

CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CISTATINA C EM MACACOS-DA-NOITE (*Aotus azarai infulatus*)

[Serum Cystatin C in owl monkeys (*Aotus azarai infulatus*)]

Frederico Ozanan Barros Monteiro^{1*}, Maria Vivina Barros Monteiro², Ediene Moura Jorge², Ednaldo Silva Filho³, Wellington Bandeira da Silva^{1,4}, Aline Amaral Imbeloni^{1,4}, Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro⁵

¹ Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal – UFRA.

² Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal na Amazônia – UFPA.

³ Instituto de Ciências Agrárias – UFRA

⁴ Centro Nacional de Primatas – CENP

⁵ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – UECE

RESUMO – Em medicina veterinária, a função renal geralmente é avaliada por determinações séricas de ureia e creatinina. No entanto, estes marcadores mostram baixa sensibilidade para detecção precoce de insuficiência renal, sendo alterados quando grande parte da função renal está comprometida. Biomarcadores mais sensíveis têm sido utilizados, entre os quais se destaca a Cistatina C (CisC). No entanto, os valores de referência para CisC ainda precisam ser estabelecidos para várias espécies de primatas não-humanos. O objetivo deste estudo foi determinar a concentração de CisC em *Aotus azarai infulatus* e avaliar os efeitos da idade, sexo e massa corporal sobre esses valores. Vinte e nove macacos (15 machos e 14 fêmeas) foram divididos em três faixas etárias: FE1 (1 a 3 anos, n = 9); FE2 (4 a 6 anos, n = 6), e FE3 (mais de 10 anos, n = 14). As concentrações CisC variaram de 0,63 a 1,60 mg/l. O sexo e a idade dos animais não influenciaram nos resultados para CisC, ureia e creatinina. A massa foi mais elevada ($p < 0,05$) em FE3 ($1,17 \pm 0,22$ kg) quando comparada a FE1 ($0,99 \pm 0,07$ kg) e não diferiu significativamente de FE2 ($0,98 \pm 0,10$ kg). Contudo, vale ressaltar que CisC não sofre influência com a massa corporal, por isso ela é um bom biomarcador para função renal. Este é o primeiro estudo sobre a determinação de CisC no gênero *Aotus* e os valores obtidos podem ser utilizados como referência para esta espécie.

Palavra-Chave: Função renal; Primatas não humanos; Biomarcador.

ABSTRACT – In veterinary medicine, renal function is usually assessed through urea and creatinine determinations. However, these markers show poor sensitivity for early detection of renal failure by altering when most of the kidney function is compromised. More sensitive biomarkers have been used, among which stands out the cystatin C (CysC). However, for several species of non-human primates concentration and reference values for CysC still need to be established. The aim of this study was to determine the concentration of CysC in *Aotus azarai infulatus* and evaluate the effects of age, sex and body mass on the values obtained. Twenty-nine monkeys (15 males and 14 females) were divided into three age groups: AG1 (1 to 3 years old, n = 9); AG2 (4 to 6 years, n = 6), and AG3 (over 10 years, n = 14). The CysC concentrations ranged from 0.63 to 1.60 mg/l. The sex and age of the animals did not influence the results for CysC, urea, and creatinine. Body mass in AG3 (1.17 ± 0.22 kg) was greater ($p < 0.05$) compared to those observed in AG1 (0.99 ± 0.07 Kg), but was not significant to AG2 (0.98 ± 0.10 kg). However, it is noteworthy that CysC is not influenced by body mass, so it is a good biomarker for renal function. This is the first study on the determination of CysC in the genus *Aotus* and the values obtained can be used as reference for this species.

Keyword: Renal function; Non-human primates; Biomarker.

* Autor para correspondência. E-mail: fredericovet@hotmail.com

Recebido: 30 de dezembro de 2015.

Aceito para publicação: 22 de janeiro de 2016.

INTRODUÇÃO

Muitas espécies de primatas não humanos (PNH) estão em risco de extinção devido aos crescentes índices de desmatamento, ao comércio clandestino e a caça ilegal (Chiarello et al., 2008). Nesse contexto, a criação de PNH em cativeiro pode contribuir com a preservação das espécies aumentando o conhecimento científico em vários aspectos: comportamentais (Zimble-Delorenzo & Stone, 2011), fisiológicos (Monteiro et al., 2006), bioquímicos sanguíneos (Lins et al., 2012), hematológicos (Monteiro et al., 2009; Takeshita et al., 2011) e reprodutivos (Jurke et al., 1994; Monteiro et al., 2011). Além disso, os PNH criados em cativeiro são importantes para pesquisas biomédicas, pois garante o fornecimento contínuo de animais com idade e genética conhecidas (Redmond Jr & Evans, 2012) e livres dos agentes infecciosos mais comuns que podem interferir nas pesquisas ou infectar os manipuladores (Mansfield, 2005).

