

FABIOLA VOZNIKA GUIMARÃES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA GAMA GLUTAMIL
TRANSPEPTIDASE URINÁRIA EM CÃES QUE
RECEBERAM GENTAMICINA EM DOSE
TERAPÊUTICA**

Tese apresentada para a obtenção do título de Mestre
no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,
Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do
Paraná.

Área de concentração: Patologia Veterinária.

Orientador:

Prof. Dr. Pedro Ribas Werner

Co-orientadora:

Prof.^ª Rosangela Locatelli Dittrich

CURITIBA

2000




PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Tese da Candidata ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária **FABIOLA VOZNIKA GUIMARÃES** após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

- 1) A Tese, intitulada **“AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA GAMA GLUTAMIL TRANSPETIDASE URINÁRIA EM CÃES QUE RECERERAM GENTAMICINA EM DOSE TERAPÊUTICA”** foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) A Candidata se houve muito bem durante a Defesa de Tese, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pela Candidata, atribuiu o conceito “A” concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área de Patologia Veterinária.

Curitiba, 22 de maio de 2000.


Prof. Dr. PEDRO RIBAS WERNER
Presidente/Orientador


Prof. Dr. METRY BACILA
Membro


Prof. Dr. CIRO ALBERTO RIBEIRO
Membro

Dedico este trabalho para os meus pais Sidney e Rosana Voznika que sempre me apoiaram e ajudaram no difícil caminho do conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Ao meu marido, Rafael, por todo amor, apoio e compreensão durante essa difícil fase da vida.

Aos meus irmãos Fabricio e Fabiana que sempre estão ao meu lado.

À Beth que possibilitou que os exames laboratoriais fossem feitos diariamente.

Ao professor Pedro R. Werner, que muito me ensinou.

À professora Rosângela L. Dittrich que foi, além de orientadora, uma amiga.

Aos residentes do Hospital Veterinário da UFPR que nunca se negaram a ajudar na manipulação e manutenção dos cães.

Aos veterinários Simone, Marcão, Chipon e Ricardo que auxiliaram nas cirurgias dos cães.

À estudante Patricia que participou e auxiliou durante toda a fase do experimento.

A todos os funcionários do Hospital Veterinário da UFPR que estavam sempre dispostos a ajudar.

Às pessoas que adotaram os animais utilizados no experimento e que cuidam deles com muito carinho.

Aos cães que participaram do experimento que são a razão de toda a minha dedicação e amor à profissão.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	I
AGRADECIMENTOS	II
SUMÁRIO.....	III
RESUMO.....	V
ABSTRACT	VII
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	XI
1 – INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1- Preparo e seleção dos animais	17
3.2 - Administração da droga	18
3.3 - Coleta das amostras	18
3.4 – Urinálise	18
3.5 - Dosagem da atividade da GGT e da concentração de creatinina urinária	19
3.6 - Bioquímica sérica.....	20
3.7 - Exame histopatológico	20
3.8 - Análise estatística	21
4 – RESULTADOS	22
4.1 - Sinais Clínicos.....	22
4.2 – Urinálise	22

4.3 - Atividade da GGT.....	23
4.4 - Bioquímica sérica.....	23
4.5 - Exame histopatológico	24
5 – DISCUSSÃO	37
6 – CONCLUSÃO.....	42
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

RESUMO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA GAMA GLUTAMIL TRANSPEPTIDASE
URINÁRIA EM CÃES QUE RECEBERAM GENTAMICINA EM DOSE
TERAPÊUTICA

A gama glutamil transpeptidase urinária (GGT) é uma enzima encontrada nas células epiteliais com “borda em escova” do túbulo contorcido proximal renal. Esta enzima foi descrita em cães, eqüinos e ovinos, como indicador precoce de necrose tubular aguda, causada pelos aminoglicosídeos. Observou-se o aumento na atividade da GGT urinária, anterior a outros indicadores de lesão renal, como o aumento da uréia e creatinina sérica e a presença de sinais clínicos. Para a dosagem da atividade da GGT, utilizando-se apenas uma única amostra de urina diária, foi proposto dois tipos de relações. Uma primeira que relaciona os valores da atividade de GGT com a concentração de creatinina urinária e outra, mais recente, que a relaciona com o valor da densidade urinária. Este trabalho foi proposto para obter a melhor relação que expressa a verdadeira atividade da GGT na urina em uma amostra diária; determinar através de exame histopatológico se a gentamicina, na dose terapêutica de 10 mg/kg uma vez ao dia por 14 dias, causa lesão renal e determinar se a dosagem da atividade da GGT seria um indicador precoce de lesão renal, mesmo com o uso de

aminoglicosídeo com dose terapêutica. Foram utilizados 12 cães, sem raça definida, com idade de 1 a 5 anos, de ambos os sexos e saudáveis. Os cães foram divididos aleatoriamente, em grupo teste e controle, com seis cães cada. O grupo teste recebeu gentamicina na dose de 10 mg/kg, uma vez ao dia, por 14 dias. Coletou-se urina a cada 24 horas e sangue a cada 48 horas. Com a urina foram feitos os seguintes exames laboratoriais: urinálise, dosagem da atividade da GGT e da creatinina. Com o sangue foram feitas às dosagens da uréia e creatinina séricas. Após os 14 dias de tratamento, procedeu-se a nefrectomia do rim esquerdo de todos os cães. Cortes histológicos dos rins foram examinados. Na avaliação laboratorial o achado mais significativo foi a cilindrúria. A atividade da GGT urinária foi indicativo mais precoce de lesão tubular renal do que a dosagem sérica de uréia e creatinina. Não foram observados sinais clínicos de nefrotoxicidade nos animais do grupo teste. A avaliação histopatológica revelou necrose tubular aguda leve a moderada, tumefação celular, células epiteliais e proteína na luz tubular e infiltrado inflamatório intersticial. A determinação da atividade da GGT relacionado com a concentração de creatinina urinária, neste experimento, mostrou-se mais confiável do que a GGT relacionada com o valor da densidade urinária.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE ACTIVITY OF THE URINARY GAMMA
GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE IN DOGS WITH GENTAMICIN IN A
THERAPEUTIC DOSAGE.

The urinary gamma glutamyl transpeptidase (GGT) is an enzyme found in the epithelial cells with a brush board of the proximal tubules. This enzyme was described in dogs, equines and ovines as an early indicator of acute tubular necrosis caused by the aminoglycoside. It was observed that the increase in the activity of the urinary GGT was prior to other signs of renal lesion, such as the increase of serum urea and creatinine as well as clinical signs. The determination of the GGT activity with only one sample of daily urine there were two possible associations. One relates the activity values of the GGT with the concentration of urinary creatinine, and the other, more recent, relates the value of the urinary specific gravity. This study aimed to find a better association to show the real activity of the GGT in the urine on daily samples; determine through a histopathologic evaluation if the gentamicin, in a therapeutical dosage of 10 mg/kg once a day for a period of 14 days, causes renal lesion and determine if the dosage of the GGT activity would be an indicator of early renal lesions, even with the use of the aminoglycoside with therapeutic dosage. 12 dogs, mixed-breed, with an age range of one to five years, healthy and of both sexes were subjects. The dog

were randomly split in a test groups and control group, being six dogs in each group. The test group had a daily 10 mg/kg gentamicin dosage for 14 days. An urine sample was collected every 24 hours and a blood sample every 48 hours. The urine was lab tested as follows: urinalysis, GGT activity and creatinine dosage. The blood was tested to determinate the dosage of urea and creatinine. After 14 days of treatment a nefrectomy of the left kidney was performed in all dogs. Kidney cuts were examined. The laboratorial evaluation most significant finding was cylindruria. The urinary GGT activity was an earlier indicator of the renal tubular lesion then the serum count of urea and creatinine concentration. No signs of nephrotoxicity were observed in the test group subjects. The histopathologic evaluations showed mild to moderate acute tubular necrosis, cell swelling, epithelial cells and protein in the tubule and infiltrated inflammatory interstitial. A determination of the GGT activity relates with the concentration of urinary creatinine, in this experiment, suggested may be of more trustfully then the GGT relates to urinary specific gravity.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Valores médios referentes à atividade da GGT em relação à concentração de creatinina urinária em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle	25
TABELA 2 - Valores médios em UI/l referentes à atividade da GGT em relação à densidade urinária em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle	26
TABELA 3 - Valores médios em mg/dl referentes à concentração da uréia sérica em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle	27
TABELA 4 - Valores médios em mg/dl referentes à concentração de creatinina sérica em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle.....	27

TABELA 5 - Avaliação da presença de necrose tubular aguda em cães do grupo teste, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10/mg/kg/dia	28
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Histograma do número de cães que apresentam proteinúria. Os valores de 0-30 mg/kg representam os valores de normais. Cães tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias. Urinálise 28
- FIGURA 2 - Histograma do número de cães que apresentam células epiteliais no sedimento urinário. Os valores de 0-5/campo representam os valores normais. Cães tratados com gentamicina na dose de 10mg/kg/dia por 14 dias. Urinálise. 29
- FIGURA 3 – Histograma do número de cães que apresentam células epiteliais no sedimento urinário. Os valores de 0-5/campo representam os valores normais. Cães do grupo controle. Urinálise. 29

FIGURA 4 - Histograma do número de cães que apresentam cilindros granulosos no sedimento urinário. Os valores de 0-1/campo representam os valores normais. Cães tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias. Urinálise 30

FIGURA 5 -Histograma do número de cães que apresentam cilindros hialinos no sedimento urinário. Os valores de 0-2/campo representam os valores normais. Cães tratados com gentamicina na dose de 10mg/kg/dia por 14 dias. Urinálise..... 30

FIGURA 6 - Valores médios referentes à atividade da GGT em relação à concentração de creatinina urinária em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle. 31

FIGURA 7 - Valores médios em UI/l referentes à atividade da GGT em relação à densidade urinária em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle. 31

FIGURA 8 – Fotomicrografia do sedimento urinário de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Presença de grande quantidade de células epiteliais. Urinálise. Objetiva de 40 X..... 32

FIGURA 9 – Fotomicrografia de sedimento urinário de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Presença de cilindro granuloso. Urinálise. Objetiva de 40X..... 32

FIGURA 10 – Fotomicrografia de sedimento urinário de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Presença de cilindro hialino. Urinálise. Objetiva de 40X..... 33

FIGURA 11 – Fotomicrografia de corte histológico do rim de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Presença de proteína na luz dos túbulos contorcidos proximais. Hematoxilina e Eosina. Objetiva de 40 X 33

FIGURA 12 - Fotomicrografia de corte histológico do rim de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Observar a tumefação das células epiteliais de revestimento dos túbulos contorcidos proximais. Hematoxilina e Eosina.

Objetiva de 40 X..... 34

FIGURA 13 - Fotomicrografia de corte histológico do rim de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Observar necrose das células epiteliais do túbulo contorcido proximal. Os núcleos das células tubulares estão picnóticos e o citoplasma eosinofílico. Hematoxilina e Eosina.

Objetiva de 40 X..... 34

FIGURA 14 - Fotomicrografia de corte histológico do rim de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Observar infiltrado inflamatório intersticial. Hematoxilina e Eosina.

Objetiva de 40 X..... 35

FIGURA 15 - Fotomicrografia de corte histológico do rim de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia durante 14 dias. Presença de proteína e de células epiteliais na luz dos ductos coletores. Hematoxilina e Eosina. Objetiva de 40 X..... 35

FIGURA 16 - Fotomicrografia de corte histológico do rim de cão do grupo controle. Observar túbulos contorcidos proximais normais. Hematoxilina e Eosina. Objetiva de 40 X..... 36

FIGURA 17 - Fotomicrografia de corte histológico do rim de cão do grupo controle. Observar ductos coletores normais. Hematoxilina e Eosina. Objetiva de 40 X..... 36

1- INTRODUÇÃO

O rim desempenha um papel fundamental no organismo, pois é responsável pela eliminação de metabólitos, manutenção do equilíbrio eletrolítico e ácido-básico contribuindo deste modo para a homeostase. Os rins excretam a maioria dos fármacos administrados ao animal, ficando expostos à ação de drogas que podem causar toxicidade. As nefrotoxinas são uma das principais causas de insuficiência renal aguda em cães. A insuficiência renal aguda é diagnosticada, basicamente, através da observação de sinais clínicos, alterações na urinálise e aumento de uréia e creatinina sérica. Infelizmente esses parâmetros de função renal são observados tardiamente e a insuficiência renal já está estabelecida (CHEW & DIBARTOLA, 1992; FINCO, 1995a).

