

La patologia clinica nelle nefropatie del cane e del gatto



Le nefropatie nel cane e nel gatto rappresentano una sfida per il medico veterinario, in quanto sono numerosi i meccanismi eziopatogenetici che possono essere coinvolti, così come sono vari i tempi di insorgenza, la localizzazione del danno renale e la sintomatologia clinica associata. Sebbene una diagnosi morfologica del danno renale possa essere ottenuta quasi esclusivamente tramite valutazione istologica, gli esami di laboratorio possono già fornire un aiuto importante nella diagnosi precoce di patologia renale, sia acuta che cronica, oltre che nella scelta dell'iter terapeutico e nel monitoraggio della progressione della malattia stessa.

INTRODUZIONE

Le patologie renali rappresentano un importante e comune riscontro nella pratica medica veterinaria degli animali da compagnia. Trattandosi di malattie spesso progressive e con una mortalità rilevante, necessitano di una diagnosi quanto più precoce possibile, al fine di permettere al medico veterinario e al proprietario di gestire il paziente, rallentare l'evoluzione della patologia renale e ridurre la sequela di problemi clinici associati con la perdita della funzione renale stessa. Il danno renale può essere acuto (Acute Kidney Injury, AKI), o definito come malattia renale cronica (Chronic Kidney Disease, CKD); inoltre la sede primaria dell'insulto patologico può essere glomerulare, tubulo-interstiziale o a carico della pelvi e delle basse vie urinarie (Tabella 1). Spesso nelle forme croniche, indipendentemente dalla tipologia di insulto primario, si assiste ad un successivo coinvolgimento di diverse porzioni del nefrone e dei tessuti interstiziali, tali da causare una marcata riduzione di molti processi omeostatici del rene (es. ultrafiltrazione, riassorbimento tubulare, modulazione dell'equilibrio acido-base, produzione di ormoni, regolazione della pressione arteriosa, mantenimento dell'equilibrio idrico, ecc.). La presentazione clinica e le anomalie clinico-patologiche ad essa associate possono risultare molto differenti e la sintomatologia è spesso aspecifica (es. anoressia,



Mattia Ridolfi
Med Vet, GPCert (DL)



Walter Bertazzolo
Med Vet, Dipl ECVCP

Il tempo d'insorgenza e la sede primaria del danno renale influenzano la presentazione clinica e le alterazioni clinico-patologiche associate, spesso varie ed aspecifiche.

vomito, poliuria/polidipsia, dimagrimento, ecc.), pertanto la diagnosi definitiva di patologia renale è basata su rilievi clinici, sui risultati degli esami di laboratorio ed altri riscontri di diagnostica collaterale^{1,2,3}. Lo scopo di questa review è pertanto quello di fornire le informazioni più rilevanti ed aggiornate sull'utilizzo della patologia clinica nella diagnosi delle malattie renali nella pratica quotidiana, evidenziandone utilità, vantaggi e limiti. Cercheremo di focalizzare l'attenzione sulle analisi di laboratorio di comune utilizzo nella pratica, rimandando a specifica letteratura i possibili biomarker di danno renale e velocità di filtrazione glomerulare (VFG) più re-

Laboratorio di Analisi Veterinarie MYLAV, Via Sirtori, 9 - 20017 Passirana di Rho (MI) - Italia

Corresponding author: mattia.ridolfi@libero.it

Ricevuto: 03/05/2022 - Accettato: 02/07/2022

centi ma ancora poco o non disponibili in routine (Tabella 2)^{4,5,6,7,8,9}.

ESAME EMOCROMOCITOMETRICO

L'esame emocromocitometrico può mostrare alcune anomalie, seppur non specifiche, secondarie ad un danno renale. Ciò non capita, tuttavia, nelle forme ad evoluzione acuta, in cui le conte cellulari ematiche non mostrano alterazioni rilevanti, se non quelle associate all'eziologia sottostante l'AKI. In corso di CKD, invece, non è raro riscontrare un'anemia normocitica normocromica non rigenerativa solitamente da lieve a moderata, multifattoriale^{3,10}. Il meccanismo principale è rappresentato da una

riduzione della produzione di eritropoietina (EPO) da parte delle cellule iuxtaglomerulari¹¹; altri possibili cofattori che possono peggiorare il quadro ematologico sono associati all'effetto tossico di alti livelli di uremia sulla produzione midollare e alla diminuzione dell'emivita eritrocitaria (che può ridursi circa del 50%)², oltre che alle perdite ematiche a livello gastroenterico causate da danni vascolari. Altri fattori da prendere in considerazione sono l'alterata funzionalità piastrinica con maggiore tendenza alle micro-emorragie o formazione di ulcere gastro-enteriche^{10,12}, la carenza assoluta e/o funzionale di ferro e di altri elementi nutritivi, secondaria alla sottostante infiammazione/malattia cronica ed anoressia^{13,14} e l'esecuzione di prelievi ematici multipli negli animali ospedalizzati per lungo tempo¹⁵. Da un punto di vista ematologico, il tipo di anemia è alquanto "silente", nel senso che non mostra alterazioni importanti degli indici eritrocitari o alterazioni morfologiche dei globuli rossi. È possibile osservare una tendenza ad una

Nei pazienti nefropatici cronici l'anemia ha un'origine multifattoriale, di grado variabile in base anche ai meccanismi coinvolti.

Tabella 1 - In tabella sono riportate le sedi primarie del danno renale, con possibili cause eziologiche e le rispettive alterazioni fisiopatologiche e riscontri clinico-patologici più comuni		
Sede del danno primario	Anomalie fisiopatologiche primarie e conseguenze	Rilievi di laboratorio più significativi
Glomerulo (es. glomerulonefrite, amiloidosi glomerulare)	Proteinuria persistente Riduzione dell'albumina plasmatica e della pressione colloidale-osmotica (possibile sviluppo di sindrome nefrosica) Successivo coinvolgimento di interstizio e tubuli renali con possibile sviluppo tardivo di insufficienza renale cronica	Aumento marcato e persistente del PU/CU Ipoalbuminemia Ipercolesterolemia Possibile presenza di cilindri ialini nel sedimento urinario
Tubulo ed interstizio (es. Leptosirosi, intossicazioni, sindrome di Fanconi)	Riduzione del riassorbimento e degli scambi tubulo/interstizio Se persistente, possibile coinvolgimento di altre strutture renali con possibile sviluppo di insufficienza renale	Variabile perdita di sostanze non riassorbite (es. proteine a basso peso molecolare, glucosio, chetoni, elettroliti) Perdita della capacità di concentrazione delle urine Presenza di cilindri nel sedimento urinario Sviluppo di azotemia
Pelvi e basse vie urinarie (es. pielonefrite, ostruzione al flusso di urina con idronefrosi, ecc.)	Ostruzione al flusso tubulare di urina Infezione/infiammazione del tessuto renale Insufficienza renale acuta e cronica	Sviluppo di azotemia acuta o cronica e di alterazioni correlate (es. iperfosfatemia) Segni di infezione delle vie urinarie (batteriuria, leucocituria, ematuria, presenza di cilindri)

Tabella 2 - Esempi di biomarker renali più recenti e con potenziali sviluppi futuri

Tipo di biomarker	Significato clinico-patologico	Note
Cystatin C (urinaria o sierica)	Marker di VFG negli stadi precoci di patologia renale Aumento per ridotto riassorbimento secondario a danno tubulare prossimale	Non sembra offrire risultati superiori a quelli della creatinina
Retinol-binding protein (RBP) (urinaria)	Marker di danno tubulare Aumenta progressivamente negli stadi avanzati di danno renale	Elevata variabilità intra-individuale soprattutto nei gatti con CKD ed ipertiroidismo
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) (urinaria)	Marker di flogosi e danno tubulare acuto	Poco specifico (es. in caso di piuria o ematuria) Possibile influenza di patologie sistemiche
Kidney injury molecule-1 (KIM-1) (urinaria)	Marker di danno tubulare acuto	Pochi dati sull'utilità in corso di CKD

modesta microcitosi, come in altre patologie croniche/infiammatorie^{1,11}. Quando si valuta la concentrazione eritrocitaria (RBC, ematocrito ed emoglobina), è importante metterla in relazione al grado di idratazione del paziente: in molti casi l'entità dell'anemia può essere mascherata dallo stato di disidratazione del soggetto. Pertanto, l'emogramma va correlato alla stima della disidratazione clinica, la concentrazione delle proteine plasmatiche e degli elettroliti e deve essere monitorato durante la fluidoterapia: il ripristino della corretta quota idrica potrebbe svelare gradi di anemia molto più severi di quelli osservati in prima presentazione². Condizione opposta, seppur rara, è il rilievo di eritrocitosi secondaria inappropriata: si tratta di un marcato aumento dell'"eritrone" (ovvero della quota totale degli eritrociti circolanti) e quindi di RBC, ematocrito ed emoglobina, dovuto ad un aumento della produzione di EPO in assenza di una condizione ipossica. Tale situazione può insorgere in caso di tumori renali/perirenali o lesioni di natura non neoplastica (es. cisti renali): il meccanismo supposto in queste situazioni, è una ridotta percezione della pressione arteriosa di O₂ da parte dei recettori iuxta-glomerulari, che producono di conseguenza una quantità di EPO inappropriatamente alta per il mantenimento dell'omeostasi eritrocitaria^{1,3}.