Doenças renais tais como glomerulonefrites e nefroses podem ser observadas em indivíduos criados em cativeiro. Dessa forma, os exames de função renal são importantes na avaliação sanitária dos animais experimentais. Dentre os disponíveis para avaliação da função dos rins de PNH destacam-se os exames ultrassonográficos e de bioquímica sanguínea (Lins et al., 2012). Na medicina veterinária a avaliação renal é tradicionalmente realizada por meio das determinações bioquímicas de ureia e creatinina, pois, de todos os produtos nitrogenados não protéicos que se acumulam no plasma quando a excreção renal está diminuída, estes são os mais simples e menos dispendiosos de serem dosados (Bush, 2004). Entretanto, esses marcadores apresentam baixa sensibilidade para detecção precoce de insuficiência renal, já que só se alteram quando grande parte da função dos rins está comprometida (Stevens & Levey, 2005). Dessa forma, a pesquisa por biomarcadores mais sensíveis tem crescido e o número e a escolha de novos marcadores para a investigação de lesão renal tem aumentado ao longo da última década, incluindo a determinação de Cistatina C (CisC) (Sasaki et al., 2014).

A CisC é uma proteína inibidora das cisteíno-proteases que estão envolvidas em processos de degradação proteica intra e extracelular e em uma variedade de reações metabólicas (Shlipak et al., 2006). Essa proteína tem atributos de um bom marcador de função renal, pois é produzida por todas as células nucleadas em uma taxa constante, excretada exclusivamente por filtração glomerular e não secretada pelos túbulos renais. Embora seja reabsorvida nos túbulos renais, a CisC é totalmente

catabolizada, não retornando à circulação sanguínea. Além disso, diferente da ureia e da creatinina, não sofre influência de fatores extra renais como a alimentação e massa muscular (Antognoni et al., 2005).

A determinação de CisC é utilizada como marcador de função renal na medicina (Filler et al., 2005). Na veterinária, já existem estudos avaliando o uso dessa proteína como marcador de função renal em cães (Braun et al., 2002; Antognoni et al., 2005; Antognoni et al., 2007) e gatos (Ghys et al., 2014). No entanto, para PNH os valores de referência para CisC e sua utilidade como marcador de função renal ainda necessitam ser estabelecidos. Portanto, os objetivos do presente trabalho foram determinar as concentrações de CisC no soro de *Aotus azarai infulatus* criados em cativeiro e comparar os resultados dos exames ultrassonográficos e laboratoriais já descritos para espécie. Além disso, avaliaram-se os efeitos da idade, sexo e massa corporal sobre os marcadores de função renal (ureia, creatinina e CisC).

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto Evandro Chagas (CEUA/IEC - n° 30/2013) e autorizado pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO n° 38529-4 e 41515). Foram utilizados 29 animais (15 machos e 14 fêmeas) clinicamente saudáveis do plantel de reprodução do Centro Nacional de Primatas - CENP, localizado no município de Ananindeua, Pará, Brasil. Foram divididos em três faixas etárias: FE1 (juvenis, 1 a 3 anos, n = 9); FE2 (adultos, 4 a 6 anos, n = 6) e FE3 (senis acima de 10 anos, n = 14). A alimentação dos animais era realizada conforme o manejo adotado pelo CENP, sendo constituída por diversos tipos de frutas, legumes, tubérculos, leite, ovos, ração específica para primatas (Cebidae P18 Megazoo[®], Rações Megazoo, Betim, Minas Gerais, Brasil), além de suplementos vitamínicos e água *ad libitum*.

Para atestar a sanidade dos animais, foram realizados exames clínicos por técnicas semiológicas (inspeção, palpação, termometria), exames laboratoriais (hemograma e bioquímica sanguínea) e exame de ultrassonografia abdominal. Todos os animais foram vermifugados segundo protocolo do CENP.