O estudo da atividade da gama glutamil transpeptidase urinária (GGT), localizada nas células com “borda em escova” do túbulo contorcido proximal renal, tem sido sugerido como um ótimo indicador de lesão tubular aguda decorrente do uso de drogas nefrotóxicas e de isquemia renal (UECHI et al., 1994)

GRECO et al. (1985), GOSSET et al. (1987), RIVERS et al. (1996) e HENNEMANN (1996) demonstraram que, quando usadas doses tóxicas de um agente nefrotóxico como a gentamicina, a atividade da GGT aumenta rapidamente na urina, antes do aparecimento de outros indicadores de lesão renal, proporcionando um diagnóstico precoce de nefrotoxicidade. RIVERS et al. (1996) demonstraram o aumento da atividade da GGT urinária em cães, utilizando dose terapêutica de gentamicina.

A estimativa acurada da liberação da GGT pelo rim requer a medida do volume de urina em 24 horas, mas a dificuldade em se obter urina durante esse período de tempo nos animais domésticos determinou o desenvolvimento de relações da atividade da GGT com outros parâmetros urinários (SHAW, 1976).

A atividade da GGT urinária foi determinada, na maioria dos estudos, em relação à concentração de creatinina urinária (ADAMS et al., 1985; GOSSET et al., 1987; ROSSIER, DIVERS & SWEENEY, 1995; RIVERS et al., 1996), mas há uma segunda proposta de determinação, relacionando a atividade da GGT com o valor da densidade urinária (DE SCHEPPER, DE COCK & CAPIAU, 19089; HENNEMANN, 1996).

A gentamicina é um antibiótico classificado como aminoglicosídeo. Ela é amplamente utilizada em medicina humana e veterinária para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram negativas, mas também é eficiente no combate de bactérias Gram positivas (SMITH et al., 1977; SCHENTAG et al. 1979; PRESCOTT & BAGGOT, 1993; CHAMBERS & SANDE, 1996; ANDRADE, 1997; FERREIRA, 1997). A gentamicina é nefrotóxica e tem sido utilizada para causar insuficiência renal aguda experimental (PRESCOTT & BAGGOT, 1993; CHAMBERS & SANDE, 1996; FADEL & LARKIN, 1996; ANDRADE, 1997; FERREIRA, 1997). Para a indução de nefrotoxicidade em cães, a dose utilizada de gentamicina é de 3 a 10 vezes a dose terapêutica (RIVERS et al., 1996).

A dose terapêutica indicada para cães é de 2-4 mg/kg administrada três vezes ao dia (PRESCOTT & BAGGOT, 1993; RIVERS et al., 1996; ANDRADE, 1997; ALLEN et al., 1998; MORGAN, 1997). Recentemente sugeriu-se que a soma das doses diárias dos aminoglicosídeos administrada uma vez ao dia, melhora a sua

eficácia e reduz a sua toxicidade, tanto em humanos quanto nos animais. Devido a isso, foi escolhida para esse experimento a dose de 10 mg/kg uma vez ao dia (STURM, 1989; TERBRAAK et al., 1990; GODBER et al., 1995; CAMPBELL, BARTHOLOW & ROSIN, 1996).

Esse estudo foi proposto em razão do uso de antibióticos nefrotóxicos em cães no tratamento de infecções e da importância do diagnóstico precoce de lesão renal para o rápido restabelecimento da função renal normal. Os objetivos deste trabalho são:

- A) Avaliação da atividade da GGT urinária como meio de diagnóstico precoce de lesão tubular renal aguda durante a administração de gentamicina na dose terapêutica de 10 mg/kg uma vez ao dia por 14 dias;
- B) Verificação, através de exame histopatológico, da presença de lesão tubular renal causada pela gentamicina na dose de 10 mg/kg uma vez ao dia por 14 dias;
- C) Comparação de duas formas diferentes de determinação da atividade da GGT urinária com uma única amostra de urina diária.

2- REVISÃO DE LITERATURA

A gama glutamil transpeptidase urinária é uma enzima que se origina da fração microssomal (retículo endoplasmático rugoso) e da membrana citoplasmática das células do túbulo contorcido proximal. A luz deste túbulo é revestida por uma camada de células epiteliais cúbicas, com microvilosidades em sua superfície apical, também conhecidas como células com “borda em escova” (KELLER, 1981; DE SCHEPPER DE COCK & CAPIAU, 1989; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1990; MEYER, COLES & RICH, 1995).

A GGT exerce papel essencial no transporte e manutenção da reserva de aminoácidos na célula, porque catalisa a hidrólise de peptídeos do filtrado glomerular, permitindo assim o transporte dos respectivos aminoácidos pelas células com borda em escova (HENNEMANN, 1996).

A GGT é encontrada em vários órgãos do organismo, como rim, pâncreas, fígado, intestino, coração e musculatura. (RUDOLPH & CORVALAN, 1992; MEYER, COLES & RICH, 1995; ROSSIER, DIVERS & SWEENEY, 1995). Demonstrou-se que a atividade da GGT em cães, ovinos, eqüinos, bovinos e suínos, é maior no rim, do que em outros órgãos (FORD, 1974; BROBST, CARROL & BAYLY, 1986; ALENCAR FILHO & SERVAES, 1994; MEYER, COLES & RICH, 1995).

Observou-se a presença da atividade da GGT na urina normal de ovelhas, cavalos, cães e pessoas (SHAW, 1976; ADAMS et al., 1985; BROBST, CARROL & BAYLY, 1986). A atividade da GGT encontrada na urina refere-se unicamente a sua presença no rim, pois a GGT sérica não é filtrada pelo glomérulo, devido seu alto

peso molecular (ADAMS et al., 1985; GRECO et al., 1985; DE SCHEPPER, DE COCK & CAPIAU, 1989). Isto foi primeiramente relatado por FORD (1974) que comprovou que o aumento da atividade da GGT sérica não está associado com a necrose de células epiteliais dos túbulos renais. KELLER, & FREUDIGER (1984) apud DE SCHEPPER, DE COCK & CAPIAU (1989) observaram que o aumento de 5 a 20 vezes nos valores normais da atividade da GGT sangüínea sem alteração da atividade enzimática urinária. Por outro lado o aumento da atividade da GGT urinária também não aumenta a atividade de GGT sérica, isto foi demonstrado por FARSHID, SUNDARARAJ & PARTHASARATHY (1993) que com o aumento da atividade da GGT urinária em cães com necrose tubular aguda induzida pela administração de cloreto de mercúrio, não observaram o aumento da atividade de GGT sérica.

A atividade da GGT urinária tem sido demonstrada em vários trabalhos como indicador precoce de necrose tubular aguda causada pela gentamicina quando utilizada doses tóxicas, em cães (GRECO et al., 1985; GOSSETT et al., 1987; HENNEMANN, 1996; RIVERS et al., 1996), cordeiros (FADEL & LARKIN, 1996) e cavalos (ROSSIER, DIVERS & SWEENEY, 1995)

A gentamicina é um antibiótico do grupo dos aminoglicosídeos, bactericida, que tem como mecanismo de ação a inibição da síntese protéica de bactérias Gram negativas e positivas (ANDRADE, 1997; FERREIRA, 1997; PRESCOTT & BAGGOT, 1993). A gentamicina é usada no tratamento de cistites, enterites, pneumonias, osteoartrites, septicemias e dermatites (ANDRADE, 1997).

Os aminoglicosídeos causam nefrotoxicidade demonstrada por necrose tubular aguda tóxica que é reversível se a membrana basal tubular não for

severamente lesada (GRECO et al., 1985; CHAMBERS & SANDE, 1996).

CHEW & DIBARTOLA (1992) verificaram que a nefrotoxicidade causada pelos aminoglicosídeos é a segunda causa de insuficiência renal aguda em cães e gatos e sua frequência parece estar aumentando. MEALEY & BOOTHE (1994) relataram nefrotoxicidade em um gato devido à aplicação tópica de gentamicina em ferida aberta.

A insuficiência renal aguda causada por nefrotoxinas é descrita como tendo três fases, que são: latência, manutenção e recuperação. A fase de latência é o período que fica compreendido entre a exposição a nefrotoxina até à detecção de azotemia e mudança na produção de urina (não é aparente em todos os animais). Nesta fase não se observam sinais clínicos e o sedimento urinário frequentemente está normal. A detecção da nefrotoxicidade e a eliminação da droga nefrotóxica nesta fase conduzem a um rápido retorno da função renal normal. A fase de manutenção se caracteriza por azotemia progressiva e diminuição da densidade urinária. Observam-se alterações na urinálise e no volume de urina. A eliminação da nefrotoxina, não conduz ao retorno imediato da função renal normal, sendo necessário, em média, de 7 a 14 dias para a recuperação. A fase de recuperação é caracterizada pelo retorno da função renal normal. A taxa de filtração glomerular e o fluxo sanguíneo renal retornam aos níveis normais. As células epiteliais tubulares recuperam-se, mas a capacidade de concentração da urina não retorna totalmente ao normal, sem nenhuma consequência clínica para o animal (CHEW & DIBARTOLA, 1988).

O risco da nefrotoxicidade depende de vários fatores, como: frequência de administração, dose total, duração do tratamento, idade, doenças concomitantes e

terapia combinada com outras drogas nefrotóxicas (PRESCOTT & BAGGOT, 1993).

A lesão renal é tanto mais severa quanto a maior frequência de administração do aminoglicosídeo. Trabalhos recentes, em animais e pessoas, têm sugerido que a administração da dose total dos aminoglicosídeos uma vez ao dia, em vez de dividi-la em várias aplicações, diminui a sua toxicidade e aumenta a sua eficácia, devido às suas características farmacológicas e microbiológicas. Os aminoglicosídeos têm um modelo bifásico para matar as bactérias. A primeira ação é bactericida rápida dependente da concentração da droga (quanto maior a concentração, maior a taxa de extermínio das bactérias) e uma segunda ação que é de morte lenta, consistindo num efeito pós-antibiótico (efeito bactericida mesmo após a droga ter caído abaixo da concentração inibitória mínima) (STURM,1989; TERBRAAK et al.,1990; PRESCOTT & BAGGOT, 1993; GODBER et al., 1995; CAMPBELL, BARTHOLOW & ROSIN, 1996; CHAMBERS & SANDE, 1996).

A dose total deve ser a mínima necessária para que tenha o efeito bactericida esperado (CHAMBERS & SANDE,1996).

Os animais jovens e idosos são mais susceptíveis a lesão renal pelos aminoglicosídeos (PRESCOTT & BAGGOT, 1993; BROWN & GRAUER, 1997). Em eqüinos RIVIERE et al. (1983) demonstraram esta maior susceptibilidade em potros.

FRAZIER, AUCOIN & RIVIERE (1988) e BROWN & GRAUER (1997) descreveram que o comprometimento renal, doença hepática, septicemia e a desidratação são fatores que aumentam a toxicidade da gentamicina em cães.

As terapias associadas com anfotericina B, vancomicina, cisplatina, ciclosporina e cefalotina agravam a nefrotoxicidade produzida pela gentamicina (PRESCOTT & BAGGOT, 1993;CHAMBERS & SANDE,1996).

GRAUER et al. (1994) relataram que a ingestão de dietas com alta concentração de proteína antes e durante a administração de gentamicina reduzem a toxicidade renal em cães, isto ocorre porque a alta concentração de proteínas aumenta o fluxo sanguíneo renal e a taxa de filtração glomerular (TFG). A eliminação e reabsorção da gentamicina dependem da TFG, sendo que quanto maior esta for, maior a eliminação da gentamicina e menor a sua reabsorção tubular. Ocorre também uma competição entre a proteína e a gentamicina para a reabsorção por endocitose pelas células do túbulo contorcido proximal renal, fazendo com que menor quantidade de gentamicina seja reabsorvida.

O mecanismo de ação da nefrotoxicidade não está totalmente esclarecido, mas sabe-se que os aminoglicosídeos ligam-se as microvilosidades das células com borda em escova do túbulo contorcido proximal, são endocitados, ligando-se em seguida aos grupos fosfato dos fosfolipídeos de carga negativa da membrana dos lisossomos e inibindo a atividade da fosfolipase lisossômica. Conseqüentemente, ocorre acúmulo de fosfolipídeos no interior dos lisossomos formando corpos mielóides. Os lisossomos podem romper-se, ocorrendo à liberação de hidrolases ácidas no citoplasma. Os aminoglicosídeos também alteram a permeabilidade celular, afetando o transporte de nutrientes, a regulação osmótica, o tamanho celular e diminuindo a capacidade de geração de energia (ATP) (CHEW & DIBARTOLA, 1988; CHEW & DIBARTOLA, 1992; MINGEOT-LECLERCQ, BRASSEUR & SCHANCK, 1995; HENNEMANN, 1996; DANTAS, 1996).