Le alterazioni dei leucociti sono solitamente aspecifiche e non sempre presenti. Una neutrofilia matura associata a linfopenia e/o monocitosi può indicare una risposta da stress in corso di CKD, mentre una neutrofilia da moderata a grave con left shift ed alterazioni morfologiche associate a tossicità dei granulociti neutrofili (es. schiumosità o basofilia citoplasmatica, granulazioni tossiche, corpi di Dohle) può essere presente in caso di

flogosi/infezioni renali^{2,16}.

Le piastrine, infine, non subiscono solitamente alterazioni numeriche se non in corso di gravi infezioni con coinvolgimento renale, come accade ad esempio nei casi di leptospirosi, dove può essere presente una grave trombocitopenia^{2,17,18}. Anche se numericamente nella norma, le piastrine possono presentare, probabilmente a causa di tossine uremiche presenti in circolo, anomalie di funzionalità quali alterata adesività ed aggregazione, ridotta retrazione del coagulo e ridotta produzione di trombossano^{2,13}.

I disordini emostatici in corso di CKD sono legati principalmente ad un'alterazione della funzionalità piastrinica piuttosto che a variazioni numeriche delle piastrine stesse, mentre la coagulazione viene poco influenzata.

COAGULAZIONE

Come già sottolineato in precedenza, non è raro riscontrare disordini dell'emostasi e predisposizione a sanguinamenti, soprattutto in corso di CKD. Le anomalie della funzionalità piastrinica generalmente non alterano i più comuni tempi di coagulazione misurati, quali il tempo di protrombina (PT) ed il tempo di tromboplastina parziale attivata (aPTT); un parametro utile nella valutazione dell'emostasi primaria e che può risultare prolungato in questi casi, invece, è il tempo di sanguinamento della mucosa buccale (BMBT), di norma < 3 min nel cane e nel gatto ma raramente utilizzato nella pratica clinica^{1,2}. Quando è presente un importante danno glomerulare che altera le capacità di filtrazione e selettività renale, è possibile riscontrare una perdita urinaria di Antitrom-

bina III (AT III), proteina di produzione epatica con un peso molecolare simile a quello dell'albumina (69 kDa) e con attività antitrombotica; la sua attività plasmatica può risultare significativamente diminuita in queste patologie. Infatti, in caso di nefropatie proteino-disperdenti, si può assistere ad un passaggio nell'ultrafiltrato glomerulare di albumina ed altre proteine, tra le quali l'AT III che non può essere riassorbita a livello tubulare. La ridotta attività di AT III associata ad ipoalbuminemia può indurre iperaggregazione piastrinica: si viene quindi a creare uno stato pro-trombotico, che nei casi più gravi può condurre anche a coagulazione intravasale disseminata (CID); in quest'ultimo caso, se si giunge ad una fase di scompenso, si può osservare un prolungamento dei tempi di coagulazione (PT e aPTT), una riduzione della concentrazione di fibrinogeno, la cui degradazione, insieme a quella della fibrina, causa un aumento dei prodotti di degradazione della fibrina (FDP) e dei D-dimeri^{1,13,19,20}. I risultati della tromboelastografia (TEG) eseguita in cani con nefropatie proteino-disperdenti hanno confermato la tendenza all'ipercoagulabilità²¹. Un aumento della concentrazione di fibrinogeno circolante, in quanto proteina di fase acuta, è viceversa possibile in corso di una condizione flogistica sistemica che coinvolga primariamente o secondariamente il rene³.

CHIMICA CLINICA

La misurazione biochimica di alcuni analiti sierici/plasmatici è il cardine nella diagnosi delle patologie renali. Alcuni analiti hanno valore storico ma sono ancora estremamente attuali, mentre nuovi biomarker di funzionalità renale vengono continuamente studiati, al fine di valutarne una possibile applicazione clinica in routine.

Indicatori di funzionalità renale.

La **creatinina sierica** è senza dubbio il parametro storicamente e clinicamente più utile nella valutazione della funzionalità renale, in particolare del grado di VFG; su di essa si basa la stadiazione dell'International Renal Interest Society (IRIS)²² (Tabelle 3 e 4) di AKI e CKD sia nel cane che nel gatto. Tuttavia, questo analita ha lo svantaggio di avere una ridotta sensibilità: la concentrazione di creatinina inizia ad aumentare oltre l'intervallo di riferimento quando circa il 60-70% dei nefroni è compromesso e quindi la VFG è ormai ampiamente diminuita²³. Va anche considerato che il rapporto tra la VFG e la creatinina è di tipo esponenziale e graficamente rappresentato da un'iperbole (Figura 1): nelle fasi iniziali di danno renale, importanti diminuzioni della VFG sono accompagnate da lievi aumenti della concentrazione sierica

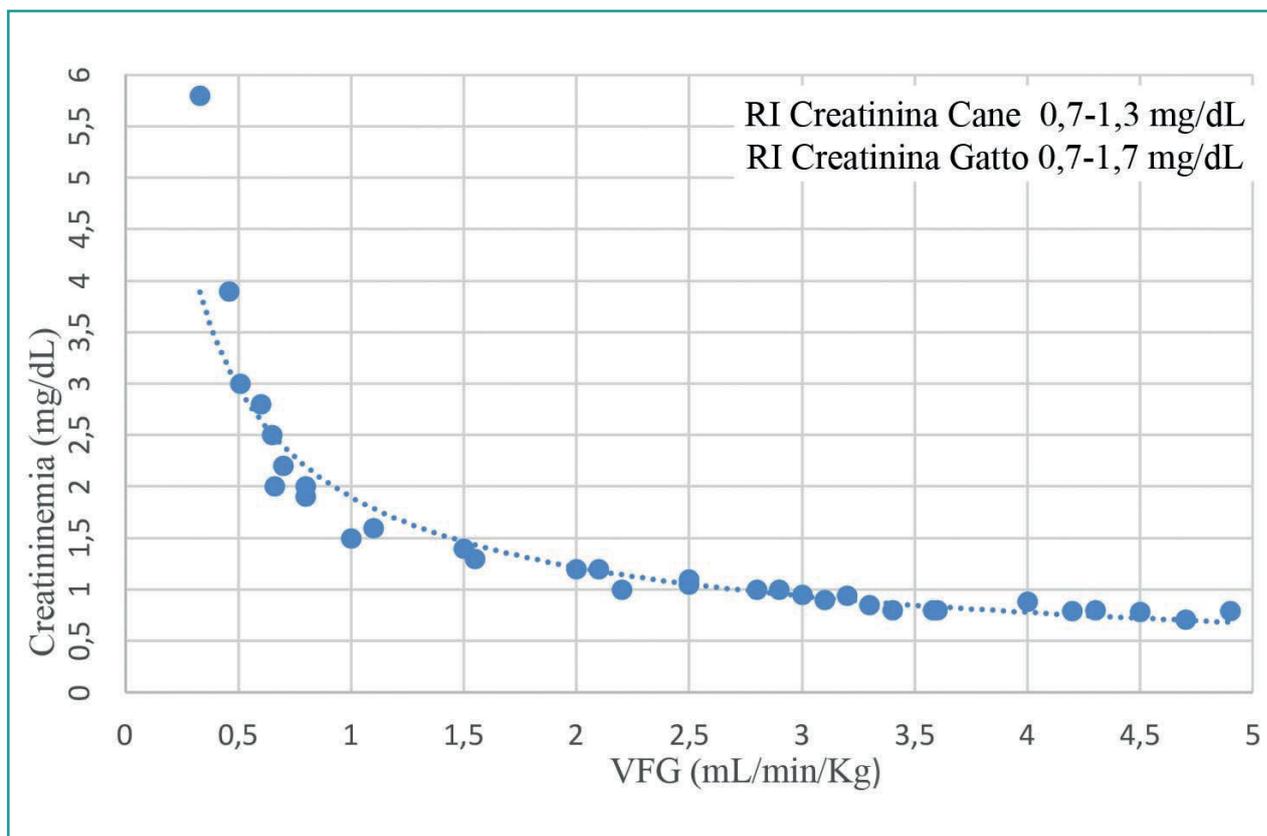


Figura 1 - Esempio di correlazione tra VFG e creatininemia. Dal grafico si può osservare come inizialmente riduzioni rilevanti della VFG siano accompagnate da lievi aumenti della creatininemia, mentre nelle fasi avanzate anche solo piccole diminuzioni della VFG possono essere causa di importanti incrementi della concentrazione sierica di creatinina.

