

## Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos

### Creatinine use as an indicator of urinary excretion in ovines

Gilberto Vilmar Kozloski<sup>1</sup> Giovanni Fiorentini<sup>2</sup> Carla Joice Härter<sup>2</sup>

Luis Maria Bonnacarrère Sanchez<sup>3</sup>

#### RESUMO

*Este estudo foi conduzido para determinar a excreção diária de creatinina e verificar o potencial de seu uso como indicador da produção urinária em ovinos. A medida da excreção urinária total de creatinina foi feita com base em dados e em amostras obtidas de quatro experimentos de digestibilidade conduzidos previamente com ovinos mantidos em gaiolas metabólicas. Em todos os experimentos, foi feita a coleta diária total de urina durante cinco dias em cada período experimental. Adicionalmente, em um dos experimentos, foram coletadas amostras de urina dos animais de duas em duas horas durante um período de 24 horas. A excreção total de creatinina (média de 660mg dia<sup>-1</sup>) foi diferente entre experimentos ( $P<0,01$ ) e entre animais ( $P<0,01$ ). A excreção diária como proporção do peso corporal (média 23,2mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo) foi diferente entre experimentos ( $P<0,01$ ), mas semelhante entre animais, tratamentos e períodos ( $P>0,05$ ). Por sua vez, a concentração de creatinina na urina foi diferente entre os experimentos ( $P<0,01$ ), animais ( $P<0,01$ ), períodos ( $P<0,05$ ) e também nos diferentes horários de um período de 24 horas ( $P<0,01$ ). A estimativa da produção urinária dos animais, com base na concentração de creatinina em amostras pontuais de urina, pode ser confiável somente se, em pelo menos um animal representativo de um grupo experimental, for realizada coleta total de urina para medida de excreção média desse metabólito por unidade de peso corporal. Além disso, amostras pontuais de urina devem ser coletadas em diferentes horários para constituir uma amostra composta representativa de um ciclo de 24 horas.*

**Palavras-chave:** creatinina, excreção urinária, indicador, ruminantes.

#### ABSTRACT

*This study was carried out to evaluate the use of creatinine as an indicator of urinary production in sheep. Total creatinine urinary excretion was determined based on data and samples collected from four digestibility experiments previously conducted with lambs maintained in metabolic cages. In all experiments total urinary production was collected during five days in each animal and experimental period. Additionally, in one experiment, urine samples were taken at intervals of two hours during a 24 hours period. Total excretion of creatinine (mean of 660mg day<sup>-1</sup>) was different among experiments ( $P<0.01$ ) and animals ( $P<0.01$ ). The daily excretion as proportion of body weight (mean of 23,2mg kg<sup>-1</sup> live weight) was different only among experiments ( $P<0.01$ ), but was similar among the animals and periods and treatments ( $P>0.05$ ). In the other hand, the urinary concentration of creatinine was different among experiments ( $P<0.01$ ), animals ( $P<0.01$ ) and periods ( $P<0.05$ ). There were also differences among sampling times through a 24 hours period ( $P<0.01$ ). The estimate of urinary production based on urinary concentrations of creatinine in spot samples, may be reliable only if, at least in one animal, representative of experimental group, total urine collection be carried out to measure the mean daily excretion of creatinine relative to body weigh. Moreover, spot samples should be collected in different times to constitute a composite sample representative of a 24 hours period.*

**Key words:** creatinine, urinary excretion, indicador, ruminants.

<sup>1</sup>Médico Veterinário, Doutor, Bolsista do Programa de Absorção Temporária de Doutores (PRODOC/CAPES), Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Campus Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS. Email: kozloski@smail.ufsm.br. Autor para correspondência.

<sup>2</sup>Aluno de Graduação, Curso de Zootecnia, UFSM.

<sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo, PhD, Professor Titular, Departamento de Zootecnia, UFSM.

## INTRODUÇÃO

Para medida do balanço de nitrogênio, do teor de energia metabolizável da dieta e, para estimar a síntese protéica microbiana ruminal a partir da excreção dos derivados das purinas em estudos de digestão com ruminantes, é necessário, entre outros, medir a excreção urinária de nitrogênio e dos derivados das purinas. Para tal, normalmente faz-se a coleta total da urina dos animais durante alguns dias em cada período experimental (SCHNEIDER & FLATT, 1975). Quando os ensaios são realizados com animais machos, confinados e mantidos em gaiolas metabólicas, este procedimento é relativamente simples. No entanto, a coleta total de urina de fêmeas e de animais em pastejo é mais difícil ou até mesmo impraticável. Em função disto, métodos alternativos têm sido sugeridos para estimativa da produção urinária nestas condições.