As lesões encontradas no exame histopatológico provocadas pela administração de aminoglicosídeos são: tumefação celular, necrose das células epiteliais de revestimento do túbulo contorcido proximal com preservação da

membrana basal, presença de proteínas e restos celulares na luz tubular e infiltrado inflamatório intersticial. Estas lesões podem variar de acordo com a gravidade da toxicidade (CHEW & DIBARTOLA, 1992; DANTAS, 1996).

Os sinais clínicos descritos em cães com nefrotoxicidade são: apatia, anorexia, oligúria ou poliúria e gastroenterite hemorrágica (GRECO et al., 1985; HENNEMANN, 1996)

A exata patofisiologia da oligúria em pacientes com insuficiência renal aguda não está totalmente esclarecida. Tem-se sugerido que a oligúria ocorre devido a vasoconstrição renal, diminuição da permeabilidade glomerular, obstrução do lume tubular por cilindros e extravazamento tubular do filtrado glomerular. A oligúria também pode desenvolver-se posteriormente em cães com insuficiência renal poliúrica devido a causas pré-renais como desidratação e descompensação cardíaca. Se a causa pré-renal for removida o animal retornará a ser poliúrico. Em cães, a oligúria é definida como a produção de urina menor que 0,5 ml/kg/hora. A poliúria ocorre devido à diminuição da reabsorção tubular. (CHEW & DIBARTOLA, 1992; GRAUER & LANE, 1995; OSBORNE et al., 1995).

A gastroenterite hemorrágica observada na insuficiência renal aguda, causada pela gentamicina, ocorre devido às toxinas urêmicas. (GRAUER & LANE, 1995). Existem mais de 40 compostos que são classificados como toxinas urêmicas, Elas se acumulam devido à perda da função excretora renal. Os fatores que podem estar associados no desenvolvimento da gastroenterite urêmica são: alterações no muco do estômago permitindo a ação do ácido clorídrico na mucosa gástrica, erosões na mucosa entérica pela ação da amônia formada a partir da uréia através da ação da urease bacteriana, sangramento provocado pela disfunção plaquetária

causada pelas toxinas urêmicas e maior concentração de gastrina. O vômito é um sinal clínico comum de uremia em cães e sugere-se que a metilguanidina, um produto de degradação bacteriana da uréia e creatinina, seja responsável pela estimulação da zona quimiorreceptora no sistema nervoso central, desencadeando o vômito (CHEW & DIBARTOLA, 1992).

Na urinálise de cães com nefrotoxicidade induzida pela gentamicina, podem ser observadas alterações físicas, químicas e no sedimento urinário. Observa-se diminuição da densidade urinária, o aparecimento de proteinúria, glicosúria e de cilindrúria. A dosagem da atividade de GGT na urina revela enzimúria, sendo esta a primeira alteração observada. Na bioquímica sérica, observa-se azotemia progressiva (BROWN, BARSANTI & CROWELL, 1985; GRECO et al., 1985; RUDOLPH & CORVALAN, 1992; GRAUER et al., 1994; PRESCOT & BAGGOT, 1994; MEYER, COLES & RICH, 1995; CHAMBERS & SANDE, 1996; RIVERS et al., 1996).

Segundo ALENCAR FILHO & SERVAES (1994) os valores normais de densidade urinária variam entre 1016 a 1050, sendo que existe uma terminologia específica para as suas variações. Isostenúria é quando a densidade está entre 1007 à 1015, isto é, a urina tem a mesma concentração do filtrado glomerular. Hipostenúria é a urina menos concentrada que o filtrado glomerular, com densidade menor que 1007. Hiperestenúria é a urina mais concentrada que o filtrado glomerular, com densidade maior que 1015. A concentração da urina é influenciada pela dieta, ingestão de água, temperatura ambiente e quantidade de atividade física (CHEW & DI BARTOLA, 1988).

A proteinúria é definida como a presença de proteína na urina. Elas são originárias de proteínas do plasma, do trato urinário e genital (OSBORNE et al., 1995). A maior parte das proteínas detectadas na urina, através das fitas reagentes comumente usadas nos laboratórios, é a albumina (CHEW & DIBARTOLA, 1988; OSBORNE et al., 1995). A proteinúria tubular é caracterizada pela excreção de proteínas plasmáticas de baixo peso molecular. Doenças tubulares geralmente não causam hipalbuminemia (OSBORNE et al., 1995). A proteinúria tubular resulta da insuficiente reabsorção tubular das proteínas, perda protéica das células tubulares lesadas e inflamação do parênquima renal (CHEW & DIBARTOLA, 1988). A proteinúria pode ser também causada por fatores pré ou pós-renais como: estro, febre, exercício, calor ou frio extremo e inflamação do trato urinário inferior (CHEW & DIBARTOLA, 1988; LEES, WILLARD & GREEN, 1994) O valor normal de proteinúria em cães é de 0-50 mg/dl.

A glicose é reabsorvida do filtrado glomerular pelo túbulo contorcido proximal e normalmente não é detectada por exames de rotina na urina de cães. A glicosúria pode ser observada em casos de insuficiência renal aguda associada a grave lesão tubular renal (CHEW & DIBARTOLA, 1988; OSBORNE et al., 1995).

Os cilindros são agregados mucoprotéicos e/ou celulares. São formados na alça de Henle, túbulo contorcido distal e ducto coletor renal (CHEW & DIBARTOLA, 1988; OSBORNE et al., 1995). Os cilindros são classificados, de acordo com a morfologia, em: hialino, epitelial, granular, leucocitário, eritrocitário, céreo e gordurosos (MEYER, COLES & RICH, 1995; OSBORNE et al., 1995).

Os cilindros hialinos são formados de mucoproteína de Tamm-Horsfall e albumina. São difíceis de visualizar no sedimento urinário e diluem-se facilmente em

urina alcalina. Observa-se com freqüência em doenças renais que causam proteinúria. Podem ser produzidos transitoriamente em diversas situações como febre e exercício prolongado. Os valores normais são de 0-2 cilindros hialinos por campo (objetiva de 40X) (CHEW & DIBARTOLA, 1988; LEES, WILLARD & GREEN, 1994; MEYER, COLES & RICH, 1995).

Teoriza-se que os cilindros epiteliais, gordurosos, granulados e céreos sejam diferentes estágios de degeneração dos cilindros de células epiteliais. Estes contêm células epiteliais tubulares descamadas não degeneradas. Os lipídeos acumulados no citoplasma da célula, altamente refringentes, são chamados, às vezes, de cilindros gordurosos. Devido à ausência de oxigênio e nutrientes, ocorre a degeneração das células epiteliais, formando os cilindros granulados que, por sua vez, degeneram-se totalmente, resultando em uma massa homogênea, sem cor, chamado de cilindro céreo (OSBORNE et al., 1995).

Os cilindros granulados são formados pela degeneração de células epiteliais tubulares, sugerindo necrose tubular aguda. Cães normais apresentam de 0 a 1 cilindros granulados por campo (objetiva de 40X) (LEES, WILLARD & GREEN, 1994; MEYER, COLES & RICH, 1995).

Os testes de função renal obtido através da bioquímica sérica, em cães com nefrotoxicidade pelos aminoglicosídeos, mostraram azotemia que é definida como a elevação da uréia e creatinina sangüínea. A uréia é o produto final do catabolismo protéico e quase toda a sua síntese é feita no fígado. A uréia é excretada pelos rins através de filtração glomerular e 60% da uréia filtrada é reabsorvida pelos túbulos renais. A quantidade de uréia excretada depende da taxa de fluxo urinário. Quanto maior o fluxo, maior a quantidade de uréia excretada e menor a concentração de

uréia sérica, sem necessariamente aumentar a taxa de filtração glomerular. (CHEW & DIBARTOLA, 1988; FINCO, 1995a). O valor sérico normal da uréia em cães é de 21-60 mg/dl, este valor é calculado a partir do valor de nitrogênio uréico sérico (BUN) que é de 10-28 mg/dl. (KANECO, HARVEY & BRUSS, 1997). O valor do nitrogênio uréico reflete somente o valor da porção do nitrogênio da molécula de uréia, isto é 0,47 (FINCO, 1997).

A creatinina é formada durante o metabolismo muscular. É filtrada pelos glomérulos na mesma concentração do plasma. Não é reabsorvida nem secretada pelos túbulos renais, por isso é o melhor indicador da filtração glomerular. Os cães machos são uma exceção, pois secretam uma pequena quantidade de creatinina pelos túbulos proximais, sendo o valor de creatinina urinária levemente superestimado (RIVERS et al., 1996). A dieta tem pouca influência sobre o valor de creatinina sérica e urinária. A creatinina é excretada na urina numa taxa praticamente constante (CHEW & DIBARTOLA, 1988; FINCO, 1995b; MEYER, COLES & RICH, 1995). O valor normal de creatinina sérica em cães é de 0,5-1,5 mg/dl (KANECO, HARVEY & BRUSS, 1997).

O aumento da excreção de GGT pela urina, também denominada como enzimúria, é a primeira alteração observada em animais com nefrotoxicidade pelos aminoglicosídeos (BROWN, BARSANTI & CROWELL, 1985; GRECO et al., 1985; RUDOLPH & CORVALAN, 1992; GRAUER et al., 1994; PRESCOT & BAGGOT, 1994; MEYER, COLES & RICH, 1995; CHAMBERS & SANDE, 1996; RIVERS et al., 1996). As alterações no volume de urina durante o dia alteram os valores da atividade da GGT. Devido a isso, a estimativa acurada da liberação da GGT pelo rim requer a medida do volume de urina em 24 horas (SHAW, 1976). Esse tipo de coleta

necessita de gaiolas metabólicas ou cateterização por 24 horas, tornando-se inviável na prática clínica médica veterinária. Devido a grande utilidade da dosagem da atividade da GGT em detectar lesão tubular renal e para compensar essa variação diária faz-se a relação do valor da atividade de GGT com a concentração de creatinina urinária (ADAMS et al., 1985; GOSSETT et al., 1987; UECHI et al., 1994; RIVERS et al. 1996). Essa relação foi usada em cavalos (ADAMS et al., 1985; BROBST, CARROL & BAYLY, 1986; RUDOLPH & CORVALAN, 1992; ROSSIER, DIVERS & SWEENEY, 1995), em bezerros (SOMMARDAHL et al., 1997) em cães (GOSSET et al., 1987; RIVERS et al., 1996), em cordeiros (FADEL & LARKIN, 1996) e em pessoas (ADAMS et al., 1985).

GOSSET et al. (1987) definiram, em cão, a relação da GGT com a concentração de creatinina urinária pela fórmula: **GGT urinária (IU/l)/ creatinina urinária (mg/dl)**. ADAMS et al. (1985) e BROBST, CARROL & BAYLY (1986) afirmaram que a razão entre GGT/creatinina urinária permanece relativamente constante, embora a atividade da GGT na urina possa aumentar ou diminuir, dependendo da taxa de fluxo urinário. Segundo GOSSET et al. (1987) a razão GGT/creatinina urinária tem um grande valor clínico, pois, é um teste rápido, fácil e barato de detectar lesão tubular renal.

DE SCHEPPER, DE COOK & CAPIAU (1989) e HENNEMANN (1996) relataram que a determinação da atividade da GGT em relação à concentração de creatinina urinária não era válida fisiologicamente, pois a GGT urinária não é filtrada pelo glomérulo como a creatinina e indica uma lesão tubular. Foi demonstrado que a variação na atividade da GGT urinária entre uma única amostra e outra 18 horas mais tarde, estava relacionada com a densidade da urina da amostra. Usou-se a

densidade de 1025 como fator de correção. Então, foi proposto um novo método de determinação da atividade da GGT que a relaciona com o valor da densidade urinária, sendo: $X=Y \times 25/Z$, onde Y = valor da atividade da GGT urinária e Z = dois últimos dígitos do valor da densidade.

A atividade da GGT urinária é medida por uma amostra do sobrenadante após a centrifugação da urina coletada. Existem controvérsias na literatura sobre a necessidade de filtrar o sobrenadante antes da dosagem da atividade da GGT. Segundo ADAMS et al. (1985) não foram encontradas evidências de inibidores da atividade da GGT e segundo GOSSET et al. (1987) o efeito dos inibidores da atividade da GGT na urina é insignificante. Devido a isso, neste experimento, o sobrenadante não foi filtrado.

Os kits comerciais para dosagem da GGT sérica podem ser usados para medir a atividade da GGT urinária, apesar das diferenças de pH, densidade e viscosidade do sobrenadante com o soro (ADAMS et al., 1985).

MULLER et al. (1997) relataram que a GGT sérica ficaria estável nos soros de bezerros recém nascidos que foram armazenados sob refrigeração por 4 dias. GOSSET et al. (1987) observou que a GGT urinária também é relativamente estável na urina se o sobrenadante for estocado por até 4 dias sob refrigeração (4°C).