Contenção, coleta e processamento das amostras

Cada animal foi capturado no recinto por meio de contenção física com a utilização de puçá. Em seguida, colocados em caixa de transporte e levados ao setor de clínica médica do CENP, onde foram

pesados em balança eletrônica (Filizola[®] MF-30, São Paulo, Brasil). Os animais foram contidos fisicamente, com auxílio de luvas de couro, para realização do exame clínico, biometria corporal, exame ultrassonográfico e coleta de sangue para exames laboratoriais (hemograma, dosagens bioquímicas e determinação de CisC).

O sangue foi coletado da veia femoral, utilizando seringas e agulhas estéreis. Para as análises hematológicas uma alíquota de 1 ml de sangue foi acondicionada em tubos com EDTA. O hemograma foi realizado no analisador hematológico CellDyn Rubi (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Alemanha), sendo a contagem diferencial de leucócitos realizada em esfregaços sanguíneos corados com Panótico rápido.

Para as determinações bioquímicas e de CisC, o sangue (4ml) foi acondicionado em tubos sem anticoagulante, deixado à temperatura ambiente para a retração do coágulo e centrifugado a 2.000 rpm durante 10 minutos. Os soros obtidos foram congelados a -20°C até a realização das análises. As determinações bioquímicas foram realizadas utilizando equipamento C4000 Architect (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Alemanha). Foram determinados os perfis renal (ureia, creatinina), hepático (aspartato aminotransferase- AST, alanina aminotransferase - ALT, gama glutamiltransferase - GGT e bilirrubina), além de proteína total. A determinação sérica de CisC foi realizada por imunonefelmétrie utilizando o Kit N Látex Cistatina C (Siemens) utilizando a metodologia para automação conforme recomendações do fabricante (Cordeiro et al., 2008). Soros hemolisados, ictericos ou lipêmicos não foram analisados.

Ultrassonografia Abdominal

Para os exames de ultrassonografia foi utilizado o aparelho Medical SonoAce 9900[®], equipado com transdutor de banda larga transabdominal linear multifrequencial (5-12 MHz). As imagens obtidas foram analisadas em monitor de 14" e registradas em CD-Rom R. Os animais foram submetidos a jejum prévio de aproximadamente oito horas objetivando diminuir a formação de gases.

Foi realizada ultrassonografia abdominal total, como forma de avaliação de sanidade dos animais, sendo os rins o principal foco do exame, utilizando-se a metodologia descrita por Lins et al. (2012). Os rins foram examinados pelo acesso ventral e/ou

paralobar com o animal contido em decúbito dorsal, lateral direito e esquerdo, objetivando-se avaliar localização, dimensões, contornos, forma e ecogenicidade. No plano sagital foram mensurados os diâmetros craniocaudal (DCC) e dorsoventral (DDV). O diâmetro transversal (DT) foi obtido no plano transversal. Cada variável foi mensurada por um único observador, por três vezes, empregando a média das mesmas para o cálculo do volume renal, realizado pela aproximação com o modelo geométrico esferoidal de três distâncias ($DCC \times DDV \times DT \times \pi / 6$).

Análise estatística

Foram calculados parâmetros básicos da estatística descritiva (média e desvio padrão) para todas as variáveis analisadas. Foi utilizado o teste de Dixon para detectar e remover possíveis outliers. Os resultados de ureia, creatinina e CisC foram testados para distribuição normal pelo Método de Kolmogorov e Smirnov. A análise de variância foi utilizada para avaliar o efeito da idade, sexo e massa corporal sobre os valores de ureia, creatinina e Cistatina C. Foi utilizado o programa SAS, os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão e as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os resultados dos parâmetros hematológicos e das análises bioquímicas séricas (Tabela 1) não foram influenciados pelo sexo ou faixa etária e estavam dentro dos valores de referência para a espécie estudada (Takeshita et al., 2011).

A aparência ultrassonográfica mostrou que os rins foram localizados em posição anatômica normal, com o rim direito mais cranial que o esquerdo. O rim esquerdo estava situado entre a aorta e o baço, enquanto o rim direito situava-se na fossa do lobo caudado do fígado. Ambos os rins exibiam contornos regulares, formato elíptico e ecotextura homogênea. A cápsula renal estava bem definida e hiperecogênica, e o córtex apresentou-se mais ecogênico que a região medular. A região central, formada pelo seio e pelve renal, foi mais ecogênica devido à maior quantidade de gordura pélvica e peripélvica, além da própria pelve, parede dos vasos e a entrada do hilo. Além disso, houve uma demarcação nítida entre o córtex renal e a medula, na junção corticomedular. Os córtices renais direito e esquerdo estavam ligeiramente hiperecogênicos em relação ao fígado e ao baço, respectivamente.