A creatinina é formada no tecido muscular pela remoção não enzimática e irreversível de água do fosfato de creatina, a qual se origina do metabolismo dos aminoácidos (BORSOOK & DUBNOFF, 1947; MURRAY et al., 1999). Em vários experimentos com bovinos, foi observado que a excreção diária desta molécula, como proporção do peso vivo, é relativamente semelhante entre os animais (VALADARES et al., 1997; RENNO et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2001; SILVA et al., 2001). De outra forma, foi observado também que a relação entre a concentração dos derivados das purinas e creatinina em amostras pontuais de urina é relativamente constante ao longo do dia (CHEN et al., 1992; GONDA & LINDBERG, 1994; CHEN et al., 1995a). Com base nisto, tem sido sugerido o uso da concentração de creatinina em amostras pontuais de urina como um indicador da excreção urinária total dos animais.

A produção de creatinina parece ser constante e proporcional às concentrações celulares de creatina e fosfato de creatina (BORSOOK & DUBNOFF, 1947) mas, uma vez que as taxas de filtração glomerular e de produção de urina variam (GÜRTLER et al., 1987), as concentrações de creatinina na urina podem variar ao longo do dia. RENNO et al. (2000) analisaram dados de vários experimentos com bovinos e observaram que a excreção de creatinina entre animais de um mesmo experimento foi semelhante. No entanto, entre experimentos variou de, aproximadamente, 17 até 37mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo. Além disso, em um estudo com ovinos, YU et al. (2001) verificaram que a concentração urinária de creatinina não foi um bom preditor da excreção dos derivados das purinas e da síntese protéica microbiana ruminal

Deste modo, o presente estudo foi conduzido para verificar o potencial do uso da concentração urinária de creatinina como indicador da produção de urina em ovinos.

## MATERIAL E MÉTODOS

A medida da excreção urinária total de creatinina foi feita com base em dados e em amostras de urina obtidas em quatro experimentos de digestibilidade *in vivo* com ovinos, conduzidos previamente no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal de Santa Maria. Experimento 1: oito ovinos receberam exclusivamente feno de capim elefante anão (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Mott) cortado com 30, 40, 50 e 60 dias de rebrota (KOZLOSKI et al., 2003); Experimento 2: doze ovinos foram submetidos a diferentes níveis de consumo de feno de capim elefante anão (1,5, 1,75, 2,0, 2,25, 2,5% do peso vivo e *ad libitum*), cortado com aproximadamente 70 dias de rebrota (MORAIS, 2004); Experimento 3: dez ovinos receberam feno de capim elefante anão *ad libitum* suplementado somente com uréia, ou com uréia mais 0,5, 1,0 ou 1,5% do peso vivo de milho quebrado (dados não publicados) e Experimento 4: oito ovinos foram alimentados com dietas à base de silagem de milho e com diferentes níveis de concentrado, de forma a obter teores de fibra em detergente neutro de 25, 31, 37 ou 43% na matéria seca (dados não publicados). O Experimento 2 foi conduzido em dois períodos de 15 dias utilizando um delineamento inteiramente casualizado, e os demais experimentos, em duplo Quadrado Latino 4 × 4 (Experimentos 1 e 4) e 5 × 5 (Experimento 3), também com períodos experimentais de 15 dias. Os experimentos foram conduzidos com diferentes grupos de ovinos Texel × Ideal, machos castrados, com idade aproximada de um ano, com pesos vivos médios que variaram de 25 a 35kg e mantidos em gaiolas metabólicas. Foram avaliadas variáveis associadas à digestão, ao balanço de nitrogênio, à síntese de proteína microbiana ruminal e à fermentação ruminal. Em todos os experimentos, foi feita a coleta total de urina de todos os animais, durante cinco dias em cada período experimental, em recipiente contendo 100ml de uma solução de ácido sulfúrico a 20% v/v. Diariamente, o volume total foi medido e retirada uma alíquota de 1%. Esta então, foi colocada em um balão de 50ml, completado o volume com água destilada e congelada para posterior análise. Adicionalmente, num dos períodos do Experimento 4, foram coletadas amostras de urina de duas em duas horas ao longo de um período de 24 horas, as quais foram congeladas

para posterior análise. Neste caso, a amostragem foi feita da urina excretada espontaneamente que estivesse presente no recipiente de coleta (sem ácido) em cada intervalo de duas horas, sendo o restante descartado.