A atividade da GGT urinária não é somente utilizada para a detecção de lesão tubular renal nos casos do uso de drogas nefrotóxicas, mas também para outras causas de lesão tubular (UECHI et al., 1994). DE SCHEPPER, DE COCK & COPIAU (1989) desenvolveram um trabalho sobre o grau de disfunção renal que ocorre em cadelas com piometra, sendo um dos indicadores principais de lesão renal a dosagem da atividade da GGT urinária. PALACIO, LISTE & GASCÓN (1997)

relataram que em cães com leishmaniose o aumento da atividade da GGT urinária foi um indicador precoce de lesão renal, sendo que a dosagem de uréia e creatinina sérica ainda permaneciam normais. SHAW (1976) relatou o aumento da atividade da GGT na urina de carneiros no caso de lesão renal devido à intoxicação com cloreto de mercúrio.

O aumento da atividade da GGT urinária sempre indica lesão renal aguda, mas a determinação de valores normais não exclui totalmente a presença de doença renal (SHAW, 1976). No caso de lesão renal crônica a atividade da GGT urinária está normal ou diminuída. Isto ocorre devido os túbulos renais estarem destruídos e substituídos por tecido conjuntivo (SHAW, 1976; GRECO et al., 1985). BARE et al. (1974) apud SHAW (1976) relataram o aumento de concentrações de GGT urinária em pessoas com glomerulonefrite aguda e concentrações normais ou reduzidas em pacientes com glomerulonefrite crônica.

3- MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados doze cães, adultos, saudáveis, seis machos e seis fêmeas, sem raça definida, com peso médio de $8,5 \pm 2,5$ kg, com idade entre 2 a 5 anos e provenientes do Canil Municipal de Curitiba.

Os animais foram mantidos em canil individual, no Hospital Veterinário da UFPR, durante toda a execução do experimento. A alimentação era fornecida diariamente e consistia em ração comercial balanceada e água "ad libitum".

3.1- Preparo e seleção dos animais

Todos os cães foram desverminados com ivermectina¹ na dose de 0,4 mg/kg SC e praziquantel² na dose de 5 mg/kg VO.

Os cães foram selecionados primeiramente através de exame clínico geral, oftalmológico e otológico. No exame clínico geral foi observada a coloração das mucosas, temperatura corporal, tamanho dos linfonodos, condição corporal e presença de doenças de pele. Os cães ficaram em observação para verificar o apetite, consistência das fezes e se existia algum outro sinal clínico de doença.

Foram feitos exames laboratoriais, tais como: hemograma, bioquímica sérica (uréia, creatinina e ALT), urinálise e determinação da atividade da gama glutamil transpeptidase e da concentração de creatinina urinária. O grupo teste e o grupo controle eram compostos de seis cães cada, escolhidos aleatoriamente.

¹ Ivomec. Merck Sharp & Dohme Farmacêutica e Veterinária LTDA. Av. Brig. Faria Lima, 1815. São paulo, SP.

² Cestox 150 mg. Merck S/A Indústrias Químicas. Estrada dos Bandeirantes, 1099. Rio de Janeiro, RJ.

3.2- Administração da Droga

O grupo teste recebeu gentamicina³ na dose de 10 mg/kg por via subcutânea, uma vez ao dia, por 14 dias. A aplicação era feita entre 18:00 e 19:00 horas.

3.3- Coleta das amostras

Todas as manhãs colheram-se amostras de urina de todos os cães durante micção espontânea. A cada 48 horas obtiveram-se amostras de sangue, através da punção da veia jugular, utilizando-se agulhas 25x8 e frascos especiais a vácuo.

3.4- Urinálise

As amostras de urina eram processadas no mesmo dia da coleta. A urinálise consistia na medida da densidade através de refratômetro, e na análise da presença de proteína, glicose, sangue e pH com fitas reagentes⁴. A urina foi centrifugada por 10 min. a 1500 rpm e duas gotas do sedimento foram examinadas em microscópio óptico. No sedimento urinário foram observados a presença de células epiteliais, leucócitos e cilindros. A contagem desses elementos foram feitos por campos, com aumento de 400 vezes.

³ Gentocin (40mg/ml). Schering-Plough veterinária S/A. Estrada dos Bandeirantes,3091. Rio de Janeiro, RJ.

⁴Rapignost total screen – Bering. Marburg, Germany.

3.5- Dosagem da atividade da GGT e da concentração de creatinina urinária:

Após centrifugação da urina o sobrenadante foi separado para a determinação da GGT e creatinina urinária.

Os valores da atividade da GGT na urina foram determinados através de kit comercial⁵, pelo método cinético, utilizando como substrato a gama-glutamil-paranitroanilida em solução tamponada de glicilglicina. Usou-se espectrofotômetro⁶ ajustado para leitura de 405nm de comprimento de onda.

A determinação da atividade GGT urinária foi executada por dois tipos de equações distintas. A primeira relaciona a GGT com a dosagem de creatinina urinária:

GGT(U/l)/ creatinina urinária(mg/dl).

O segundo relaciona a GGT com a densidade urinária:

$X(U/l)=Y(U/l)\times 25/Z$, onde **X**= atividade de GGT urinária procurada, **Y**= atividade de GGT determinada pela amostra e **Z**= últimos dois dígitos da densidade urinária da amostra.

A creatinina urinária foi determinada por kit comercial⁷, utilizando-se método colorimétrico.

⁵ Laborlab S/A produtos para laboratório. Estrada dos Romeiros,2369. Barueri, SP.

⁶ Espectrofotômetro UV VIS. Metrolab 330

⁷ Bioclin química básica. R: Teles de Menezes,92. Belo Horizonte, MG.

3.6- Bioquímica sérica

O soro das amostras de sangue foi separado para determinação da concentração de uréia e creatinina através de kit comercial⁸. A dosagem da concentração de uréia foi feita pelo método enzimático e a concentração de creatinina através do método colorimétrico de ponto final.

3.7- Exame histopatológico

No décimo quinto dia do experimento, os cães de ambos os grupos foram submetidos a nefrectomia do rim esquerdo. Secções longitudinais do terço médio desses rins foram colhidas e fixadas em formol a 10%. Os fragmentos de tecido renal foram levados ao laboratório, aonde foram processados, incluídos em parafina histológica e cortados a 5 μ m. Os cortes histológicos foram corados pela técnica da hematoxilina e eosina. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico.

Para classificar a gravidade da lesão renal foi usada uma escala baseada em RIVERS et al., 1996:

- Grau 1 – ausente – parênquima renal normal;
- Grau 2 – discreto – necrose celular em 10% ou menos dos túbulos proximais da amostra;
- Grau 3 – moderado – necrose celular em 10 a 50% dos túbulos proximais da amostra;
- Grau 4 – severo – necrose celular em mais de 50% dos túbulos proximais da amostra.

⁸ Laborlab S/A produtos para laboratório. Estrada dos Romeiros, 2369. Barueri, SP.

3.8- Análise estatística

A análise estatística foi feita comparando-se as médias do grupo teste com o do grupo controle, através do teste de “t” de Student para amostras independentes.

4- RESULTADOS

4.1- Sinais Clínicos

Os animais do grupo testes não apresentaram nenhum sinal clínico de nefrotoxicidade durante os 14 dias de tratamento.

4.2- Urinálise

Na avaliação laboratorial das propriedades físicas da urina não foram observadas variações significativas. As médias das densidades urinárias permaneceram normais durante todo o experimento.

No exame químico da urina não foram observadas glicosúria, hematúria e alterações no pH em nenhum dos dias do experimento. A proteinúria foi encontrada em apenas um dos cães do grupo teste após o sétimo dia (Figura 1).

No sedimento urinário houve aumento significativo do número de células epiteliais somente nos três últimos dias do experimento comparado com o grupo controle (Figuras 2, 3 e 8). Observou-se aumento na quantidade de cilindros granulosos a partir do quinto dia do experimento no grupo teste (Figuras 4 e 9). Os cilindros hialinos aumentaram nos animais do grupo teste (Figuras 5 e 10). A presença de leucócitos no sedimento urinário do grupo teste e controle, não apresentaram diferenças significativas até o final do experimento.

4.3- Atividade da GGT:

As médias obtidas para a atividade da GGT em relação à concentração de creatinina urinária do grupo teste apresentaram diferenças estatisticamente significativas a partir do sexto até o décimo quinto dia do experimento quando comparado com o grupo controle. No 12º dia não houve diferença estatisticamente significativa, mas observou-se grande variação nos valores do grupo teste e controle (Tabela 1 e Figura 6).

As médias obtidas para a atividade da GGT em relação à densidade urinária, não mostraram um padrão de coerência e linearidade, apresentando diferenças estatisticamente significativas somente nos dias 8, 10, 13 e 14 do experimento (Tabela 2 e Figura 7).

4.4- Bioquímica sérica

A concentração da uréia sérica do grupo controle não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado com o grupo teste, exceto no primeiro dia. Apesar disso os valores de uréia séricos estavam normais nos dois grupos (Tabela 3).

Os valores de creatinina sérica não foram estatisticamente diferentes entre o grupo teste e o controle, exceto no décimo terceiro dia. Apesar disso, os valores séricos de creatinina estavam normais nos dois grupos (Tabela 4).

4.5- Exame histopatológico

Observou-se necrose tubular aguda do grau 2 ao 3 (discreto ao moderado) como o principal achado no exame histopatológico do rim dos animais do grupo teste, sendo que a maioria dos animais apresentou grau moderado (Tabela 5 e Figura 13). Os outros achados do histopatológico nos animais do grupo teste foram: tumefação celular (Figura 12), presença de proteína e células na luz tubular (Figuras 11 e 15) e infiltrado inflamatório intersticial (Figura 14). O grupo controle não apresentou necrose tubular ou outras lesões renais (Figuras 16 e 17).

TABELA 1 – Valores médios referentes à atividade da GGT em relação à concentração de creatinina urinária em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle:

Dias do Experimento	Grupo Teste	Grupo Controle
1	0,17 \pm 0,06	0,22 \pm 0,06
2	0,25 \pm 0,13	0,19 \pm 0,06
3	0,26 \pm 0,20	0,21 \pm 0,11
4	0,23 \pm 0,13	0,26 \pm 0,19
5	0,28 \pm 0,16	0,17 \pm 0,08
6	0,32 \pm 0,10**	0,19 \pm 0,08
7	0,47 \pm 0,18*	0,21 \pm 0,09
8	0,51 \pm 0,18*	0,19 \pm 0,07
9	0,52 \pm 0,11*	0,24 \pm 0,17
10	0,49 \pm 0,23**	0,24 \pm 0,14
11	0,37 \pm 0,14**	0,18 \pm 0,09
12	0,44 \pm 0,24	0,21 \pm 0,19
13	0,51 \pm 0,16*	0,20 \pm 0,10
14	0,44 \pm 0,21*	0,16 \pm 0,07
15	0,40 \pm 0,19**	0,20 \pm 0,08

** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$

TABELA 2 – Valores médios em UI/l referentes à atividade da GGT em relação à densidade urinária em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle:

Dias do Experimento	Grupo Teste	Grupo Controle
1	18,07 ± 6,27	33,53 ± 18,97
2	25,35 ± 16,58	24,97 ± 15,15
3	26,45 ± 28,90	32,32 ± 33,74
4	24,08 ± 15,94	14,82 ± 7,40
5	26,23 ± 21,41	19,77 ± 18,15
6	30,18 ± 20,46	22,55 ± 19,73
7	46,05 ± 26,31	24,41 ± 14,10
8	60,07 ± 25,91*	22,18 ± 9,38
9	51,47 ± 32,65	43,63 ± 24,33
10	47,73 ± 26,17**	18,72 ± 9,08
11	34,48 ± 26,21	20,68 ± 16,51
12	32,98 ± 14,67	17,43 ± 13,04
13	57,65 ± 20,70*	13,80 ± 9,57
14	52,28 ± 33,35**	15,17 ± 9,77
15	34,10 ± 19,20	27,78 ± 14,94

** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$

TABELA 3 - Valores médios em mg/dl referentes à concentração da uréia sérica em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle:

Dias do Experimento	Grupo Teste	Grupo Controle
1	31,95 ± 8,77*	22,44 ± 5,13
3	31,84 ± 9,96	25,36 ± 5,89
5	22,31 ± 6,01	19,15 ± 3,97
7	30,25 ± 6,77	30,97 ± 7,60
9	28,56 ± 2,89	29,27 ± 6,44
11	28,98 ± 4,74	24,58 ± 3,73
13	33,71 ± 7,75	33,05 ± 9,07
15	25,11 ± 4,42	29,25 ± 6,38

* $p \leq 0,05$

TABELA 4 - Valores médios em mg/dl referentes à concentração da creatinina sérica em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle:

Dias do Experimento	Grupo Teste	Grupo Controle
1	0,76 ± 0,10	0,78 ± 0,19
3	0,77 ± 0,09	0,69 ± 0,10
5	0,85 ± 0,10	0,84 ± 0,19
7	0,86 ± 0,11	0,89 ± 0,17
9	0,80 ± 0,08	0,89 ± 0,18
11	0,79 ± 0,09	0,89 ± 0,21
13	1,01 ± 0,09*	0,86 ± 0,09
15	0,93 ± 0,19	0,85 ± 0,12

* $p \leq 0,05$

TABELA 5 – Avaliação da presença de necrose tubular aguda em cães do grupo teste, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia:

	Cão 1	Cão 2	Cão 3	Cão 4	Cão 5	Cão 6
Necrose tubular aguda	2	3	3	3	3	2

Grau 1= normal; Grau 2= discreto; Grau 3= moderado; Grau 4= severo.