rica di creatinina, a causa dell'elevata capacità compensatoria del parenchima renale funzionante, mentre nelle fasi più avanzate lievi alterazioni della VFG possono corrispondere a marcati incrementi di creatininemia²⁴. Altre caratteristiche della creatinina sierica da tenere in considerazione sono l'alta variabilità analitica tra laboratori e metodiche e la sua variabilità biologica inter-individuale: sebbene sia caratterizzata da una bassa variabilità biologica intra-individuale (ovvero prove ripetute sullo stesso paziente in giorni diversi tendono a condurre a risultati costanti se misurata sempre con la stessa procedura), le differenze tra individui sani possono invece essere molto marcate. Ad esempio, è ben conosciuto l'effetto della massa muscolare (cosiddetta "lean-body mass"): i cani con muscolatura più massiccia e di grossa taglia possono avere una creatininemia maggiore, mentre pazienti molto magri o cachettici, possono avere valori di creatininemia sottostimati. La creatinina è, infatti, un prodotto del metabolismo della creatina di derivazione muscolare¹⁰. Altro effetto ben noto è quello della variabilità di razza: i Levrieri per la specie canina e il Somalo, Siberiano, Sacro di Birmania e Siamese per quella felina, sono le razze segnalate che possono presentare concentrazioni fisiologicamente più alte di creatinina. Trattandosi, però, di un analita con bassa variabilità intra-individuale, anche piccoli aumenti progressivi nel tempo (del 20-30% circa) in un singolo paziente possono indicare una compromissione della funzione renale, anche in pazienti con creatininemia ancora all'interno dell'intervallo di riferimento^{25,26,27,28}.

La creatininemia può aumentare in tutte le condizioni in cui la VFG si riduca: questo aumento può essere poco marcato in corso di AKI pre-renale, definito anche fluido-responsivo secondo le linee guida IRIS²², legato a disidratazione o riduzione della gittata cardiaca, situazioni potenzialmente reversibili. Ovviamente in corso di AKI intrinseco o post-renale (es. ostruzione al flusso di urina nelle alte/basse vie urinarie o uroperitoneo), l'aumento della creatininemia risulta particolarmente marcato come conseguenza di ridotta VFG ed eliminazione dei metaboliti azotati con le urine, o del loro riassorbimento peritoneale in caso di rottura delle vie urinarie stesse^{1,2,3}.

Le concentrazioni di creatinina ed urea aumentano quando circa i 2/3 dei nefroni sono compromessi e possono essere influenzate anche da numerosi fattori extra-renali.

Come la creatinina, anche l'urea aumenta in corso di danno renale e riduzione della VFG, quando almeno il 75% dei nefroni sono compromessi. Numerosi sono, tuttavia, i fattori extrarenali che possono influenzare la concentrazione plasmatica di urea (es. riduzione della sintesi epatica, ridotta perfusione d'organo sistemica, diete iperproteiche, emorragie gastroenteriche). Per quest'ultimi motivi l'urea è un analita poco specifico per la diagnosi di AKI e CKD^{1,3}.

Il rapporto urea/creatinina potrebbe essere utile nell'identificare l'origine dell'azotemia: infatti in casi di origine renale urea e creatinina tendono ad aumentare proporzionalmente, mentre in caso di azotemia pre-renale l'urea tende ad aumentare in maniera maggiore rispetto alla creatininemia. Tuttavia, la sovrapposibilità dei valori in condizioni renali ed extrarenali riduce sensibilmente l'utilità diagnostica e clinica di questa ratio¹.

L'incremento di creatinina ed urea non permette di distinguere AKI da CKD, sebbene rapidi aumenti in breve tempo (ore o giorni) tendano ad identificare un deficit funzionale acuto^{2,3,22}.

La **dimetilarginina simmetrica (SDMA)** è stata recentemente introdotta in ambito veterinario quale biomarker di diagnosi e previsione di progressione di nefropatia più sensibile della creatinina: questa sostanza viene infatti prodotta in maniera costante da tutte le cellule nucleate dei tessuti e viene eliminata quasi esclusivamente dal rene. È, inoltre, meno influenzata da altri fattori (es. catabolismo della massa muscolare o malattie concomitanti, come l'ipertiroidismo nel gatto)²⁹. Studi preliminari hanno evidenziato la capacità dell'SDMA, rispetto alla creatinina, di diagnosticare una diminuzione della funzionalità renale diversi mesi prima del corrispondente aumento della creatininemia (in media, circa 10 mesi nel cane e di 17 nel gatto)^{30,31}. Questi dati non sono tuttavia stati confermati da studi più recenti nel cane

Tabella 3 - Stadiazione IRIS di malattia renale cronica (CKD) nel cane e nel gatto basata sulle concentrazioni di creatinina e SDMA

Stadio	Valore creatinina nel cane (mg/dl)	Valore SDMA nel cane (µg/dl)	Valore creatinina nel gatto (mg/dl)	Valore SDMA nel gatto (µg/dl)
1	< 1.4	< 18	< 1.6	< 18
2	1.4 - 2.8	18 - 35	1.6 - 2.8	18 - 25
3	2.9 - 5.0	36 - 54	2.9 - 5.0	26 - 38
4	> 5.0	> 54	> 5.0	> 38

Tabella 4 - Grading IRIS di danno renale acuto (AKI) nel cane e nel gatto basato sulla concentrazione di creatinina

Grado	Valore creatinina (mg/dl)
I (AKI non azotemica)	< 1.6
II (AKI lieve)	1.7 – 2.5
III (AKI da moderata a severa)	2.6 – 5.0
IV (AKI da moderata a severa)	5.1 – 10.0
V (AKI da moderata a severa)	> 10.0

e nel gatto, in cui la creatinina e l'SDMA hanno mostrato simili performance diagnostiche^{32,33}.

Rispetto alla creatinina l'SDMA ha una variabilità biologica intra-individuale maggiore, per cui prelievi effettuati in giorni diversi a pazienti stabili in termini di funzione renale possono avere valori di SDMA con variazioni fino al 60%, come riportato in studi eseguiti sulla popolazione felina^{30,34,35,36,37}. Come già detto per la creatinina e l'urea, l'incremento dell'SDMA non permette di distinguere l'origine dell'iperazotemia (pre-renale, renale o post-renale), né di intuirne l'evoluzione in un evento acuto o cronico³⁸. Di recente, per tutti questi motivi, l'SDMA è stata inserita come analita essenziale per la stadiazione IRIS, sempre in correlazione con la creatinemia²².

Altri analiti biochimici influenzati dalla funzione renale.

Negli animali con gravi nefropatie proteino-disperdenti, è comune osservare ipoalbuminemia secondaria alla perdita renale. In questi casi è altrettanto comune il rilievo di iper-colesterolemia probabilmente dipendente da uno shift biosintetico epatico verso lipoproteine ad alto contenuto in colesterolo^{1,25,39,40}.

Diversi analiti inclusi nei comuni profili biochimici sono influenzati dal grado di funzionalità renale: gli enzimi pancreatici amilasi e lipasi tendono ad accumularsi nel plasma in caso di riduzione della VFG e quindi della loro escrezione renale. Una situazione sovrapponibile interessa i fosfati che spesso aumentano nelle varie forme di AKI (pre-renale, renale e post renale). Sebbene l'iperfosfatemia sia solitamente proporzionale alla riduzione della VFG e più marcata in stadi avanzati di CKD o in corso di AKI, non è raro osservare normo-fosfa-

temia in stadi precoci di CKD^{1,41,42}.