As concentrações de creatinina das amostras de urina foram determinadas colorimetricamente utilizando-se um Kit comercial (LABTEST).

Os dados foram submetidos à análise de variância que incluiu o efeito dos experimentos, dos animais, dos períodos e dos tratamentos. As concentrações de creatinina obtidas ao longo do dia, foram submetidas também à análise de regressão em relação ao horário de coleta. Todas as análises foram feitas utilizando-se o programa estatístico SAS (1996).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados médios da excreção diária e da concentração de creatinina na urina dos ovinos, assim como os valores da probabilidade do efeito dos fatores estudados sobre a excreção e concentração urinária de creatinina são apresentados na tabela 1.

A excreção total foi, em média, 659,8mg dia<sup>-1</sup> e foi diferente entre experimentos (P<0,01) e entre animais (P<0,01). A excreção diária como proporção do peso corporal foi, em média, 23,2mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo e foi diferente entre experimentos (P<0,01), mas semelhante entre animais, tratamentos (dietas) e períodos (P>0,05). Este valor é levemente superior aos valores obtidos por YU et al. (2001) em ovinos, mas estão entre aqueles normalmente verificados em

bovinos (RENNÓ et al., 2000). De fato, em vários outros estudos, a dieta também não influenciou a excreção diária de creatinina por unidade de peso corporal dos animais (SHINGFIELD & OFFER, 1998; VALADARES, et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2001; SILVA et al., 2001). No entanto, GONDA et al. (1996) e YU et al. (2001) observaram efeito da dieta na excreção de creatinina, por unidade de peso corporal, em vacas lactantes e em ovinos, respectivamente.

A creatinina é produto do metabolismo muscular e sua produção e excreção é diretamente relacionada ao metabolismo deste tecido (SCHUTTE et al., 1981). Deste modo, animais com diferentes condições corporais e diferentes proporções de músculo e gordura podem excretar diferentes quantidades de creatinina por unidade de peso vivo. No presente estudo, como visto anteriormente, a excreção de creatinina por unidade de peso vivo foi semelhante entre animais de um mesmo grupo (animais do mesmo experimento), mas variou entre os experimentos. A condição corporal dos animais não foi avaliada em nenhum deles. No entanto, com exceção do Experimento 2, o delineamento utilizado foi o Quadrado Latino, onde todos os animais experimentais receberam todas as dietas testadas. Desse modo, é pouco provável que as dietas tenham determinado variações na condição corporal dos animais dentro de cada experimento. Por outro lado, variações no consumo e na qualidade média das dietas entre os experimentos (dados não apresentados) pode ter influenciado significativamente esta variável.

Nas amostras representativas da urina total excretada, a concentração de creatinina foi diferente entre experimentos (P<0,01), entre animais (P<0,01) e entre tratamentos (P<0,05). Quando analisada nas amostras pontuais, foi diferente também nos diferentes horários de um período de 24 horas (Figura 1), tendo sido cubicamente relacionada com o tempo (P<0,01). Os valores tenderam a ser mais altos durante a madrugada e pela manhã, e mais baixos à tarde e início da noite. Normalmente, a produção de urina tende a diminuir consideravelmente no período da noite em função de uma maior reabsorção de água e eletrólitos (GÜRTLER et al., 1987) determinando, conseqüentemente, um aumento na concentração de creatinina na urina. NSAH LAI et al. (2000) não observaram efeito do horário de coleta em terneiros. Contudo, variações na concentração urinária de creatinina ao longo do dia, tanto em bovinos como em ovinos, também foram observadas por CHEN et al. (1992), GONDA & LINDBERG (1994), CHEN et al. (1995a e 1995b), SUSMEL et al. (1995) e SHINGFIELD & OFFER (1998).