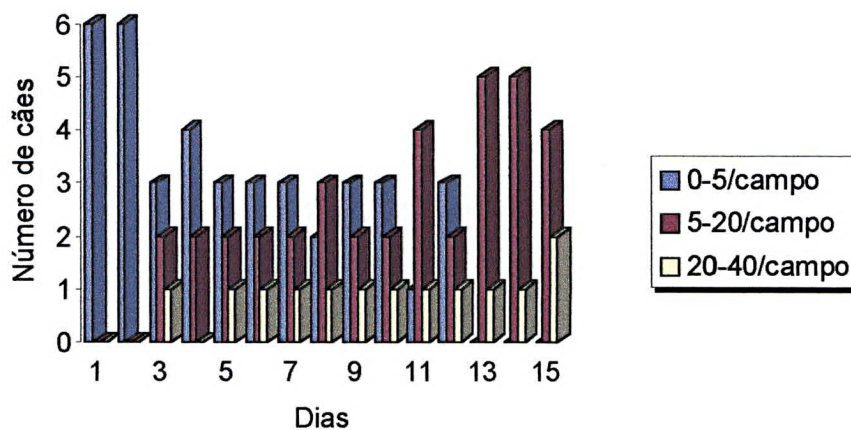


FIGURA 1 - Histograma do número de cães que apresentam proteinúria. Os valores de 0-30 mg/kg representam os valores de proteína normais. Cães tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias. Urinálise.

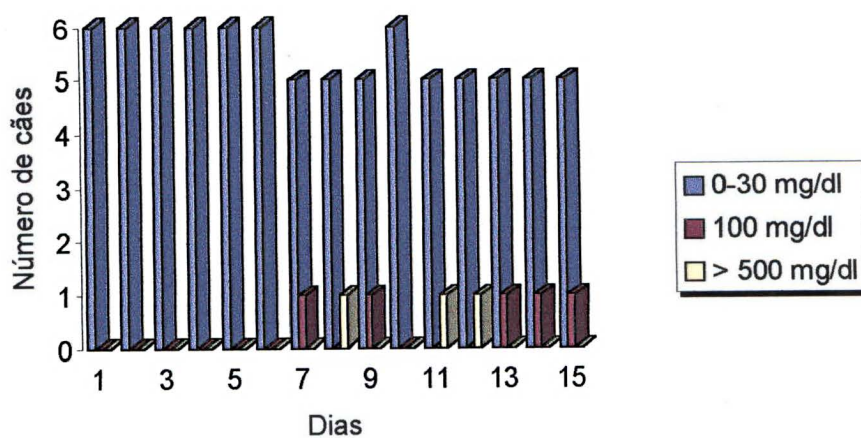


FIGURA 2 - Histograma do número de cães que apresentam células epiteliais no sedimento urinário. Os valores de 0-5/campo representam os valores normais. Cães tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias. Urinálise.

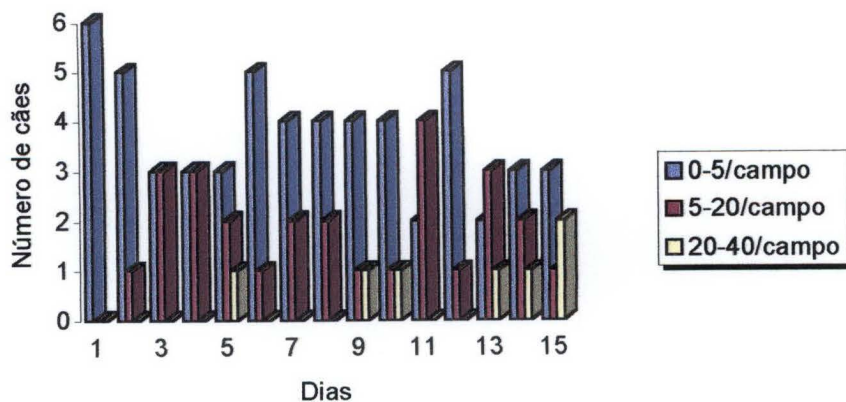


FIGURA 3 - Histograma do número de cães que apresentam células epiteliais no sedimento urinário. Os valores de 0-5/campo representam os valores normais. Cães do grupo controle. Urinálise.

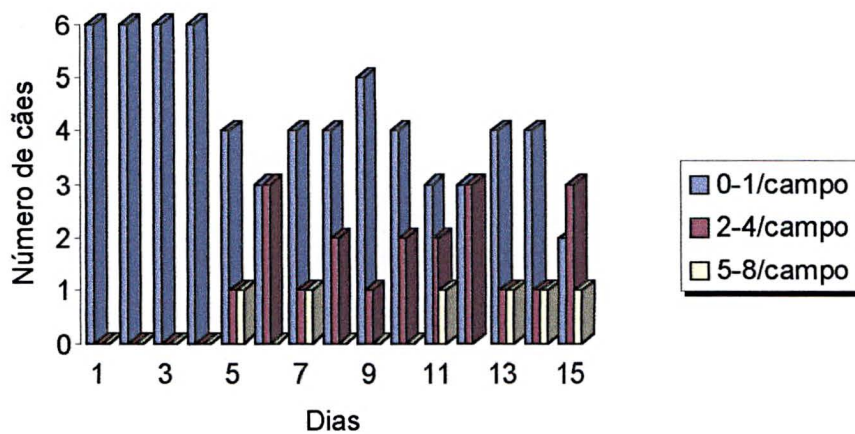


FIGURA 4 - Histograma do número de cães que apresentam cilindros granulosos no sedimento urinário. Os valores de 0-1/campo representam os valores normais. Cães tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias. Urinálise.

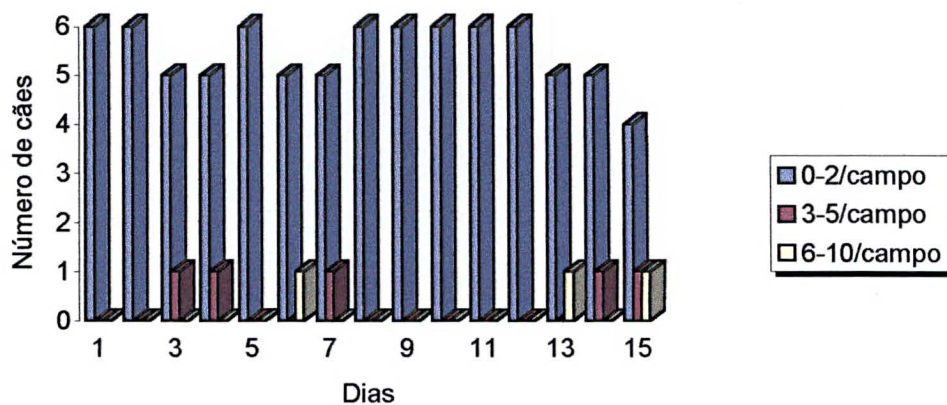


FIGURA 5 - Histograma do número de cães que apresentam cilindros hialinos no sedimento urinário. Os valores de 0-2/campo representam os valores normais. Cães tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias. Urinálise.

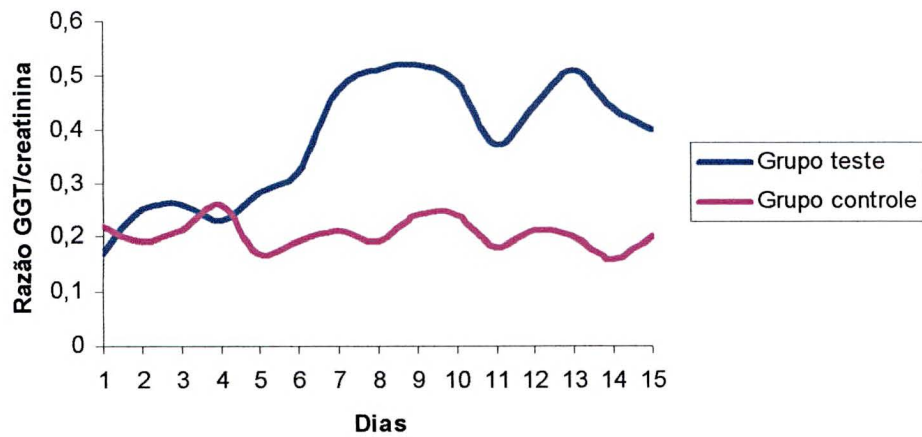


FIGURA 6 – Valores médios referentes à atividade da GGT em relação à concentração de creatinina urinária em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle:

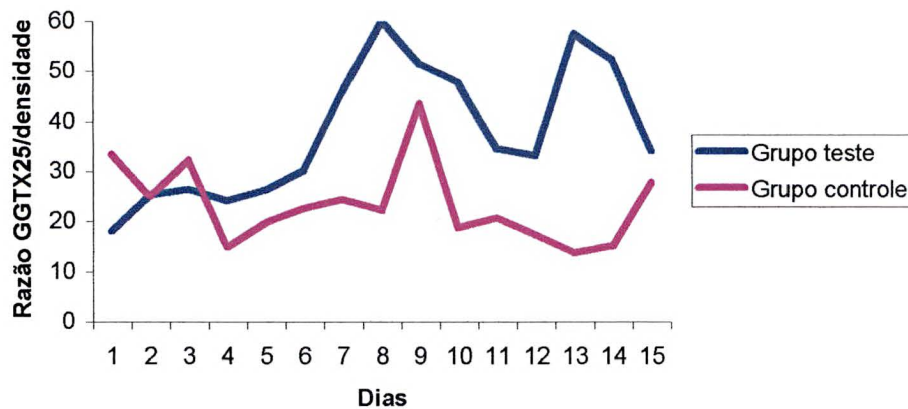


FIGURA 7 - Valores médios em UI/l referentes à atividade da GGT em relação a densidade urinária em cães do grupo teste tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia por 14 dias e em cães do grupo controle.

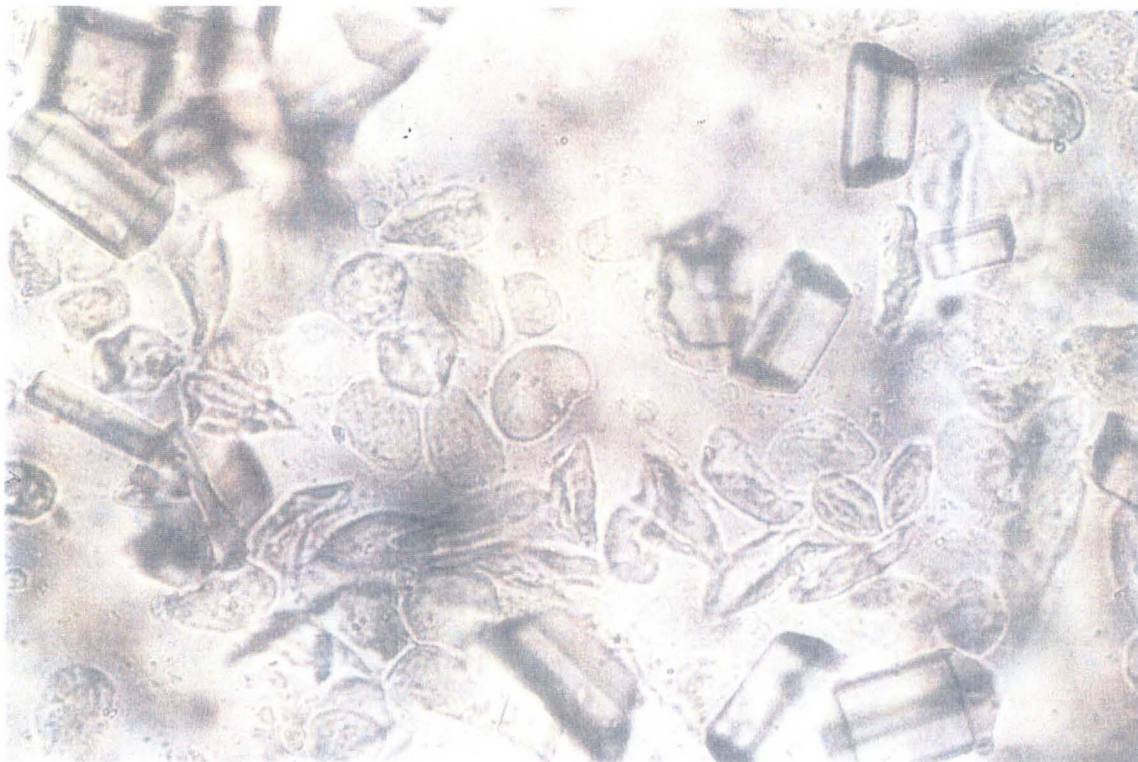


FIGURA 8 – Fotomicrografia do sedimento urinário de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Presença de grande quantidade de células epiteliais. Urinálise. Objetiva de 40X.