La calcemia è profondamente influenzata dalla funzionalità renale, non solo per quanto riguarda l'escrezione dello ione stesso, ma anche perché il rene è coinvolto in complessi fenomeni omeostatici che coinvolgono calcio, fosfati, vitamina D e paratormone. Nella valutazione della calcemia sarebbe opportuno valutare la frazione ionizzata (libera, fCa) del calcio in quanto forma biologicamente attiva e non sempre proporzionale alla concentrazione del calcio totale, che rimane tuttavia quella comunemente misurata nei profili biochimici; in corso di CKD è possibile, ad esempio, il rilievo di concentrazione elevata di calcio totale in associazione a livelli normali o ridotti della frazione ionizzata. L'aumento del calcio totale è conseguente a più meccanismi fisiopatologici: ridotta escrezione renale, aumento del calcio legato a proteine e ad anioni inorganici che si accumulano nel plasma. Tuttavia, in molti casi questa ipercalcemia totale si accompagna a livelli di calcio libero subnormali, a causa della complessazione calcio-fosfati ed altri anioni. Anche in corso di AKI si può osservare sia ipercalcemia che ipocalcemia (ad esempio nell'avvelenamento da glicole etilenico, in cui i metaboliti tossici che si formano a causa della trasformazione del glicole, possono causare grave acidosi metabolica e marcata ipocalcemia da complessazione). Mentre nei pazienti ipocalcemici si osserva solitamente una riduzione del calcio totale e di quello ionizzato, nei pazienti con ipercalcemia riferita al calcio totale, la frazione libera può essere imprevedibile (normale, ridotta o aumentata), in quanto l'aumento del valore totale potrebbe essere variabilmente influenzato dalla frazione di calcio complessata e da quella legata alle proteine^{1,3,43}.

Per quanto riguarda il profilo sideremico, nel cane la concentrazione di ferro totale non viene significativamente influenzata in corso di CKD a vario stadio di gravità, mentre nel gatto è stata dimostrata una tendenza alla carenza di ferro^{14,44}. Trattandosi di un oligoelemento la cui concentrazione può ridursi significativamente in corso di flogosi, è ovvio che nei pazienti nefropatici affetti da concomitanti patologie infiammatorie urinarie o extra-urinarie si possa osservare una significativa ipo-sideremia³. La transferrina, invece, misurata nel siero indirettamente attraverso la sua capacità di legare il ferro come TIBC (Total Iron Binding Capacity), può ridursi a causa di una aumentata perdita urinaria e/o da una ipo-produzione conseguente a malnutrizione. La perdita renale di transferrina, infatti, è spesso associata a quella dell'albumina, in quanto le due proteine hanno un peso molecolare simile (circa 80 kDa per la transferrina e 69 kDa per l'albumina)³.

È fondamentale valutare la calcemia ionizzata (fCa), in quanto forma biologicamente attiva, in quanto non sempre proporzionale alla concentrazione del calcio totale.

ELETTROLITI ED EMOGAS

I disturbi dell'equilibrio acido-base nei pazienti nefro-

patici possono essere variabili, complessi e multifattoriali: non dipendono infatti solo dall'alterata funzionalità renale ma anche da complicanze ad essa associata (disidratazione, emesi, diarrea, anoressia, ecc.). Trattandosi di valutazioni eseguite in ambito di emergenza e monitoraggio dei pazienti critici, la valutazione approfondita dell'equilibrio acido-base ed emogas esula da questa review. Va ricordato tuttavia che in generale, in corso di AKI e CKD è caratteristico lo sviluppo di acidosi metabolica^{2,13}. Per quanto concerne gli elettroliti principali, se nelle forme di AKI (in particolare se oliguriche/anuriche) c'è una tendenza alla ritenzione del potassio (iperkalemia), a causa della ridotta escrezione dello ione, in corso di CKD sussiste la tendenza opposta, ovvero l'ipokalemia, per eccessiva perdita causata dalla poliuria; quest'ultimo riscontro è più frequente e conclamato nella specie felina, mentre in quella canina maggiore è lo stadio IRIS CKD maggiore è la tendenza all'iperkalemia. Sodio e cloro tendono invece a rispecchiare maggiormente lo stato di idratazione, con possibile aumento nei pazienti poliurici disidratati o con riduzione in quelli oligurici/anurici con ritenzione di acqua; in questi ultimi casi, l'aumento del volume plasmatico può determinare un conseguente sovraccarico volumetrico, a causa della ridotta filtrazione glomerulare^{1,3,45}.

VITAMINE ED ORMONI

L'iperparatiroidismo secondario renale, quindi un aumento del PTH (paratormone) circolante, è una delle complicanze più frequenti nei pazienti con CKD. La riduzione del calcio libero (fCa) conseguente a complessazione con gli anioni inorganici che si accumulano nei fluidi extracellulari (es. fosfati) in associazione ad ipovitaminosi D stimola, tramite feedback negativo, una secrezione cronica di PTH, con conseguenti iperplasia ed ipertrofia delle paratiroidi (Figura 2). Anche una sua ridotta clearance e metabolizzazione renale contribuisce all'aumento della concentrazione sierica di PTH^{1,3,13,46,47}. Questo adattamento omeostatico è importante ai fini dell'evoluzione della patologia renale, in quanto è stato osservato che la prevalenza di iperparatiroidismo secondario renale aumenta con il progredire dello stadio CKD (da circa il 30% dello Stadio 1 IRIS al 100% dello Stadio 4)⁴⁸.

URINE

Esame chimico-fisico

L'esame chimico-fisico urinario è essenziale nella diagnosi e nella valutazione clinica delle nefropatie, in quanto rispecchia le capacità di filtrazione e riassorbimento renali. In corso di nefropatie il peso specifico urinario (PS), mi-

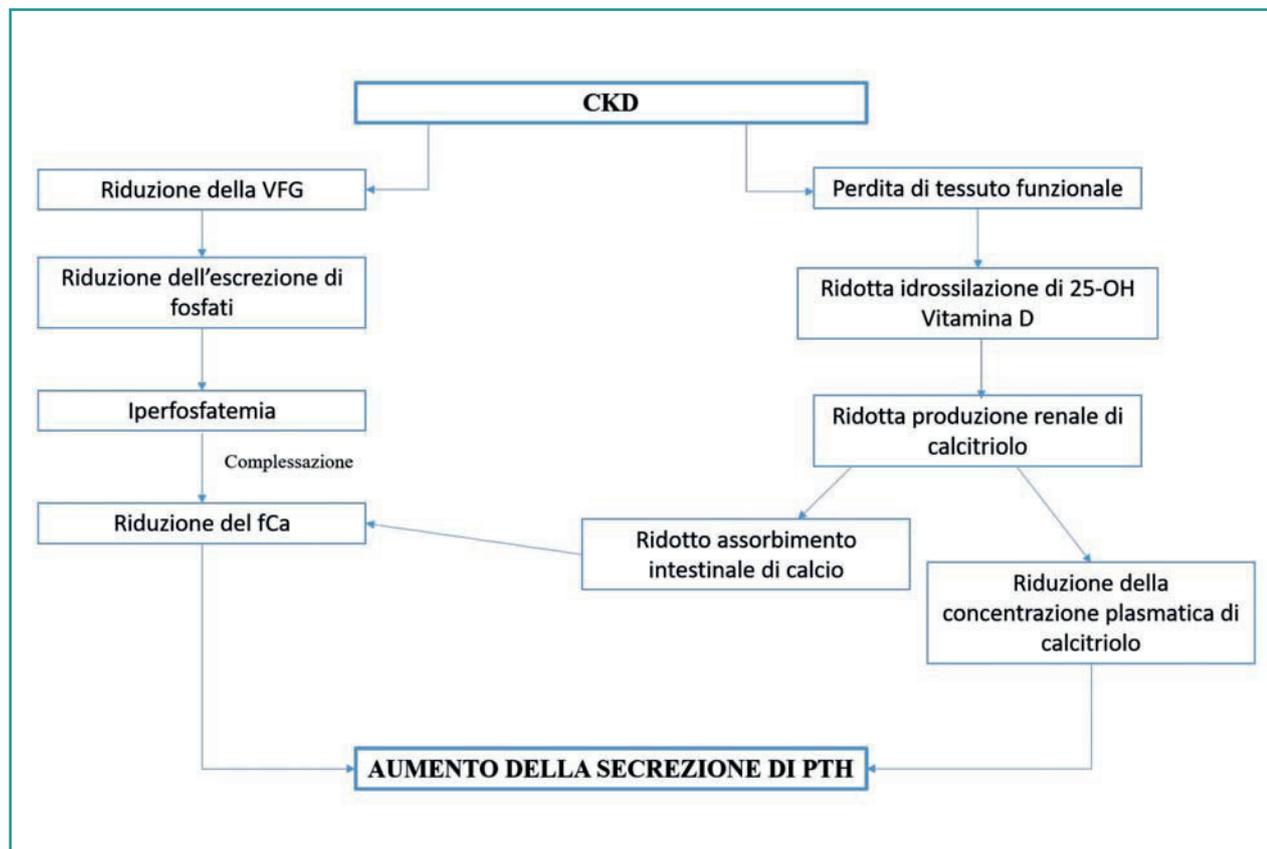


Figura 2 - Rappresentazione schematica dei meccanismi fisiopatologici coinvolti nell'iperparatiroidismo secondario renale.

surato tramite l'utilizzo di un rifrattometro, è una caratteristica fisica importante nella valutazione della capacità renale di concentrazione o diluizione dell'ultrafiltrato, sebbene la misurazione dell'osmolarità possa offrire misurazioni più accurate della concentrazione urinaria. Tuttavia, a causa della non facile misurazione dell'osmolarità e della buona correlazione tra questa ed il PS rifrattometrico, da un punto di vista clinico quest'ultimo parametro è più che sufficiente e di più facile utilizzo nella pratica.