Tabela 1. Avaliação hematológica bioquímica em *Aotus azarai infulatus* (n = 29) expressos em média, desvio padrão e intervalos de referencia para a espécie.

| Parâmetro | Média ± DP | Intervalo de Referencia (*) |
|--|----------------|-----------------------------|
| Hemácias (x10 ⁶ /mm ³) | 6,06 ± 1,22 | 4,56 – 6,53 |
| Hemoglobina (g/dl) | 16,78 ± 3,39 | 12,0 – 17,5 |
| Hematócrito (%) | 50,79 ± 10,42 | 34,1 – 50,1 |
| VGM (fL) | 83,62 ± 15,67 | 69,8 – 83,1 |
| CHGM (%) | 33,1 ± 6,26 | 32,0 – 36,8 |
| Plaquetas (x10 ³ /mm ³) | 231,75 ± 68,03 | 41,0 – 245,0 |
| Leucócitos (x10 ³ /mm ³) | 13,22 ± 6,24 | 4,9 – 19,62 |
| Segmentados (x10 ³ /mm ³) | 3,84 ± 2,79 | 0,91 – 5,84 |
| Linfócitos (x10 ³ /mm ³) | 8,42 ± 4,00 | 3,14 – 12,95 |
| Eosinófilos (x10 ³ /mm ³) | 2,05 ± 2,33 | 210 – 4062 |
| Basófilos (x10 ³ /mm ³) | 0,03 ± 0,07 | 0 – 176 |
| ALT (UI/L) | 63,00 ± 31,11 | 14,0 – 143,0 |
| AST (UI/L) | 152,00 ± 67,26 | 69,0 – 660,0 |
| Bilirrubina (mg/dL) | 0,18 ± 0,11 | 0,09 – 1,3 |
| GGT (UI/L) | 15,90 ± 5,36 | 4,9 – 80,0 |
| PT (g/dL) | 5,60 ± 0,48 | 1,9 – 7,9 |

*Takeshita, et al. (2011). VGM - Volume globular médio; CHGM - Concentração de hemoglobina globular média. ALT – Alanina aminotransferase; AST - Aspartato aminotransferase; GGT - Gama glutamiltransferase; TP – Proteína total.

Um dos machos da FE3 foi excluído do estudo por ser considerado um *outlier* pelo teste de Dixon. Esse animal apresentou elevada concentração de CisC (2,62mg/l), embora não tenha demonstrado alteração na ultrassonografia renal e nas determinações de ureia e creatinina. As concentrações de CisC dos demais animais variaram de 0,63 a 1,60 mg/l.

Na Tabela 2 foram descritos os resultados obtidos para os marcadores de função renal em função do

sexo e faixa etária. O sexo e a faixa etária dos animais não influenciaram nos resultados obtidos para CisC, ureia e creatinina. A massa corporal diferiu significativamente entre os grupos estudados. A massa foi mais elevada (p < 0,05) em FE3 (1,17 ± 0,22 kg) quando comparada a FE1 (0,99 ± 0,07 kg) e não diferiu significativamente de FE2 (0,98 ± 0,10 kg). Entretanto, isso não influenciou nos resultados obtidos para CisC, ureia e creatinina.

Tabela 2. Parâmetros da função renal de *Aotus azarai infulatus* (n = 28) agrupados por sexo e faixa etária.

| Parâmetro | Sexo | FE1 | FE2 | FE3 | Todas FE |
|-----------|------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|---------------|
| | | 1 a 3 anos (n = 9) | 4 a 6 anos (n = 6) | > de 10 anos (n = 13) | (n = 28) |
| CisC | ♂ | 1,07 ± 0,28 | 0,82 ± 0,17 | 1,18 ± 0,23 | 1,03 ± 0,25 |
| | ♀ | 0,91 ± 0,20 | 1,01 ± 0,48 | 1,07 ± 0,15 | 1,03 ± 0,26 |
| | ♂♀ | 0,98 ± 0,24 | 0,92 ± 0,33 | 1,12 ± 0,19 | |
| Creat | ♂ | 0,75 ± 0,11 | 0,63 ± 0,04 | 0,81 ± 0,14 | 0,71 ± 0,12 |
| | ♀ | 0,63 ± 0,05 | 0,64 ± 0,08 | 0,69 ± 0,14 | 0,70 ± 0,12 |
| | ♂♀ | 0,69 ± 0,24 | 0,64 ± 0,06 | 0,75 ± 0,13 | |
| Ureia | ♂ | 42,00 ± 16,43 | 34,00 ± 8,72 | 43,43 ± 17,02 | 39,17 ± 14,42 |
| | ♀ | 39,60 ± 9,96 | 39,67 ± 22,14 | 35,00 ± 15,18 | 39,21 ± 14,68 |
| | ♂♀ | 40,67 ± 12,35 | 36,83 ± 15,37 | 39,12 ± 16,10 | |

CisC- Cistatina C; Creat- Creatinina; ♂- Machos, ♀- Fêmeas; ♂♀ Macho e fêmeas.