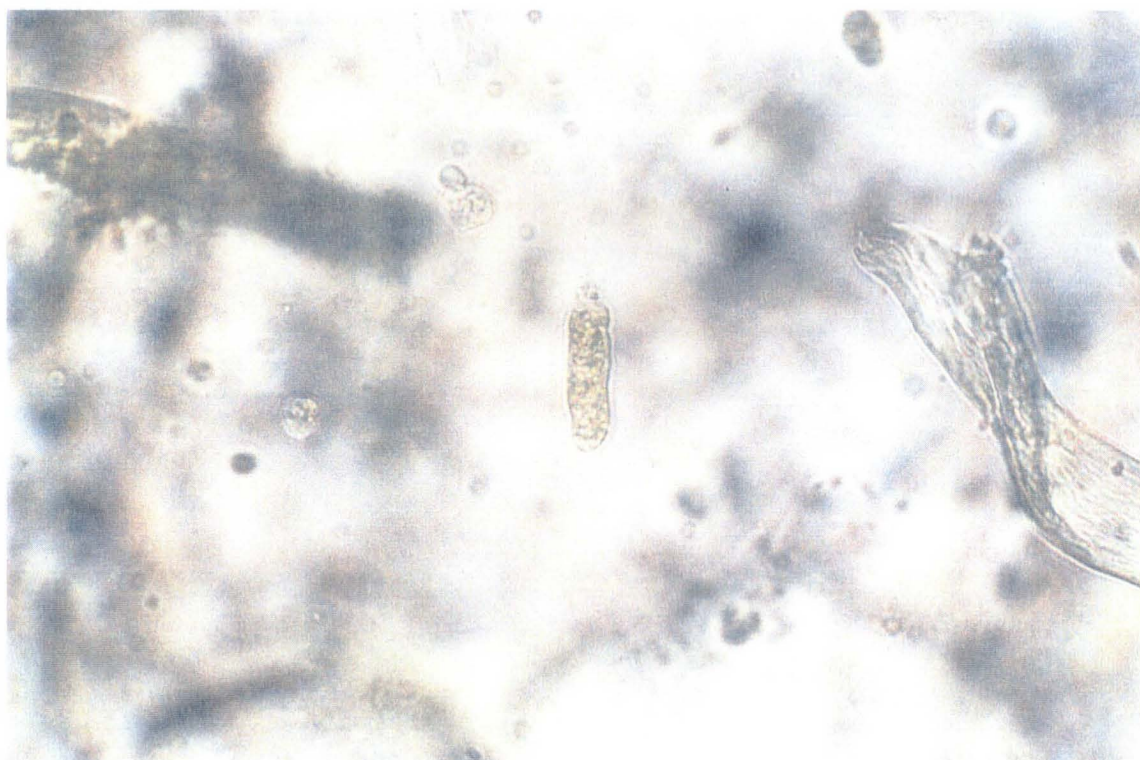


FIGURA 9 – Fotomicrografia de sedimento urinário de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Presença de cilindro granuloso. Urinálise. Objetiva de 40X.

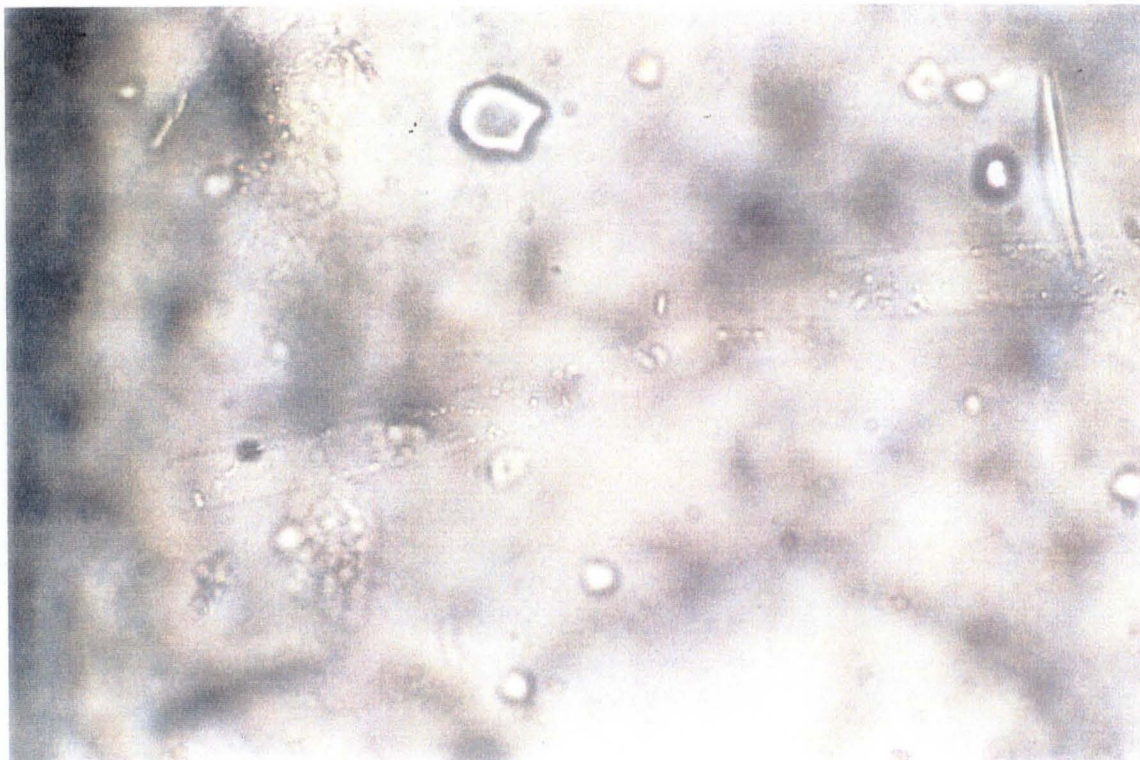


FIGURA 10 – Fotomicrografia de sedimento urinário de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Presença de cilindro hialino. Urinálise. Objetiva de 40X.

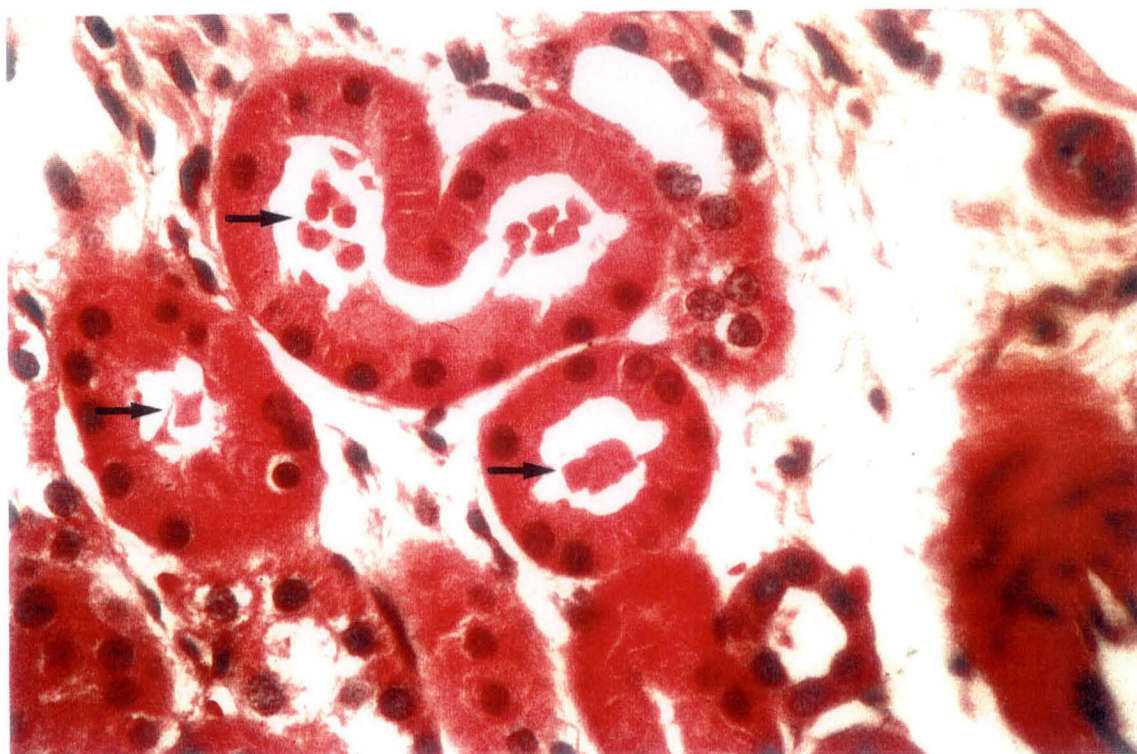


FIGURA 11 – Fotomicrografia do corte histológico do rim de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Presença de proteína na luz dos túbulos contorcidos proximais (setas). Hematoxilina e Eosina. Objetiva de 40X.

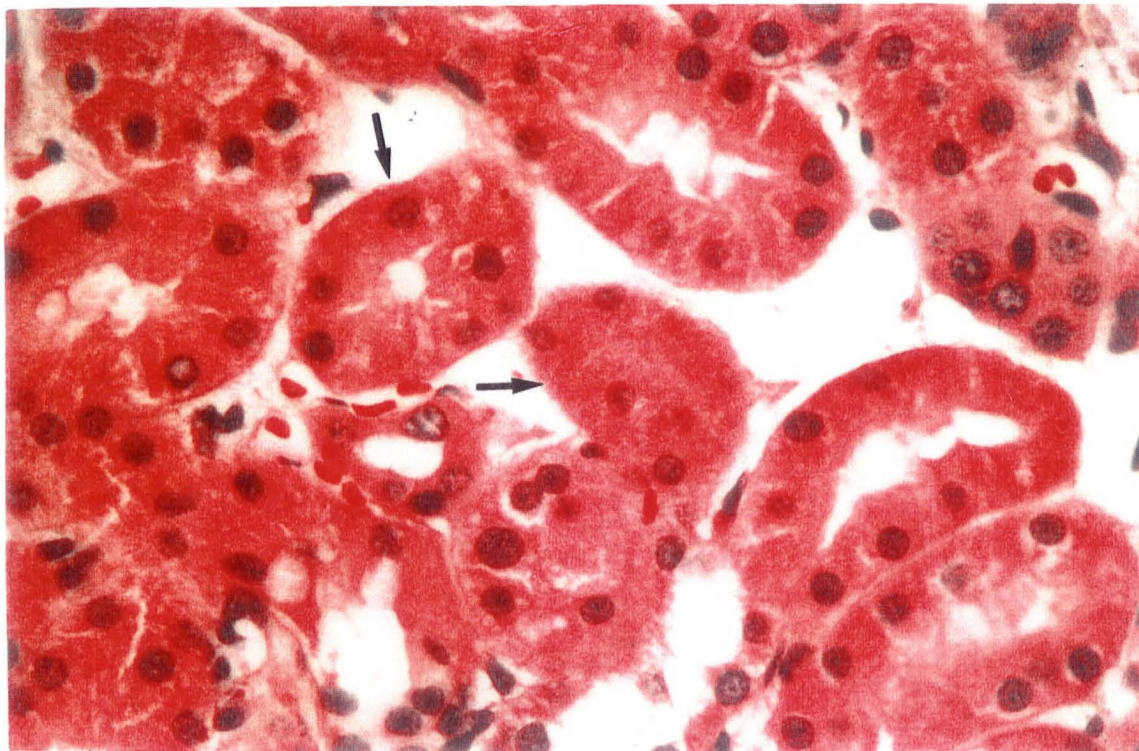


FIGURA 12 – Fotomicrografia do corte histológico do rim de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Observar a tumefação das células epiteliais de revestimento dos túbulos contorcidos proximais (setas). Hematoxilina e Eosina. Objetiva de 40X.