Anche il PS urinario è influenzato dallo stato di idratazione dell'animale e va sempre osservato in relazione agli altri rilievi clinici e di laboratorio.

Nei pazienti nefropatici il PS urinario, risulta, tuttavia, relativamente poco sensibile nell'identificare una perdita di funzione renale, in quanto subisce alterazioni evidenti quando almeno i due terzi della funzionalità renale sono compromessi, non permette la distinzione tra AKI e CKD ed è influenzato da fattori extra-renali, in primo luogo lo stato di idratazione del soggetto e l'attività dell'ormone antidiuretico sui tubuli distali^{16,49}.

Nel cane un $PS > 1.030$ è indice di un'adeguata capacità di concentrare le urine; nella specie felina, invece, il valore indicato è di 1.035, sebbene alcuni abbiano proposto 1.045 in quanto molti soggetti azotemici sono in grado di mantenere urine iperstenuriche anche negli stadi iniziali di CKD.

Come già accennato il PS urinario deve essere necessariamente valutato in relazione allo stato di idratazione dell'animale; un PS urinario uguale o poco inferiore a quelli precedentemente indicati in soggetti disidratati e/o iperazotemici suggerisce un'inadeguata funzionalità renale.

Un primo segno di CKD è sicuramente la riduzione progressiva del PS urinario; in questi casi è possibile, inoltre, il riscontro di isostenuria (PS compreso tra 1.008 e 1.012) nelle fasi più avanzate. In corso di AKI il PS urinario può essere elevato, nelle forme fluid-responsive, o essere insufficientemente concentrato/isostenurico in corso di AKI intrinseco^{1,3,16}.

Una glicosuria transitoria o persistente associata a normoglicemia è riscontrabile in quei pazienti che presentano tubulopatie congenite (es. sindrome di Fanconi) o acquisite (es. tossicità da glicole etilenico o danno ischemico, leptospirosi, borreliosi, intossicazioni di varia natura, assunzione di farmaci nefrotossici, pielonefrite, acidosi tubulare), che ne riducono la capacità di riassorbimento tubulare³. La proteinuria rappresenta attualmente uno dei target più rilevanti nella gestione dei pazienti nefropatici cronici; in corso di AKI la proteinuria

è spesso influenzata dalla flogosi e da patologie concomitanti e deve essere comunque monitorata nel tempo per identificare un'eventuale persistenza o peggioramento, indicativi di progressione a CKD. Nella valutazione quali-quantitativa della proteinuria è, innanzitutto, importante escludere cause di proteinuria pre-renale (es. funzionale o da sovraccarico) e post-renale (es. patologie delle basse vie genito-urinarie) (Tabella 5). La misurazione del rapporto proteine urinarie/creatinina urinaria (PU/CU), inserito nella stadiazione IRIS, è ormai l'approccio scientificamente riconosciuto per la valutazione della proteinuria (Tabella 6). Il PU/CU va necessariamente valutato una volta escluse infezioni delle vie urinarie, ematuria o pigmenturia di altra natura che possono alterarne il valore interferendo con la metodica di laboratorio. La determinazione semi-quantitativa con strisce reattive, invece, reagisce maggiormente alle albumine rispetto alle globuline e può dare risultati falsi positivi (es. contaminazione con disinfettanti o urine troppo alcaline) o negativi (ad esempio nel gatto è meno sensibile nel rilevare perdite proteiche)^{1,3,49}. Uno studio del 2010 ha, infatti, valutato la capacità delle strisce reattive di rilevare albuminuria confrontandola con quella di una metodica ELISA specie-specifica, considerata positiva con concentrazioni di albumina > 1 mg/dl, ed ha ottenuto risultati poco soddisfacenti: se considerato un test positivo con un risultato di "tracce" o superiore la sensibilità e la specificità calcolate, infatti, sono state rispettivamente di 81,2% e 47,8% nella specie canina e di 90,1% e 11,0% in quella felina; in entrambe le specie, aumentando il cut-off delle strisce reattive da "tracce" ad un valore di 2+, è stato osservato un significativo aumento della specificità accompagnato, tuttavia, da una riduzione della sensibilità⁵⁰. Al contrario della medicina umana, dove il rapporto albumina urinaria/creatinina urinaria è molto utilizzato, in medicina veterinaria sono ancora pochi i dati clinici presenti sull'utilizzo dell'albuminuria, meritevole sicuramente di approfondimenti futuri. Il risultato semi-quantitativo delle strisce reattive va, inoltre, contestualizzato, non solo al sedimento, che in caso di ematuria e leucocituria può dare risultati falsamente elevati, ma soprattutto al PS urinario, con il quale si può stimare la presenza o l'assenza di proteinuria e di conseguenza decidere se è necessario misurare il PU/CU, come proposto da Zatelli e collaboratori in uno studio condotto nella specie canina (Tabella 7)⁵¹.

Una proteinuria persistente, in assenza di sedimento at-

Un PU/CU > 3 suggerisce un'origine glomerulare della proteinuria, sebbene la maggior parte dei pazienti nefropatici presenti una proteinuria mista glomerulo-tubulare.

Tabella 5 - Tipi di proteinuria e rispettive localizzazioni di danno e proteine rilevabili nelle urine

Tipo di proteinuria	Meccanismi fisiopatologici	Proteine presenti nelle urine
Funzionale e da sovraccarico	Aumentata permeabilità glomerulare transitoria (es. stress, esercizio fisico, febbre, convulsioni ecc.)	<= 69 kDa Emoglobina (32kDa), Mioglobina (17 kDa), proteine di Bence-Jones (monomeri 22-25 kDa, dimeri 44-50 kDa)
1) Glomerulare selettiva 2) Glomerulare non selettiva	Danno glomerulare di entità variabile	1) 69-80 kDa (es. albumina, transferrina) 2) 69-150 kDa (albumina, transferrina, immunoglobuline)
Tubulare	Danno tubulare di entità variabile	15-50 kDa (es. lisozima, α 1 e β 2 microglobuline)
Mista	Danno sia glomerulare che tubulare	12-150 kDa
Post-renale	Associata a patologie delle basse vie urinarie e genitali	Proteine di entità variabile, di possibile derivazione ematica o infiammatoria locale

tivo, è un marker di nefropatia; quando molto marcata (PU/CU>3) è indicativa di un coinvolgimento glomerulare. Nella specie felina la proteinuria è stata a lungo considerata più rara rispetto a quella canina, in quanto sono meno frequenti i danni glomerulari, più gravi e precoci di quelli tubulo-interstiziali⁵², sebbene uno studio recente abbia evidenziato un'alta prevalenza anche in soggetti apparentemente sani⁵³. Nel gatto, tuttavia, la proteinuria sembra essere un fattore di rischio per lo sviluppo di CKD ed iperazotemia, come osservato in uno studio su soggetti anziani, apparentemente sani e normoazotemici⁵⁴.

Studi recenti hanno, inoltre, dimostrato l'associazione tra gravità della proteinuria e progressione della CKD e mortalità sia nella specie canina che in quella felina. Nel cane, i soggetti con PU/CU>1 sembrano avere un rischio di crisi uremica e mortalità 3 volte maggiore rispetto a quelli con PU/CU<1. Nella specie felina, un PU/CU>0.4 sembra essere un fattore predittivo negativo di sopravvivenza^{55,56,57}.

In caso di proteinuria significativa, l'elettroforesi delle proteine urinarie su gel di agarosio (SDS-AGE) permette di identificare il peso molecolare delle proteine urinarie escrete e di conseguenza di predire, con una discreta accuratezza, la localizzazione del danno renale. La proteinuria di origine glomerulare è caratterizzata dalla presenza di proteine urinarie con peso molecolare \geq 69 kDa (es. albumina, transferrina, immunoglobuline), mentre quella tubulo-interstiziale è contraddistinta dalla presenza di proteine con peso molecolare < 69 kDa (es. α -1 microglobulina, catene leggere libere monoclonali o policlonali, β -2 microglobulina) (Figura 3).