DISCUSSÃO

A CisC é uma proteína de baixo peso molecular (12,8Kda) e com ponto isoelétrico alto, isso proporciona fácil filtração pelos glomérulos renais e

posterior reabsorção tubular. É produzida em taxa constante por todas as células nucleadas e eliminada exclusivamente por filtração glomerular (Prates et al., 2007). Na medicina essa proteína é considerada como melhor marcador de falha renal que a creatinina (Coll

et al., 2000). Na veterinária estudos têm demonstrado que a CisC pode ser útil como marcador de insuficiência renal em cães com valores limítrofes de creatinina (Braun et al., 2002). Recentemente foi demonstrada a superioridade da CisC urinária como biomarcador de lesão renal aguda em cães induzida por gentamicina (Sasaki et al., 2014). Gatos com doença renal crônica apresentam valores significativamente maiores de CisC quando comparados com gatos saudáveis (Ghys et al., 2014).

Para primatas neotropicais ainda não existem trabalhos relatando o uso de CisC como marcador da taxa de filtração glomerular ou de lesão tubular. Além disso, os intervalos de referência para CisC ainda necessitam ser estabelecidos. No presente trabalho a determinação de CisC foi realizada em *A. a. infulatus* saudáveis (n= 28) utilizando método nefelométrico. Essa metodologia é utilizada para mensurar concentrações de proteínas plasmáticas, sendo mais precisa que outras, pois mede a difração (desvio) da luz ao passar por uma solução contendo complexos imunológicos. Assim, os resultados deste estudo fornecem dados que podem ser utilizados como valores de referência importantes para macacos-da-noite, uma vez que são utilizados como modelos experimentais para a malária e em outras investigações biomédicas.

As técnicas de nefelometria e turbidimetria já foram utilizadas com sucesso para detecção de CisC em amostras de cães (Jensen et al., 2001; Braun et al., 2002; Antognoni et al., 2005; Antognoni et al., 2007) e gatos (Ghys et al., 2014). Para PNH a determinação de CisC foi validada em soros de *Cynomolgus* (Perigard et al., 2010), utilizando-se o mesmo método do presente trabalho, que tem como princípio uma reação imunológica baseada em anticorpos anti-CisC.

A CisC apresenta significativa homologia (68-73%) entre a sequência completa de aminoácidos de seres humanos e outras espécies animais, tais como ratos, camundongos e bovinos (Braun et al., 2002). Isso explica a reatividade dos anticorpos policlonais anti-CisC humana com a CisC de outras espécies. Em felinos, alguns autores demonstraram que o método nefelométrico humano pode ser utilizado para determinar CisC em amostras de soro e urina (Ghys et al., 2014). Devido à proximidade filogenética dos PNH com os humanos, o grau de homologia, também deve ser elevado. Sendo assim, o uso dos kits N Látex CisC (Siemens) utilizando método nefelométrico desenvolvidos para humanos resultaram em dados aplicáveis aos primatas utilizados neste trabalho.

Esse é o primeiro trabalho que fornece dados de concentrações de CisC em amostras de soro de PNH da espécie *A. azarai infulatus*. No presente

estudo as concentrações de CisC variaram de 0,63 a 1,60 mg/L. Esses valores foram semelhantes aos encontrados em humanos (0,61 a 1,21 mg/l; Cool et al., 2000), felinos (0,58 a 1,95 mg/l; Ghys et al., 2015) e cães (0,76 a 1,44 mg/l; Almy et al., 2002). Em virtude da sua função básica na manutenção da integridade das proteínas formadoras das células e das similaridades dos néfrons entre as espécies de mamíferos é de se esperar a homogeneidade interespecífica na concentração plasmática da CisC observada.

