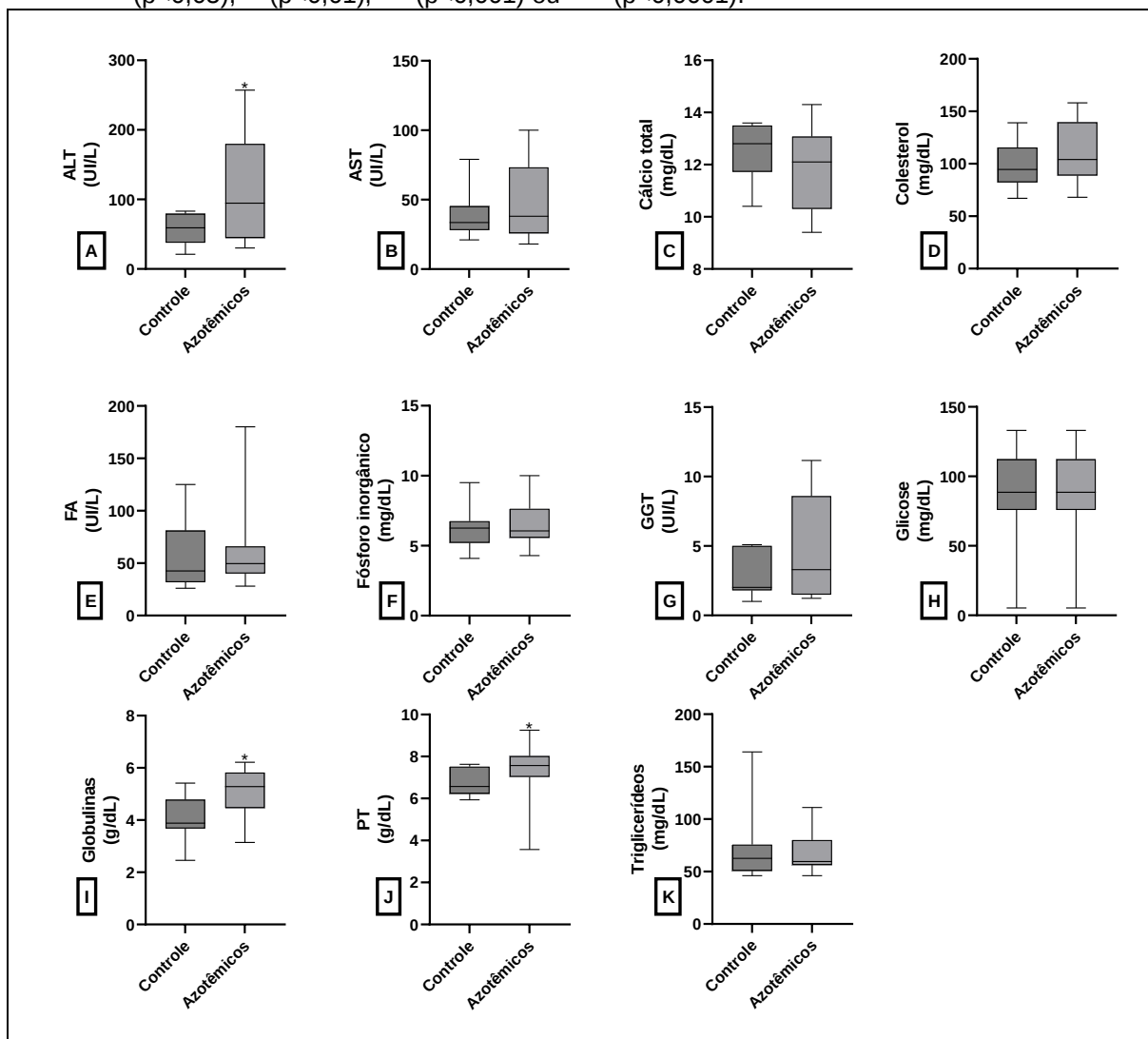