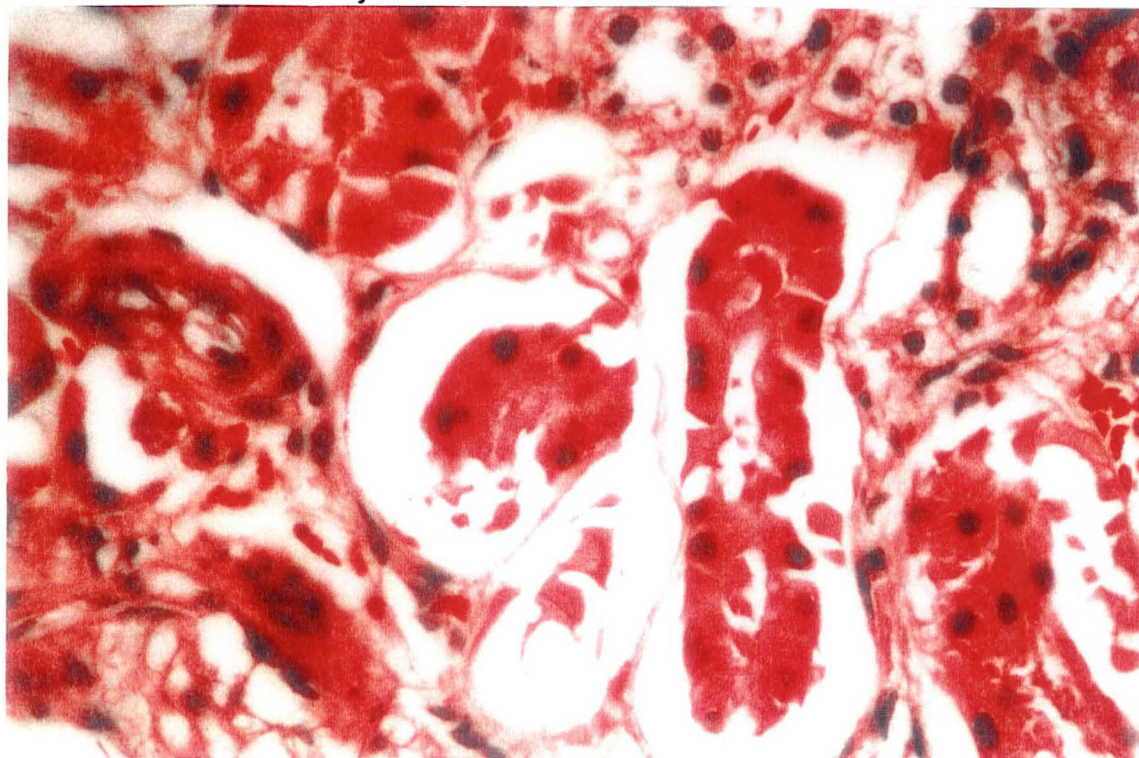


FIGURA 13 – Fotomicrografia do corte histológico do rim de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Observar necrose das células epiteliais dos túbulos contorcidos proximais. Os núcleos das células tubulares estão picnóticos e o citoplasma eosinofílico. Hematoxilina e Eosina. Objetiva de 40X.

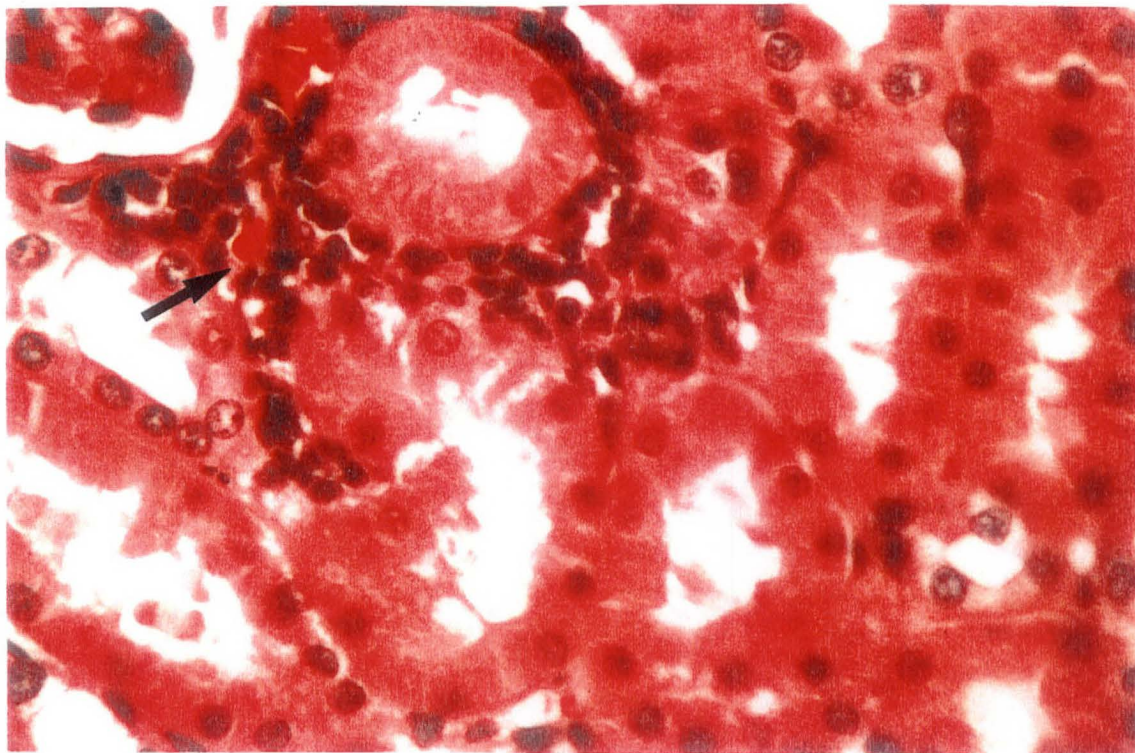


FIGURA 14 – Fotomicrografia do corte histológico do rim de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Observar infiltrado inflamatório intersticial (seta). Hematoxilina e Eosina. Objetiva de 40X.

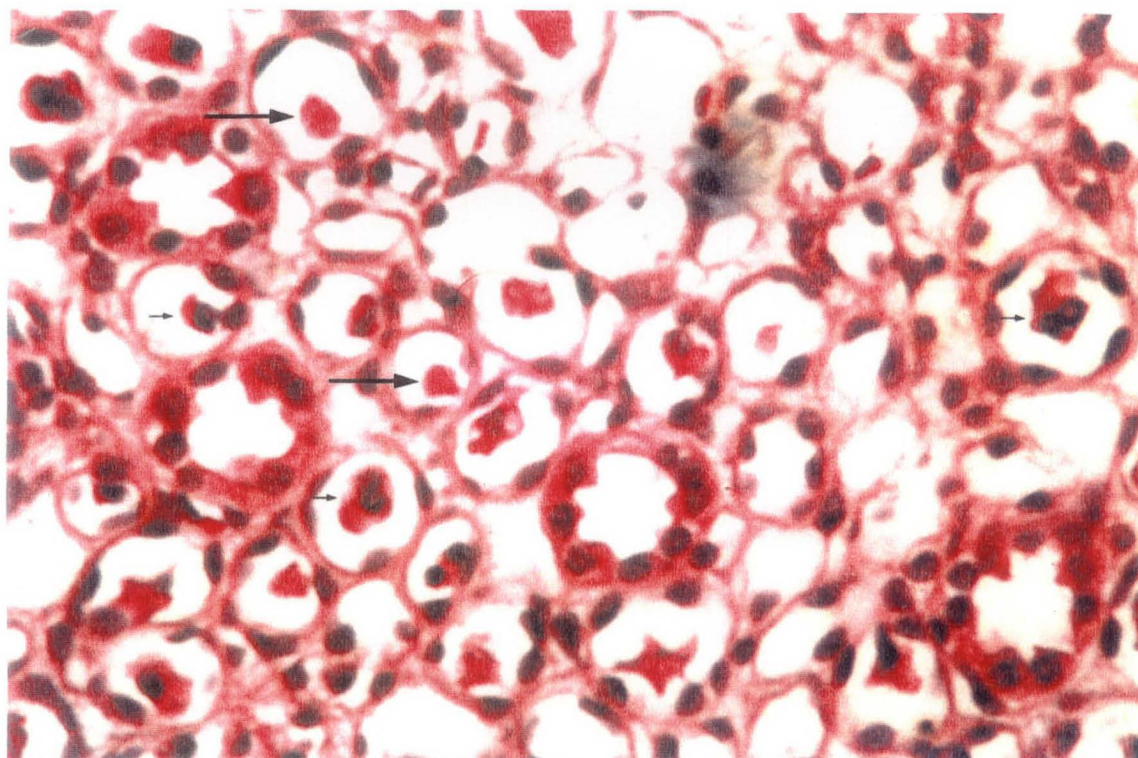


FIGURA 15 - Fotomicrografia do corte histológico do rim de cão, após 14 dias de tratamento com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia. Presença de proteína (setas maiores) e de células epiteliais (setas menores) na luz dos ductos coletores. Hematoxilina e Eosina. Objetiva de 40X.

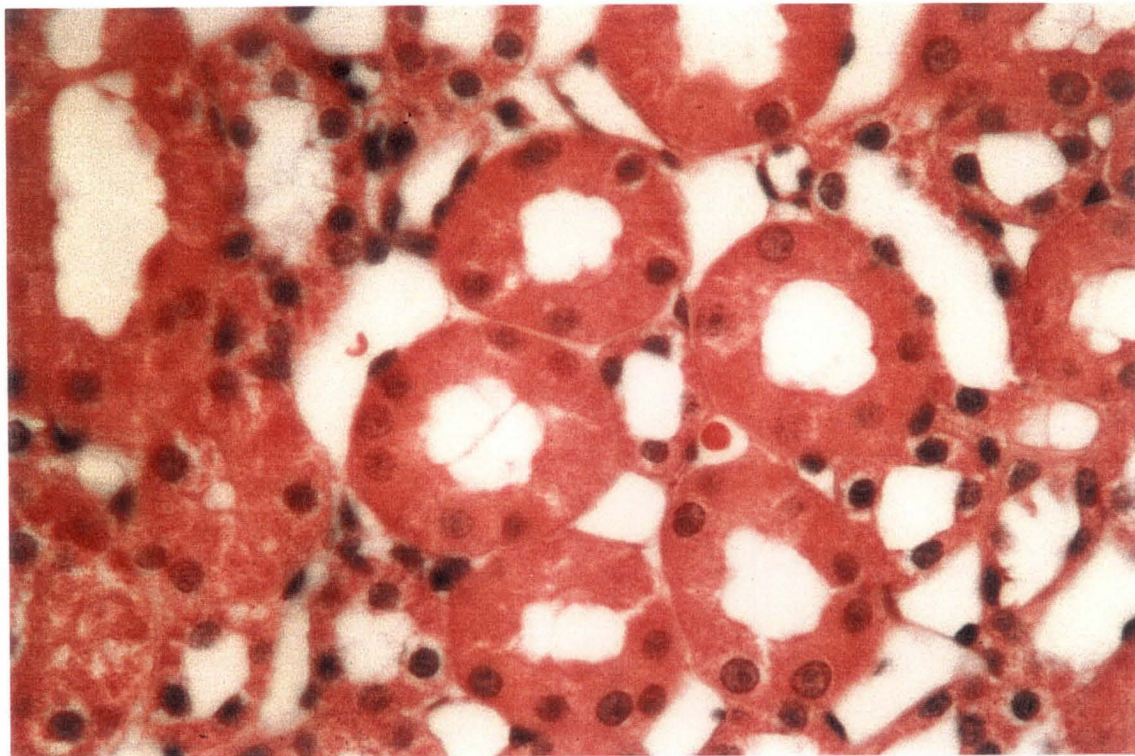


FIGURA 16 – Fotomicrografia do corte histológico do rim de cão do grupo controle. Observar túbulos contorcidos proximais normais. Hematoxilina e Eosina. Objetiva de 40X.