Conforme relatado em humanos não foi observada influência da idade, sexo ou massa corporal sobre os valores de CisC obtidos neste trabalho. A baixa variação biológica seria uma das grandes vantagens da CisC sobre os biomarcadores clássicos utilizados para estimar a função renal como ureia e a creatinina. Esses resultados divergem dos encontrados por Braun et al. (2002) para espécie canina, que demonstraram concentrações discretamente maiores de CisC em filhotes. Entretanto, os autores utilizaram animais de 2 meses de idade isso sugere que, assim como ocorre em recém-nascidos humanos, a imaturidade do néfron interfere na capacidade de filtração glomerular da CisC, e a concentração plasmática dessa proteína diminui progressivamente se estabilizando no primeiro ano de vida (Fernández Garcia et al., 2011). Da mesma forma, Braun et al. (2002) sugerem que a diferença observada na concentração de CisC em função da massa corporal se justifica pela maior variação de tamanho encontrado nas diferentes raças de cães em comparação com humanos. Dessa forma, sugere-se que o comportamento da CisC observado neste trabalho é explicado pela pequena variação do peso entre os grupos estudados.

Com relação ao sexo não foram encontradas diferença nas concentrações de CisC de cães (Wehner et al., 2008) e em felinos (Ghys et al., 2015). Em humanos ainda não foi relatada variação significativa de intervalos de referência entre população masculina e feminina, em função da produção de CisC ser constante em todos os tecidos do organismo, diferente da creatinina que depende da massa muscular (Sodré et al., 2007). Semelhante aos resultados deste estudo, em felinos, também não foram observados efeitos da idade e sexo sobre os valores de CisC, demonstrando que não é necessário estabelecer intervalos de referência para essas variáveis (Ghys et al., 2015).

A baixa variação biológica seria uma das grandes vantagens da CisC sobre os biomarcadores clássicos utilizados para estimar a função renal (ureia e creatinina). Apesar do presente trabalho os valores de ureia e creatinina também não terem sido influenciados pela idade, sexo ou massa corporal,

Lins et al. (2012) observaram que os valores de nitrogênio uréico sanguíneo (BUN) e creatinina foram maiores nos machos do que nas fêmeas de macacos-da-noite. No trabalho de Lins et al. (2012) a idade também influenciou os resultados obtidos para creatinina, que foram significativamente maiores nos animais de maior faixa etária. No presente trabalho as faixas etárias foram diferentes das utilizadas por Lins et al. (2012) que incluía animais a partir de três meses explicando a diferença observada entre os resultados.

Em primatas do gênero *Aotus* o BUN foi mais elevado em machos hígidos e não hígidos em relação a fêmeas, já a creatinina não foi influenciada pelo sexo (Monteiro et al., 2009). Os níveis de ureia e BUN podem ser utilizados para avaliar a função renal e o status nutricional dos animais (Bush, 2004) e, possivelmente, as diferenças observadas entre os trabalhos são decorrentes de variações na alimentação dos animais, principalmente no que se refere ao teor de proteínas da dieta. O efeito da idade e sexo sobre os valores de creatinina foram observados também para outras espécies animais como ovinos (Lima et al., 2015), búfalos (Fontes et al., 2014).

CONCLUSÃO

A CisC não sofre influência da massa corporal, por isso ela é um bom biomarcador para função renal. Este é o primeiro estudo sobre a determinação de CisC no gênero *Aotus* e os valores obtidos podem ser utilizados como referência para esta espécie. Entretanto, novos trabalhos necessitam ser realizados para avaliar a utilidade dessa proteína como marcador de função renal em outras espécies de PNH.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer pelo seu apoio financeiro a CAPES e CNPq (Procad/Casadinho 06/2011, 14/2012 e Chamada Universal, Faixa A [processo 481771/2012-3]). Além disso, somos gratos a Maria Vania Feijó Cordeiro do Hospital Albert Sabin (Serviço de Patologia Clínica - HIAS / SESA), pelas determinações de CisC no aparelho de automação.

REFERÊNCIAS

ALMY, F. S.; CHRISTOPHER, M. M.; KING, D. P. & BROWN, S. A. 2002. Evaluation of cystatin C as an endogenous marker of glomerular filtration rate in dogs. **J Vet Intern Med**, (16):45-51.

ANTOIGNONI, M.T.; SIEPI, D.; PORCIELLO, F. & FRUGANTI, G. 2005. Use of serum cystatin C determination as a marker of renal function. **Vet Res Commun**, (29):265-267.

ANTOIGNONI, M.T.; SIEPI, D.; PORCIELLO, F.; RUECA, F. & FRUGANTI, G. 2007. Serum cystatin C evaluation in dogs

affected by different disease associated or not with renal insufficiency. **Vet Res Commun**, (31):269-271.