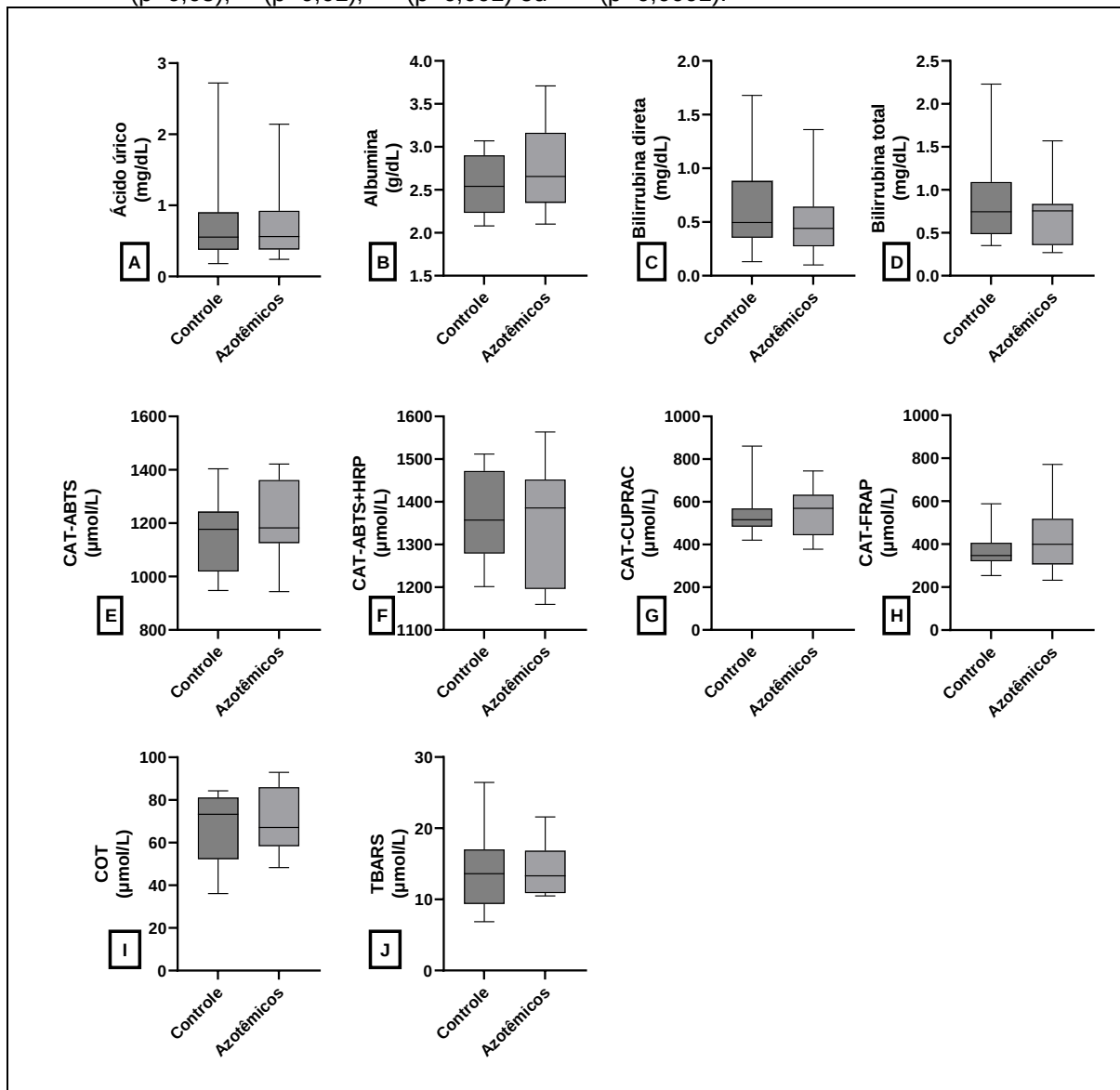