Sebbene sia possibile il rilievo di pattern puramente glomerulari o tubulari nei soggetti nefropatici, specialmente nelle fasi iniziali, il pattern più frequentemente osservato, soprattutto nei casi con grave proteinuria, è quello mi-

Tabella 6 - Sottostadiazione IRIS di CKD nel cane e nel gatto basata sulla proteinuria

Sottostadio	Valore PU/CU nel cane	Valore PU/CU nel gatto
Non proteinurico	< 0.2	< 0.2
Proteinurico border-line	0.2 – 0.5	0.2 – 0.4
Proteinurico	> 0.5	> 0.4

sto glomerulo-tubulare a conferma del fatto che in corso di danno renale sia la componente glomerulare che quella tubulare vengono contemporaneamente e reciprocamente coinvolte^{3,58,59,60}.

Le frazioni di escrezione (Fe) degli elettroliti hanno li-

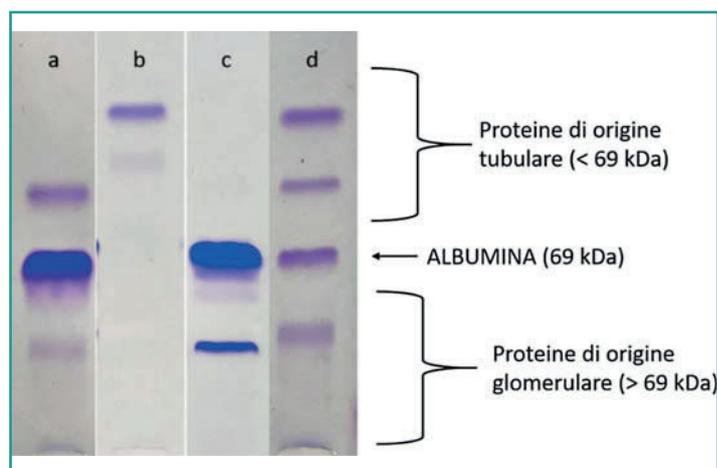


Figura 3 - Esempi di proteinuria visualizzabile con i traccianti elettroforetici delle proteine urinarie mediante metodica SDS-AGE (Sodio-Dodecil Solfato - Agar Gel Elettroforesi): (a) proteinuria mista in cane con PU/CU di 1.6; (b) proteinuria tubulare in cane con PU/CU di 1.2; (c) proteinuria glomerulare non selettiva in cane con PU/CU di 1.6; (d) tracciato di controllo peso molecolare.

Tabella 7 - Interpretazione nel cane del valore di proteinuria ottenuto con la striscia reattiva in relazione al PS urinario

Peso specifico	Valore della striscia reattiva		
	0	1+	≥ 2+
≤ 1.012	Non proteinurico	Probabile proteinurico (misurare PU/CU)	Proteinurico (misurare PU/CU)
1.012 – 1.030	Non proteinurico	Probabile non proteinurico (misurare PU/CU per conferma)	Proteinurico (misurare PU/CU)
≥ 1.030	Non proteinurico	Non proteinurico	Proteinurico (misurare PU/CU)

mitata utilità diagnostica nelle forme croniche, in quanto esiste una notevole variabilità inter/intra-individuale causata da numerosi fattori (es. età, dieta, ecc.), patologie concomitanti e somministrazione di fluidoterapia e/o farmaci^{2,3}. Con le stesse limitazioni, esse hanno invece dimostrato una applicabilità clinica e un significato prognostico nella specie canina nella differenziazione di AKI fluid-responsive reversibile da AKI intrinseco e con prognosi più sfavorevole; nelle forme fluid-responsive reversibili, infatti, i valori di Fe di elettroliti urinari sono risultati molto più bassi⁶¹.

Come già accennato, recentemente sono stati proposti nuovi biomarker di danno renale, ancora poco disponibili

in routine, ma che potranno essere d'aiuto in futuro nella pratica clinica (Tabella 2)

Esame microscopico del sedimento urinario

L'esame microscopico del sedimento urinario permette di osservare sia alterazioni peculiari e specifiche renali, sia rilievi derivanti dalle basse vie urinarie.

Ematuria, leucocituria e batteriuria sono reperti facilmente riscontrabili in corso di processi infiammatori (es. infezione delle vie urinarie/pielonefriti), traumi o neoplasie renali. In caso di urine molto diluite o con pH alcalino e non processate in tempi brevi, si può tuttavia verificare un'importante lisi delle cellule presenti: per questo

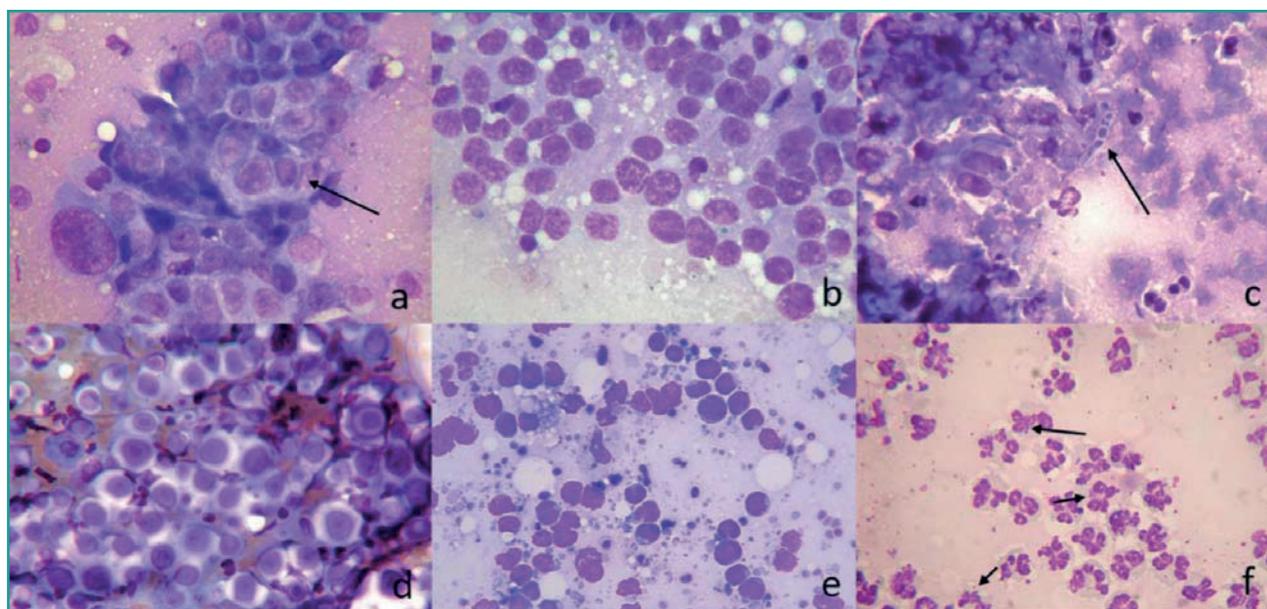


Figura 4 - Esempi di quadri citologici significativi in alcune rare condizioni patologiche renali (May-Grunwald Giemsa, 40x). (a) Adenocarcinoma: le normali cellule epiteliali renali sono sostituite in questo caso da cellule dismetriche e con marcata anisocariosi organizzate in formazioni simil-acinarie (*freccia*); (b) Carcinoma: la popolazione univoca osservata è rappresentata da cellule lassamente coese dai margini citoplasmatici poco distinti e nuclei nudi; (c) Aspergillosi: in questo campione, su fondo necrotico ed infiammatorio, sono state osservate rare ife fungine (*freccia*), identificate successivamente all'esame colturale come appartenente al genere *Aspergillus*; (d) Criptococcosi: il rilievo di numerose strutture tondeggianti con capsula sottile ed alone chiaro era suggestiva di una criptococcosi, confermata in seguito da colorazione PAS e PCR; (e) Linfoma: gatto FeLV positivo con lesione renale caratterizzata esclusivamente da cellule linfoidi atipiche di medie dimensioni; (f) Pielonefrite settica: oltre a numerosi granulociti neutrofili degenerati sono presenti non rari batteri coccoidei liberi e fagocitati (*freccie*).

motivo è possibile osservare reazioni positive ai “pad” reattivi per “sangue” e “leucociti” sulle strisce reattive ed assenza di cellule alla valutazione del sedimento^{1,49,62}. È importante anche tenere in considerazione che il pad sangue delle strisce reattive reagisce alla presenza di eritrociti, di emoglobina e di mioglobina, mentre quello dei leucociti è specifico ma poco sensibile nel cane e per nulla specifico nella specie felina, in quanto in quest’ultima possono essere presenti probabilmente altre esterasi non leucocitarie o una maggiore attività esterasica che genera numerosi falsi positivi^{1,63}.