Deste modo, a estimativa da excreção diária total de creatinina, com base em dados de outros

Tabela 1 - Médias, desvio padrão e probabilidade pelo teste F da influência de diferentes fatores sobre a excreção urinária de creatinina por ovinos.

Item	n	Excreção diária de creatinina		Creatinina (mg dl <sup>-1</sup> urina)
		(mg dia <sup>-1</sup> )	(mg kg <sup>-1</sup> de peso vivo)	
Média	76	659,8	23,2	54,0
Desvio Padrão		141,0	5,6	17,7
Probabilidade do erro Tipo I:				
E <sup>1</sup>	4	0,0001	0,0001	0,0001
A <sup>2</sup>	48	0,0093	0,4318	0,0001
T <sup>3</sup>	19	0,9840	0,9916	0,0264
P <sup>4</sup>	15	0,6736	0,6854	0,2789

<sup>1</sup>Efeito dos experimentos.

<sup>2</sup>Efeito dos animais.

<sup>3</sup>Efeito dos tratamentos (dietas).

<sup>4</sup>Efeito dos períodos experimentais.

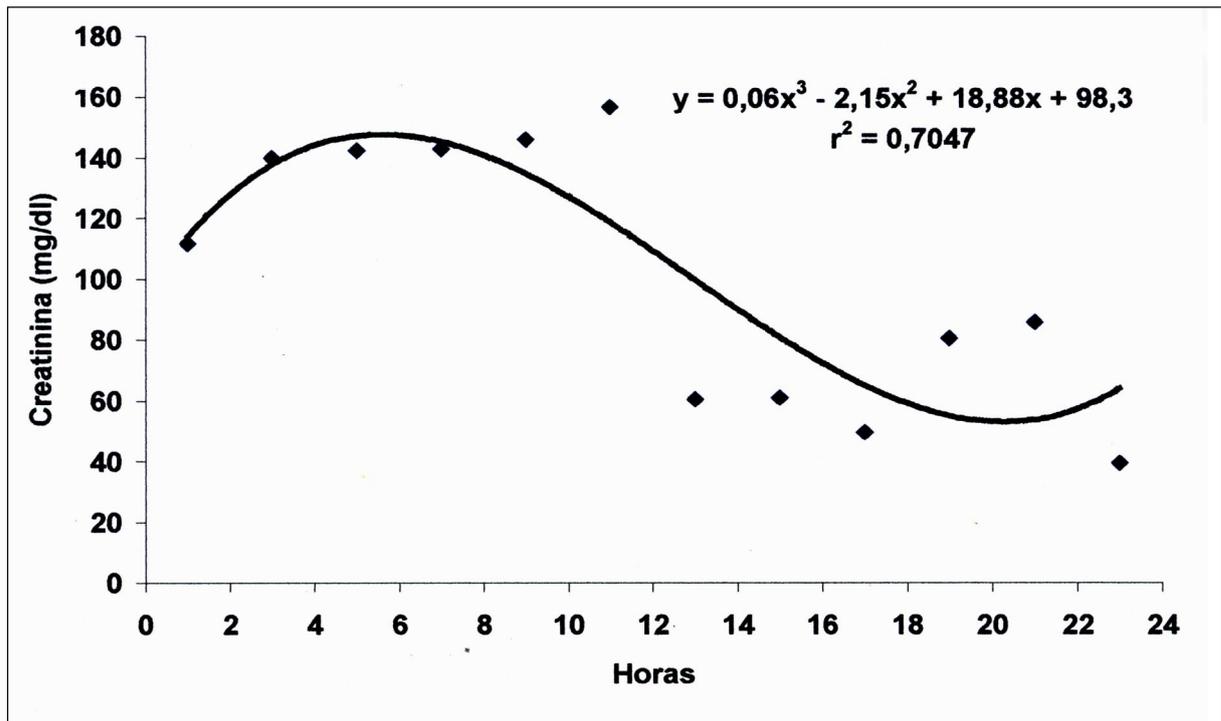


Figura 1 - Concentração de creatinina na urina de ovinos ao longo de um período de 24 horas.

experimentos, pode resultar em erros significativos na estimativa da produção urinária dos animais. Adicionalmente, este erro pode ser ainda maior se as amostragens pontuais de urina não forem representativas da urina total excretada, haja vista as variações associadas às mudanças nas taxas de filtração glomerular ao longo do dia.