BRAUN, J. P.; PERXACHS, A.; PECHEREAU, D. & DE LA FARGE, F. 2002. Plasma cystatin C in the dog: reference values and variations with renal failure. **Comp Clin Path**, (11):44-49.

BUSH, B. M. **Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2004. 376 p.

CHIARELLO, A.G., AGUIAR, L. M. S.; CERQUEIRA, R.; MELO, F. R.; RODRIGUES, F. H. G. & SILVA, V. M. 2008. **Mamíferos ameaçados de extinção no Brasil**, p. 681-702. In: Machado, A. B. M.; Drummond, G. M. & Paglia, A. P (Eds.). Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. Brasília, MMA, v.2.

COLL, E.; BOTEY, A.; ALVAREZ, L.; POCH, E.; QUINTÓ, L.; SAURINA, A.; VERA, M.; PIERA, C. & DARNEL, A. 2000. Serum Cystatin C as a New Marker for Noninvasive Estimation of Glomerular Filtration Rate and as a Marker for Early Renal Impairment. **Am J Kidney Dis**, (36):29-34.

CORDEIRO, V. F.; PINHEIRO, D. C. S. N.; SILVA, J. R. G. B.; LIMA, J. W. O., MOTA, R. M. S.; LIBORIO, A. B. & DAHER, E. F. 2008. Comparative study of cystatin C and serum creatinine in the estimative of glomerular filtration rate in children. **Clin Chim Acta**, (391):46-50.

FERNÁNDEZ GARCIA, M.; COLL, E.; PEDRET, S. V.; GUITARTE, C. B.; FERNÁNDEZ, M. C. C.; RIUS, M. C.; MONTES, M. G.; MARTÍNEZ-BRU, C.; SURRIBAS, D. P.; GONZÁLES, T. R.; ORTIZ, C. V.; CONTRERAS, J. A. V.; MUNIZ, E. Z. 2011. Cistatina C en la evaluación de la función renal. **Rev Lab Clin**, (4):50-62.

FILLER, G.; FOSTER, J.; ACKER, A.; LEPAGE, N.; AKBARI, A. & EHRICH, J. H. 2005. The Cockcroft-Gault formula should not be used in children. **Kidney Int**, (67) 6:2321-2324.

FONTES, D. G.; MONTEIRO, M. V. B.; JORGE, E. M. ; OLIVEIRA, C. M. C. O.; RITTER, R. A.; BARBOSA NETO, J. D.; SILVA FILHO, E. & MONTEIRO, F. O. B. 2014. Perfil hematológico e bioquímico de búfalos (*Bubalus bubalis*) na Amazônia Oriental. **Pesq Vet Bras**, (34):57-63.

GHYS, L. F. E.; MEYER, E.; PAEPE, D.; DELANGLE, J. & DAMINET, S. 2014. Analytical validation of a human particle-enhanced nephelometric assay for cystatin C measurement in feline serum and urine. **Vet Clin Pathol**, (43):226-234.

GHYS, L. F. E.; PAEPE, D.; DUCHATEAU, L.; TAFFIN, E. R. L.; MARYNISSEN, S.; DELANGHE, J. & DAMINET, S. 2015. Biological validation of feline serum cystatin C: The effect of breed, age and sex and establishment of a reference interval. **Vet J**, (1):1-27.

JENSEN, A. L.; BOMHOLT, M. & MOE, L. 2001. Preliminary evaluation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay (PETIA) for the determination of serum cystatin C-like immunoreactivity in dogs. **Vet Clin Pathol**, (30):86-90.

JURKE, M. H.; PRYCE, C. R.; DÖBELI, M. & MARTIN, R. D. 1994. Non-invasive detection and monitoring of pregnancy and the postpartum period in goeldi's monkey (*Callimico goeldii*) using urinary pregnanediol-3-glucuronide. **Am J Primatol**, (34):319-331.

LIMA, M. B.; MONTEIRO, M. V. B.; JORGE, E. M.; CAMPELLO, C. C.; RODRIGUES, L. F. S.; VIANA, R. B.; COSTA, C. T. C. & MONTEIRO, F. O. B. 2015. Intervalos de referência sanguíneos e a influência da idade e sexo sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Santa Inês criados na Amazônia Oriental. **Act Amaz**, (45):317-322.