La batteriuria, se confermata anche tramite urinocoltura su campioni ottenuti per cistocentesi (o cateterismo quando quest’ultima non è possibile), indica un’infezione delle alte e/o basse vie urinarie, quando presente sintomatologia clinica compatibile⁶⁴. Nei pazienti con sospetta pielonefrite/infezione delle vie urinarie è quindi un riscontro microscopico importante. Il ricorso ad urinocoltura è consigliato anche in assenza di segni clinici evidenti di infezione del tratto urinario, in quanto sia nel cane che nel gatto è possibile il riscontro di batteriuria subclinica/asintomatica⁶⁵.

Se presente un danno tubulare, soprattutto se ad insorgenza acuta, l’esame del sedimento urinario può mettere in evidenza la presenza di cellule epiteliali tubulari e di cilindri granulari, cerei o lipidici. I cilindri ialini, costituiti da proteine perlopiù glomerulari, possono essere la conseguenza di nefropatie proteino-disperdenti croniche, mentre i cilindri eritrocitari e leucocitari sono l’espressione di emorragia renale ed infiammazione coinvolgente i nefroni^{1,2,3,10,49}.

In corso di neoplasia renale è rara ma possibile l’osservazione di cellule con atipie morfologiche che suggeriscono una possibile derivazione neoplastica^{1,2}.

CITOLOGIA ED ISTOLOGIA

L’esame citologico può essere utile nella diagnosi di alcune lesioni renali, in particolare quelle di natura neoplastica (es. linfoma, carcinoma) o in alcune lesioni infiammatorie (es. ascessi, piogranulomi da FIP) (Figura 4). Nei casi di glomerulopatie proteinuriche è indispensabile, invece, il ricorso ad una biopsia renale e valutazione istologica, in quanto permette di distinguere quelle di origine immunomediata da quelle di natura degenerativa/cronica (es. glomerulosclerosi, amiloidosi), per un mirato approccio terapeutico. La biopsia renale, inoltre, potrebbe essere utile anche in corso di AKI e CKD. In corso di AKI, tuttavia, il ricorso all’esame biotico è spesso limitato dalle possibili gravi iperazotemie e dalle conseguenze metaboliche associate alla patologia ed alle procedure diagnostiche (es. sedazione, eventuali emorragie ecc.); nei pazienti iperazotemici con CKD ed alterazioni morfologiche renali compatibili con nefropatia cronica alla valutazione ecografica, invece, l’esito dell’esame biotico raramente impatta in maniera significativa sul percorso terapeutico e clinico della malattia. In ogni caso le tecniche biotiche istologiche non devono però basarsi solo sulla colorazione standard con ematossilina ed eosina, ma includere anche colorazioni specifiche (es. Periodic Acid Schiff, Rosso Congo), immuno-fluorescenza e microscopia elettronica^{66,67,68,69,70}. L’immunofluorescenza è una tecnica diagnostica utilizzata per rilevare la presenza e tipizzare frazioni di immunoglobuline e del complemento che compongono gli immuno-complessi a livello del glomerulo. La microscopia elettronica, invece, è una tecnica che permette di valutare la presenza di lesioni ultrastrutturali che non sono normalmente valutabili alla microscopia ottica (es. lesioni a carico di podociti o capillari glomerulari, presenza e localizzazione di depositi o emboli lipidici ecc.)⁷¹.

PUNTI CHIAVE

- La diagnosi precoce di nefropatia, sia AKI che CKD, attraverso i rilievi clinici e le alterazioni degli esami di laboratorio, è fondamentale per intraprendere un percorso terapeutico adeguato e rallentare la progressione del danno renale stesso.
- Aumenti delle concentrazioni sieriche di creatinina, urea e SDMA non permettono la distinzione tra AKI e CKD, sebbene rapidi incrementi possano far sospettare un danno acuto
- Un incremento progressivo della creatininemia o proteinuria persistente ed una riduzione progressiva del PS urinario sono marker di CKD.
- La stadiazione IRIS CKD si basa sulle concentrazioni di creatinina e SDMA; la sottostadiazione valuta proteinuria e pressione arteriosa sistemica.
- La diagnosi morfologica di nefropatia è solitamente raggiunta attraverso un esame biotico associato a colorazioni specifiche, immuno-fluorescenza e microscopia elettronica.

Clinical pathology in dog and cat nephropathies

Summary

Dogs and cats' nephropathies are a major challenge for veterinarians, since there are many etiopathogenetic mechanisms that may be involved as well as various times of onset, localization of renal damage and clinical presentation. Although a morphological diagnosis of renal damage can be usually achieved through histological techniques, laboratory tests can provide an important aid in the early diagnosis of both acute and chronic renal disease and subsequently in the choice of treatment and monitoring of the disease progression.

BIBLIOGRAFIA

- Paltrinieri S, Bertazzolo W, Giordano A. *Patologia Clinica Del Cane e Del Gatto. Approccio Pratico Alla Diagnostica di Laboratorio*. Italy: Elsevier, 2010, pp 97-120.
- DiBartola SP, Westropp JL. *Urinary Tract Disorders*. In: Nelson RW, Couto CG. *Small Animal Internal Medicine*. USA: Elsevier, 2014, pp 629-712.
- Stockham SL, Scott MA. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. USA: Blackwell Publishing, 2008, pp. 415-494.
- Cobrin AR, Blois SL, Kruth SA *et al*. Biomarkers in the assessment of acute and chronic kidney diseases in the dog and cat. *Journal of Small Animal Practice* 54:647-655, 2013.
- Kongtasai T, Paepe D, Meyer E *et al*. Renal biomarkers in cats: A review of the current status in chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 36(2):379-396, 2022.
- Ghys L, Paepe D, Smets P *et al*. Cystatin C: a new renal marker and its potential use in small animal medicine. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28:1152-1164, 2014.
- Hokamp JA, Nabity MB. Renal biomarkers in domestic species. *Veterinary Clinical Pathology* 45(1):28-56, 2016.
- De Loor J, Daminet S, Smets P *et al*. Urinary biomarkers for acute kidney injury in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27(5):998-1010, 2013.
- Monari E, Troia R, Magna L *et al*. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin to diagnose and characterize acute kidney injury in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 34:176-185, 2020.
- Tripathi NK, Gregory CR, Latimer KS. *Urinary System*. In: Latimer KS. *Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Pathology*. USA: Wiley-Blackwell, 2011, pp 253-282.
- King LG, Giger U, Diserens D *et al*. Anemia of chronic renal failure in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 6(5):264-70, 1992.
- Crivellenti LZ, Borin-Crivellenti S, Fertal KL *et al*. Occult gastrointestinal bleeding is a common finding in dogs with chronic kidney disease. *Veterinary Clinical Pathology* 46(1):132-137, 2017.
- Thrall MA, Weiser G, Allison RW *et al*. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. USA: Wiley-Blackwell, 2012, pp 323-377.
- Javard R, Grimes C, Bau-Graudeault L *et al*. Acute-phase proteins and iron status in cats with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 31:457-464, 2017.
- Lynch AM, Respass M, Boll AE *et al*. Hospital-acquired anemia in critically ill dogs and cats: a multi-institutional study. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30:141-146, 2015.
- Elliott J, Grauer GF. *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*. UK: BSAVA, 2015.
- Raj J, Campbell R, Tappins. Clinical findings in dogs diagnosed with leptospirosis in England. *Veterinary Record* 189(7):452, 2021.
- Schuller S, Francey T, Hartmann K *et al*. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice* 56(3):159-179, 2015
- Wamsley HL, Alleman AR. Renal Function and Urinalysis. In: Cowell RL. *Veterinary Clinical Pathology Secrets*. USA: Elsevier, 2004, pp. 140-167.
- Braun JP, Lefebvre HP. *Kidney Function and Damage*. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. USA: Academic Press, pp 485-523.
- Lennon EM, Hanel RM, Walker JM *et al*. Hypercoagulability in dogs with protein-losing nephropathy as assessed by Thromboelastography. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27:462-468, 2013.
- IRIS CKD Guidelines Updates 2019. Available at: http://www.iris-kidney.com/guidelines/guidelines_updates_2014-2015.html. Accesso al sito 03 Gennaio 2022.
- Yerramilli M, Farace G, Quinn J *et al*. Kidney disease and the nexus of chronic kidney disease and acute kidney injury. The role of novel biomarkers as early and accurate diagnostics. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 46(6):961-993, 2016.
- Sparkes AH, Caney S, Chalhoub S *et al*. ISFM consensus guidelines on the diagnosis and management of feline chronic kidney disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 18:219-239, 2016.
- Braun JP, Lefebvre HP, Watson ADJ. Creatinine in the dog: a review. *Veterinary Clinical Pathology* 32(4):162-179, 2003.
- Ulleber T, Robben J, Nordahl KM *et al*. Plasma creatinine in dogs: intra- and interlaboratory variation in 10 European veterinary laboratories. *Acta Veterinaria Scandinava* 53:25, 2011.
- Paltrinieri S, Ibba F, Rossi G. Haematological and biochemical reference intervals of four feline breeds. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 16(2):125-136, 2014.
- Flatland B, Baral RM, Freeman KP. Current and emerging concepts in biological and analytical variation applied in clinical practice. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 34(6):2691-2700, 2020.
- Szlosek D, Robertson J, Quimby J *et al*. A retrospective evaluation of the relationship between symmetric dimethylarginine, creatinine and body weight in hyperthyroid cats. *PLoS One* 15(1):e0227964, 2020.
- Hall JA, Yerramilli M, Obare E *et al*. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28:1676-1683, 2014.
- Hall JA, Yerramilli M, Obare E *et al*. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30:794-802, 2016.
- McKenna M, Pelligand L, Elliott J *et al*. Relationship between serum iohexol clearance, serum SDMA concentration, and serum creatinine concentration in non-azotemic dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 34(1):186-194, 2020.
- Braff J, Obare E, Yerramilli M *et al*. Relationship between serum symmetric dimethylarginine concentration and glomerular filtration rate in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28:1699-1701, 2014.
- Prieto JM, Carney PC, Mller ML *et al*. Biologic variation of symmetric dimethylarginine and creatinine in clinically healthy cats. *Veterinary Clinical Pathology* 49(3):401-406, 2020.
- Baral MR, Freeman KP, Flatland B. Analytical performance goals for SDMA in cats. *Veterinary Clinical Pathology* 50(1):57-61, 2021.
- Baral MR, Freeman KP, Flatland B. Comparison of serum and plasma SDMA measured with point-of-care and reference laboratory analysers: implications for interpretation of SDMA in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 23(10):906-920, 2021.
- Relford R, Robertson J, Clements C. Symmetric dimethylarginine. Improving the diagnosis and staging of chronic kidney disease in small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 46:941-960, 2016.
- Dahlem DP, Neiger R, Scweghauser A *et al*. Plasma symmetric dimethylarginine concentration in dogs with acute kidney injury and chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 31:799-804, 2017.
- Littman MP. Protein-losing nephropathy in small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 41:31-62, 2011.
- Klosterman ES, Pressler BM. Nephrotic syndrome in dogs: clinical