## CONCLUSÕES

A estimativa da produção urinária dos animais, com base na concentração de creatinina em amostras pontuais de urina, pode ser confiável somente se, em pelo menos um animal representativo de um grupo experimental, for realizada coleta total de urina para medida da excreção média deste metabólito por unidade de peso corporal. Além disso, amostras pontuais de urina devem ser coletadas em diferentes horários para constituir uma amostra composta representativa de um ciclo de 24 horas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORSOOK, H.; DUBNOFF, J.W. The hydrolysis of phosphocreatine and the origin of urinary creatinina. *Journal of Biological Chemistry*, v.168, p. 493-510, 1947.
- CHEN, X.B. et al. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. *Animal Production*, v.55, n.2, p.185-191, 1992.
- CHEN, X.B. et al. Evaluation of the use of the purine derivative:creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. *Journal of Agricultural Science*, v.125, n.1, p.137-143, 1995a.
- CHEN, X.B. et al. On the use of purine derivatives in spot urine, plasma and milk samples as indicators of microbial protein supply in sheep and cattle. In: PORTUGAL, A.V. et al. (Eds). **Protein metabolism and nutrition**. Vale de Santarem : EAAP, 1995b. p.325-329. (Publication n.81).
- GONDA, H.L. et al. The effect of roughage to concentrate ratio in the diet on nitrogen and purine metabolism in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, v.64, n.1, p.27-42, 1996.
- GONDA, H.L.; LINDBERG, J.E. Evaluation of dietary nitrogen utilization in dairy cows based on urea concentration in blood, urine and milk, and on urinary concentration of purine derivatives. *Acta Agriculturae Scandinavica*, v.44, n.4, p.236-245, 1994.
- GÜRTLER, H. et al. **Fisiologia veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1987. 612p.
- KOZLOSKI, G.V. et al. Influência da idade de rebrota sobre o potencial nutricional do feno de capim elefante anão (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Mott) consumido por ovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE

- BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : SBZ, 2003. (CDRoom).
- MORAIS, J. **Estudo da digestão do feno de capim elefante anão (*Pennisetum purpureum* Schum. Mott) sob diferentes níveis de consumo em ovinos.** 2004. 86f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.
- MURRAY, R.K. et al. **Harper's biochemistry.** 25.ed. New York : McGraw-Hill, 1999. 928p.
- NSAHLAI, I.V. et al. Effect of form and of quality of feed on the concentrations of purine derivatives in urinary spot samples, daily microbial N supply and predictability of intake. **Animal Feed Science and Technology**, v.85, n.3-4, p.223-238, 2000.
- OLIVEIRA, A.S. et al. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoproteicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-proteicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- RENNÓ, L.N. et al. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1235-1243, 2000.
- SAS. **SAS Software**, Version 6.11. Cary, NC, 1996. CD room.
- SCHNEIDER, B.H.; FLATT, W.E. **The evaluation of feeds through digestibility experiments.** Athens : The University of Georgia, 1975. 423p.
- SCHUTTE, J.E. et al. Total plasma creatinine: an accurate measure of total striated muscle mass. **Journal of Applied Physiology**, v.51, p.762-766, 1981.
- SHINGFIELD, K.J.; OFFER, N.W. Evaluation of the spot urine sampling technique to assess urinary purine derivative excretion in lactating dairy cows. **Animal Science**, v.66, n.3, p.557-568, 1998.
- SILVA, R.M.N. et al. Uréia para vacas em lactação. 2. Estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1948-1957, 2001.
- SUSMEL, P. et al. Daily variation of purine derivatives concentration in urine of cows fed once or twice daily. **Zootecnica e Nutrizione Animale**, v.21, n.3, p.145-153, 1995.
- VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 4. Concentração de amônia ruminal e uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1270-1278, 1997.
- VALADARES, R.F.D. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.
- YU, P. et al. Effect of dietary protein variation in terms of net truly digested intestinal protein (DVE) and rumen degraded protein balance (OEB) on the concentrations and excretion of urinary creatinine, purine derivatives and microbial N supply in sheep: comparison with the prediction from the DVE/OEB model. **Animal Feed Science and Technology**, v.93, p.71-91, 2001.