- LINS, F. L. M. L.; MONTEIRO, F. O. B.; TAKESHITA, R. S. C.; SILVA, G. A.; FATURI, C.; PALHA, M. D. C.; MONTEIRO, M. V. B.; COUTINHO, L. N.; KUGELMEIER, T. & CASTRO, P. H. G. 2012. Renal evaluation of *Aotus azarai infulatus* by ultrasonography and serum chemistry profile. **Am J Primatol**, (74):482-490.
- MANSFIELD, K. **Specific pathogen free nonhuman primate colonies. Development of specific pathogen free nonhuman primate colonies.** The Laboratory Primate. London: Elsevier Academic Press, 2005. p. 229-239.
- MONTEIRO, F. O. B.; KOIVISTO, M. B.; VICENTE, W. R. R.; CARVALHO, R. A.; WHITEMAN, C. W.; CASTRO, P. H. G. & MAIA, C. E. 2006. Uterine evaluation and gestation diagnosis in owl monkey (*Aotus azarai infulatus*) using the B mode ultrasound. **J Med Primatol**, (35):123-130.
- MONTEIRO, F. O. B.; COUTINHO, L. N.; ARAUJO, K. F.; MONTEIRO, M. V. B.; CASTRO, P. H. G.; SILVA, K. S. M.; BENIGNO, R. N. M. & VICENTE, W. R. R. 2009. Biochemical and haematological parameters in owl monkeys infected and uninfected with *Trypanoxyuris* sp. **J Helminthol**, (83):225-229.
- MONTEIRO, F. O. B.; COUTINHO, L. N.; TAKESHITA, R. S. C.; SILVA, G. A.; SILVA, K. S. M.; WHITEMAN, C. W.; CASTRO, P. H. G.; MUNIZ, J. A. P. C. & VICENTE, W. R. R. 2011. A protocol for gynecological and obstetric examination of owl monkeys using ultrasound. **Rev Ciênc Agr**, (54): 5-11.
- PERIGARD, C.J.; FOLEY, J.P.; DAVOY, H.R.; NICHOLS, W.J.; COURTWRIGHT, P.A.; WALKER, D.B. 2010. Verification of an automated cystatin c assay for cynomolgus monkey serum. **Vet Clin Path**, (39):520-533.
- PRATES, A. B.; AMARAL, F. B.; VACARO, M. Z.; GROSS, J. L.; CAMARGO, J. L. & SILVEIRO, S. P. 2007. Avaliação da filtração glomerular através da medida da cistatina C sérica. **J Bras Nefrol**, (29): 48-55.
- REDMOND JR, E. D. & EVANS, L. 2012. Determination of fetal age by ultrasonography in st. kitts green monkeys. **Am J Primatol**, (74):433-441.
- SASAKI, A.; SASAKI, Y.; IWAMA, R.; SHIMAMURA, S.; YABE, K.; TAKASUNA, K.; ICHIJO, T.; FURUHAMA, K. & SATOH, H. 2014. Comparison of renal biomarkers with glomerular filtration rate in susceptibility to the detection of gentamicin-induced acute kidney injury in dogs. **J Comp Pathol**, (151):264-270.
- SHLIPAK, M. G.; PRAUGHT, M. L. & SARNAK, M. J. 2006. Update on cystatin C: new insights into the importance of mild kidney dysfunction. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, (15):270-275.
- SODRÉ, F. L.; COSTA, J. C. B. & LIMA, J. C. C. 2007. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **J Bras Patol Med Lab**, (43):329-337.
- STEVENS, L. A. & LEVEY, A. S. 2005. Measurement of kidney function. **Med Clin N Am**, (89):457-473.
- TAKESHITA, R. S. C.; MONTEIRO, F. O. B.; LINS, F. L. M. L.; SILVA, G. A.; FATURI, C.; COUTINHO, L. N.; MONTEIRO, M. V. B.; KUGELMEIER, T.; CASTRO, P. H. G. & MUNIZ, J. A. P. C. 2011. Hematological, hepatic, and renal evaluation in *Aotus azarai infulatus*. **J Med Primatol**, (40):104-110.
- WEHNER, A.; HARTMANN, K. & HIRSCHBERGER, J. 2008. Utility of serum cystatin C as a clinical measure of renal function in dogs. **J Am Anim Hosp Assoc**, (44):131-138.
- ZIMBLER-DELORENZO, H. S. & STONE, A. I. 2011. Integration of field and captive studies for understanding the behavioral ecology of the squirrel monkey, *Saimiri* sp. **Am J Primatol**, (63):607-622.