- features and evidence-based treatment considerations. *Topics in Companion Animal Medicine* 26(3):135-142.
41. Chakrabarti S, Syme HM, Helliott J. Clinicopathological variables predicting progression of azotemia in cats with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 26:275-281, 2012.
 42. Barsanti JA, Lees GE, Willard MD *et al.* Urinary Disorders. In: Willard MD, Tvedten H. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. USA: Elsevier, 2004, pp 135-164.
 43. Kruger JM, Osborne CA, Nachreiner RF *et al.* Hypercalcemia and renal failure. Etiology, pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 26(6):1417-1445, 1996.
 44. Bhamarasuta C, Premratanachai K, Mongkolpinyopat N *et al.* Iron status and erythropoiesis response to darbepoetin alfa in dogs with chronic kidney disease. *The Journal of Veterinary Medicine Science* 83(4): 601-608, 2021.
 45. Elliott J, Syme HM, Reubens E *et al.* Assessment of acid-base status of cats with naturally occurring chronic renal failure. *Journal of Small Animal Practice* 44:65-70, 2003.
 46. Parker VJ, Harjes LM, Dembek K *et al.* Association of vitamin D metabolites with parathyroid hormone, fibroblast growth factor-23, calcium, and phosphorus in dogs with various stages of chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 31:791-798, 2017.
 47. De Brito Calvao, Nagode LA, Schenck PA *et al.* Calcitriol, calcidiol, parathyroid hormone, and fibroblast growth factor-23 interactions in chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 23(2):134-162, 2013.
 48. Cortadellas O, Fernandez del Palacio MJ, Talavera J *et al.* Calcium and phosphorus homeostasis in dogs with spontaneous chronic kidney disease at different stages of severity. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24:73-79, 2010.
 49. Yadav SN, Ahmed N, Nath AJ *et al.* Urinalysis in dog and cat: a review. *Veterinary World* 13(10):2133-2141, 2020.
 50. Lyon SD, Sanderson MW, Vaden SL *et al.* Comparison of urine dipstick, sulfosalicylic acid, urine protein-to-creatinine ratio, and species-specific ELISA methods for detection of albumin in urine samples of cats and dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 236(8):874-879, 2010.
 51. Zatelli A, Paltrinieri S, Nizi F *et al.* Evaluation of a urine dipstick test for confirmation or exclusion of proteinuria in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 71(2):235-240, 2010.
 52. McLeland SM, Cianciolo RE, Duncan CG *et al.* A comparison of biochemical and histopathologic staging in cats with chronic kidney disease. *Veterinary Pathology* 52:524-534, 2015.
 53. Lopez MC, Aybar V, Zatelli A *et al.* Is proteinuria a rare condition in apparently healthy and sick cats? A feline practice experience (2007-2018). *Open Veterinary Journal* 11(3): 508-516, 2021.
 54. Jepson RE, Brodbelt D, Vallance C *et al.* Evaluation of predictors of the development of azotemia in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 23:806-813, 2009.
 55. Syme HM, Markwell PJ, Pfeiffer D *et al.* Survival of cats with naturally occurring chronic renal failure is related to severity of proteinuria. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20:528-535, 2006.
 56. Jacob F, Polzin DJ, Osborne CA *et al.* Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 226:393-400, 2005.
 57. Lees GE, Brown SA, Elliott J *et al.* Assessment and management of proteinuria in dogs and cats. 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (small animal). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 19:377-385, 2005
 58. Hokamp JA, Leidy SL, Gaynanova I *et al.* Correlation of electrophoretic urine protein banding patterns with severity of renal damage in dogs with proteinuric chronic kidney disease. *Veterinary Clinical Pathology* 47(3):425-434, 2018.
 59. Giraldi M, Paltrinieri S, Scarpa P. Electrophoretic patterns of proteinuria in feline spontaneous chronic kidney disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 22(2):114-121, 2020.
 60. Zini E, Bonfanti U, Zatelli A. Diagnostic relevance of qualitative proteinuria evaluated by use of sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis and comparison with renal histologic findings in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 65(7):964-971, 2004.
 61. Troia R, Gruarin M, Grisetti C *et al.* Fractional excretion of electrolytes in volume-responsive and intrinsic acute kidney injury in dogs: Diagnostic and prognostic implications. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32(4):1372-1382, 2018.
 62. Bouillon J, Snead E, Caswell J *et al.* Pyelonephritis in dogs: Retrospective study of 47 histologically diagnosed cases (2005-2015). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32:249-259, 2018.
 63. Reppas G, Foster SF. Practical urinalysis in the cat 1: Urine macroscopic examination "tips and traps". *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 18:190-202, 2016.
 64. Lamoureux A, Da Riz F, Cappelle J *et al.* Frequency of bacteriuria in dogs with chronic kidney disease: A retrospective study of 201 cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33:640-647, 2019.
 65. Weese JS, Blondeau J, Boothe D *et al.* International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats. *The Veterinary Journal* 247:8-25, 2019.
 66. Ewing PJ, Meinkoth JH, Cowell RL *et al.* The Kidneys. In: Valenciano AC, Cowell RL. *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Haematology of the Dog and Cat*. USA: Elsevier, 2020, pp. 363-378.
 67. McAloney CA, Sharkey LC, Feeney DA *et al.* Diagnostic utility of renal fine-needle aspirate cytology and ultrasound in the cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 20(6) 544-553, 2017.
 68. McAloney CA, Sharkey LC, Feeney DA *et al.* Evaluation of the diagnostic utility of cytologic examination of renal fine-needle aspirates from dogs and the use of ultrasonographic features to inform cytologic diagnosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 252(10):1247-1256, 2018.
 69. Borjesson DL. Renal cytology. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 33(1):119-34, 2003.
 70. Aresu L, Martini V, Benali SL *et al.* European Veterinary Renal Pathology Service: a survey over a 7-year period (2008-2015). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 31(5):1459-1468, 2017.
 71. Lees GE, Cianciolo RE, Clubb Jr FJ. Renal biopsy and pathologic evaluation of glomerular disease. *Topics in Companion Animal Medicine* 26(3):143-153, 2011.