Figura 6 - Ácido úrico (A), albumina (B), bilirrubina direta (C), bilirrubina total (D), CAT-ABTS (E), CAT-ABTS+HRP (F), CAT-CUPRAC (G), CAT-FRAP (H), COT (I) e TBARS (J) em felinos controle saudáveis (n=10) e felinos com azotemia pré-renal (n=10) diagnosticados a partir do perfil bioquímico. As barras indicam valores mínimos e máximos e o quadro representa o primeiro e terceiro quartis e a diferença estatisticamente significativa é indicada por * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), *** ($p<0,001$) ou **** ($p<0,0001$).



CONCLUSÃO

Conclui-se que felinos com azotemia pré-renal apresentam alterações laboratoriais compatíveis com inflamação/desidratação, sem alteração significativa dos parâmetros de estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, B. F. M.; SILVA, K. L. O.; CHIKU, V. M.; LEAL, A. A. C.; VENTURIN, G. L.; NARCISO, L. G.; FINK, M. F. C. B.; EUGÊNIO, F. R.; SANTOS, P. S. P.; CIARLINI, P. C.; LIMA, V. M. F. The effects of increased heme oxygenase-1 on the lymphoproliferative response in dogs with visceral leishmaniasis. **Immunobiology**, v. 222, n. 5, p. 693-703, 2017.
- ALMEIDA, B.F.M.; NARCISO, L.G.; MELO, L.M.; PREVE, P.P.; BOSCO, A.M.; LIMA, V.M.; CIARLINI, P.C. Leishmaniasis causes oxidative stress and alteration of oxidative metabolism and viability of neutrophils in dogs. **Veterinary Journal**, v.198, p.599–605, 2013.
- BENSON, Kellyi K. et al. Evaluation of platelet function in cats with and without kidney disease: a pilot study. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 23, n. 8, p. 715-721, 2021.
- BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v.239, p.70–76, 1996.
- BLANTZ, R. C. Pathophysiology of pre-renal azotemia. **Kidney International**, v. 53, n. 2, p. 512-523, 1998.
- BRUM, A. M.; CINTRA, P. P.; MAMÃO, L. D.. Perfil eritrocitário e leucocitário de cães com doença renal crônica em relação à severidade da azotemia. **Veterinária Notícias**, v. 18, n. 1, 2012.
- CHAKRABARTI, S.; SYME, H. M.; ELLIOTT, J. Clinicopathological variables predicting progression of azotemia in cats with chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 2, p. 275-281, 2012.
- EREL O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. **Clinical Biochemistry**, v.37, p.277–285, 2004.
- EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clin Biochem.**, v. 38, p. 1103–1111, 2005.
- GALVÃO, A. L. B. **Estresse oxidativo em cães com doença renal crônica**. 95 f. (Tese de Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Jaboticabal, 2014.
- GALVÃO, A. L. B.; BORGES, J. C.; VIEIRA, M. C.; FERREIRA, G.; LÉGA, E.; PINTO, M. Alterações clínicas e laboratoriais de cães e gatos com doença renal crônica: revisão da literatura. **Nucleus Animalium**, v. 2, n. 1, p. 23-40, 2010.
- KEEGAN, R.F.; WEBB, C.B. Oxidative stress and neutrophil function in cats with chronic renal failure. **J. Vet. Inter. Med.**, v.24, p.514-519, 2010.
- KROFIČ ŽEL, Martina et al. Hemogram-derived inflammatory markers in cats with chronic kidney disease. **Animals**, v. 14, n. 12, p. 1813, 2024.

OBERG, B.P.; MCMENAMIN, E.; LUCAS, F.L. et al. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. **Kidney International**. v.65, p.1009-1016, 2004.

OZBEK, E. Induction of Oxidative Stress in Kidney. **International Journal of Nephrology**, 2012.

PAVLOVA, Ekaterina V. et al. The method matters: The effect of handling time on cortisol level and blood parameters in wild cats. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology**, v. 329, n. 3, p. 112-119, 2018.

ROSA, D. B. S. K. **Avaliação do estresse oxidativo em cães com doença renal crônica**. 95 f. (Tese de Doutorado em Ciência Animal) – Curso de Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

RUBIO, C. P.; ARNAO, M. B.; CERON, J. J.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J.; MARTINEZSUBIELA, S.; TVARIJONAVICIUTE, A. Validation of three automated assays for total antioxidant capacity determination in canine serum samples. **Journal Of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 28, n. 6, p. 693-698, 2016b.

RUBIO, C. P.; CERON, J.J.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J.; MARTINEZ-SUBIELA, S.; TVARIJONAVICIUTE, A. Validation of an automated assay for the measurement of cupric reducing antioxidant capacity in serum of dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 12, p. 137, 2016c.

RUBIO, C. P.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J.; MARTINEZ-SUBIELA, S.; TVARIJONAVICIUTE, A.; CERON, J.J. Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: an update. **BMC Veterinary Research**, v. 12, n. 166, 2016a.

RYSZ, J.; KASIELSKI, M.; APANASIEWICZ, J. et al. Increased hydrogen peroxide in the exhaled breath of uraemic patients unaffected by haemodialysis. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v.19, p.158-163, 2004.

SILVA, A. C. R. A. et al. Estresse oxidativo e aumento do apoptose em neutrófilos de cães com azotemia pré-renal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, p. 163-170, 2013

SILVA, A.C.R.A. **Estresse oxidativo, produção de superóxido e a apoptose de neutrófilos de cães urêmicos**. 54f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2011.

SIMAS, L. A. W.; GRANZOTI, R. O.; PORSCHE, L. Estresse oxidativo e o seu impacto no envelhecimento: uma revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 2, n. 2, p. 80, 2019.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Fundamentos de patologia clínica veterinária. **Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap**, v. 8, p. 368-375, 2011.

TEIXEIRA, C. M.; RIBEIRO, B. M.; FERREIRA, M. E. O. ABORDAGEM CLÍNICA DA DOENÇA RENAL CRÔNICA EM CÃES. **Revista Agroveterinária do Sul de Minas**, v. 5, n. 1, p. 92-108, 2023.

TUCHOLSKI, I. R. **Anemia na doença renal crônica: revisão de literatura e relato de caso**. 98 f., Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2018.

VAN VERTLOO, L.; CARNEVALE, J. **Cushing Syndrome. (Hyperadrenocorticism) in Animals**, 2024. MSD Veterinary Manual. Retrieved August 30, 2025, from <https://www.msdsvetmanual.com/endocrine-system/the-adrenal-glands/cushing-syndrome-hyperadrenocorticism-in-animals>

VELLOSA, J. C. R.; et al. Alterações metabólicas e inflamatórias em condições de estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 3, 2013.

VELLOSA, J. C. R.; et al. Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10152-10168, 2021.

VETTER, C. A. M.; et al. Cross-sectional characterization of renal function in cats with caudal stomatitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 25, n. 6, p. 1098612X231179883, 2023.