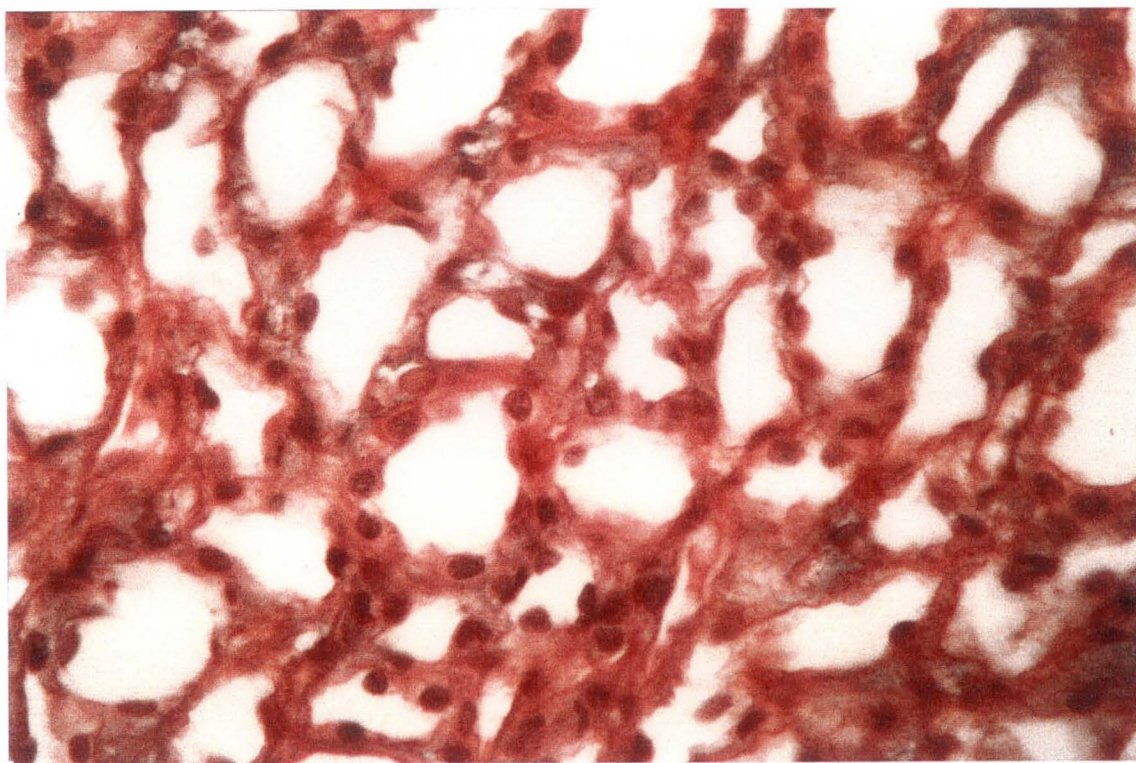


FIGURA 17 - Fotomicrografia do corte histológico do rim de cão do grupo controle. Observar ductos coletores normais. Hematoxilina e Eosina. Objetiva de 40X.

5- DISCUSSÃO

Os cães do grupo teste, tratados com gentamicina na dose de 10 mg/kg/dia durante 14 dias por via subcutânea, não apresentaram nenhum sinal clínico evidente como os descritos por GRECO et al. (1985) e HENNEMANN (1996) que utilizaram doses tóxicas de gentamicina em cães. FRAIZER, AUCOIN & RIVIERI (1988) também não observaram sinais clínicos em cães até o décimo quarto dia do experimento, quando usada gentamicina na dose terapêutica de 9 mg/kg/dia. Apesar dos cães do grupo teste não apresentarem sinais clínicos, foi observado lesão renal através do exame histopatológico, reforçando assim a importância da determinação da atividade da GGT urinária para o diagnóstico precoce de lesão tubular aguda.

Foi escolhida a via subcutânea, pois além da gentamicina ter uma rápida absorção e uma boa biodisponibilidade, é uma via de fácil administração (JERNIGAN et al., 1988).

A dose total da gentamicina aplicada uma vez ao dia, em vez de dividida em três doses (a cada 8 horas) foi relatada por STURM (1989), TERBRAAK et al. (1990), PRESCOTT & BAGGOT (1993), GODBER et al. (1995), CAMPBELL, BARTHOLOW & ROSIN (1996), CHAMBERS & SANDE (1996) como um meio de diminuir a toxicidade renal causada pela gentamicina. Apesar disso, foi observado através do exame histopatológico, que a administração de gentamicina na dose de 10 mg/kg uma vez ao dia por 14 dias, causou necrose tubular aguda de grau leve a moderado em todos os cães do grupo teste.

As médias dos valores de densidade urinária do grupo teste, nos 15 dias de experimento permaneceram normais. Esses valores sugerem que a lesão tubular

renal não foi tão severa para impedir a concentração do filtrado glomerular pelos túbulos renais. RIVERS et al. (1996) que administraram gentamicina em dose terapêutica em cães, também não observaram alterações estatisticamente significativas nos valores da densidade urinária. Apesar disso, os cães do grupo de dose tóxica (10 vezes maior que a dose terapêutica) apresentaram isostenúria no décimo dia de tratamento.

A proteinúria foi observada em apenas um cão do grupo teste, a partir do sétimo até ao décimo quinto dia do experimento. Foi considerada proteinúria valores maiores que 30 mg/dl. Esses valores foram determinados através de fitas comerciais para urinálise. Esse teste foi o escolhido devido a ser o utilizado na rotina da maioria dos laboratórios clínicos veterinários. A proteinúria superior a 30 mg/dl foi observada por GRECO et al. (1985) em 4 cães, dos 6 cães que receberam gentamicina em dose tóxica. Nesse trabalho foi encontrada proteinúria em apenas um animal, justificando-se isso pela falta de sensibilidade do teste para detectar os vários tipos de proteína excretados durante a lesão tubular e essa lesão não ser tão severa em todos os animais do grupo teste. Segundo OSBORNE et al. (1995) a ausência de proteinúria não elimina a possibilidade de doença ou insuficiência renal.

Não foi observada glicosúria em nenhum dos cães do grupo teste, em nenhum dos dias do experimento. Isto mostra que o túbulo contorcido proximal renal não sofreu uma lesão tão grave suficiente para impossibilitar a reabsorção da glicose no filtrado glomerular (CHEW & DIBARTOLA, 1988).

A cilindrúria foi à alteração laboratorial mais significativa observada em cães do grupo teste. GRAUER et al. (1994) também a descreveram como a única alteração laboratorial significativa, nos cães que receberam gentamicina em dose

tóxica. A cilindrúria também foi descrita por GARRY, CHEW & HOFFSIS (1990) e FADEL & LARKIN (1996) em ovinos que receberam gentamicina em dose tóxica e por SCHENTAG et al. (1979) em pessoas que estavam recebendo tratamento com aminoglicosídeos. A cilindrúria não foi observada em todos os cães até o último dia do experimento. GRECO et al. (1985) também descreveram o aumento de cilindros granulados em apenas um dos cães do experimento, utilizando gentamicina em dose tóxica. Isso sugere que a cilindrúria não é o método mais eficaz para detectar lesão tubular renal. Ela apenas serve de auxílio no diagnóstico (RIVERS et al., 1996).

O aumento de células epiteliais no sedimento urinário foi significativo no grupo teste quando comparado com o grupo controle somente nos dias 13,14 e 15 do experimento, em todos os cães. HENNEMANN (1996) observou aumento de células epiteliais em cães que receberam gentamicina em dose tóxica.

Neste estudo foi constatado o que GARRY, CHEW & HOFFSIS (1990) já haviam relatado: que os índices urinários podem ajudar a caracterizar disfunção renal, mas não proporcionar uma indicação precoce de nefrotoxicidade causada por aminoglicosídeos.

As concentrações de uréia e creatinina sérica permaneceram dentro dos valores normais em todo o período do experimento, mesmo com o desenvolvimento de necrose tubular aguda, observada em todos os cães do grupo teste através do exame histopatológico. CHEW & DIBARTOLA (1988) relataram a presença de azotemia somente quando 75% dos néfrons tenham perdido sua capacidade de filtração. Foi descrito por GRECO et al. (1985), GOSSET et al (1987), RIVERS et al. (1996) e HENNEMANN (1996) que a determinação da atividade GGT urinária

precede o aumento da concentração de creatinina sérica, na nefrotoxicidade induzida pelos aminoglicosídeos em cães.

Utilizou-se para determinar a atividade da GGT dois tipos distintos de relações. A razão GGT/creatinina urinária mostrou-se estatisticamente mais sensível para detecção de lesão tubular renal aguda do que a razão GGTX25/densidade urinária. A atividade da GGT em relação à densidade urinária não teve diferença estatisticamente significativa entre o grupo teste e o grupo controle exceto no 8°, 10°, 13° e 14° dias do experimento.

A razão GGT/creatinina urinária foi proposta devido à variação da excreção da GGT diária. Essa variação se deve às alterações na taxa de fluxo de urina. O aumento ou diminuição do volume de urina pode causar erros na interpretação dos valores da atividade da GGT urinária se apenas uma única amostra for utilizada (SHAW , 1976 e ADAMS et al., 1985). Segundo ADAMS et al. (1985) e BROBST, CARROL & BAYLY (1986) a razão entre GGT/creatinina na urina permaneceu relativamente constante, embora a atividade da GGT possa aumentar ou diminuir dependendo da taxa de fluxo urinário.

A razão GGT/creatinina urinária foi utilizada para detectar precocemente nefrotoxicidade pelos aminoglicosídeos, em uma única amostra de urina diária, em várias espécies animais e todos os trabalhos encontraram valores diagnósticos e confiáveis (ADAMS et al., 1985; BROBST, CARROL & BAYLY, 1986; RUDOLPH & CORVALAN, 1992; ROSSIER, DIVERS & SWEENEY, 1995; SOMMARDAHL et al., 1997; GOSSET et al., 1987; RIVERS et al., 1996; FADEL & LARKIN, 1996).

Os cães utilizados no experimento foram machos e fêmeas com a idade e peso variável. Segundo RIVERS et al. (1996) não existem diferenças de idade, sexo

e peso corporal que produza efeito significativo no valor da razão GGT/creatinina urinária. Em cavalos, BROSBT, CARROL & BAYLY (1986) e RUDOLPH & CORVALAN (1992), já haviam relatado essa ausência de variação no caso de idade e sexo diferentes.

A determinação da atividade da GGT em relação à densidade urinária foi proposto por DE SCHEPPER et al. (1989), que definiu que a correção para valor encontrado da atividade da GGT urinária em apenas uma única amostra estaria mais bem relacionado com a densidade urinária. Nesse presente estudo essa determinação demonstrou que o aumento da atividade da GGT urinária nos cães do grupo teste não teve um padrão de linearidade em todos os dias do tratamento com gentamicina. Na maioria dos dias não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo teste e controle. De acordo com esses achados, o seu uso na prática clínica médica de pequenos animais no caso de administração de aminoglicosídeos na dose terapêutica uma vez ao dia, se torna questionável.

O exame histopatológico mostrou graus de necrose celular de discreto a moderado nos túbulos proximais renais em todos os animais do grupo teste. Essa variação da severidade da lesão foi observada por RIVERS et al. (1996), em cães, e foi explicada como uma variação idiossincrática. As outras alterações como a presença de proteína e células epiteliais descamadas na luz tubular, tumefação celular e infiltrado inflamatório intersticial também foram descritos por DANTAS (1996) em cães, com o uso de gentamicina em dose tóxica.

6- CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente experimento, pode-se concluir que:

1. O uso de gentamicina na dose de 10 mg/kg uma vez ao dia por 14 dias, causa lesão tubular renal em cães.
2. A razão GGT/creatinina urinária mostrou-se estatisticamente mais sensível para detecção de lesão tubular renal aguda do que a razão GGTX25/densidade urinária. Sugere-se que sejam feitos outros experimentos com maior número de animais para a confirmação deste achado.
3. A razão da atividade da GGT/creatinina urinária mostrou-se um indicador precoce de lesão tubular renal aguda causada pela gentamicina em dose terapêutica em cães, sendo um teste rápido e fácil para ser usado na prática da clínica médica veterinária.
4. O aumento da razão da atividade da GGT urinária precede o aumento de uréia e creatinina sérica e dos sinais clínicos em cães com lesão renal causada por gentamicina.
5. A urinálise serve como um meio diagnóstico auxiliar para a determinação de lesão tubular aguda causada pela gentamicina em cães.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMS, R.; MCCLURE, J.J.; GOSSET, K.A. et al. Evaluation of technique for measurement of γ -glutamyltranspeptidase in equine urine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 1, p. 147-150, 1985.
2. ALENCAR FILHO, R.A.; SERVAES, C.B. **Guia para diagnóstico em medicina veterinária**. São Paulo: Nobel, 1994, 143p.
3. ALLEN, D.G.; PRINGLE, J.K.; SMITH, D.A. **Handbook of veterinary drugs**. 2ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1998, 886p.
4. ANDRADE, S.F. **Manual de terapêutica veterinária**. São Paulo: Roca, 1997, 491p.
5. BROBST, D.F.; CARROL, R.J.; BAYLY, W.M. Urinary enzyme concentrations in healthy horses. **Cornell Veterinary**, v. 76, p. 299-305, 1986.
6. BROWN, S.C.; BARSANTI, J.A.; CROWELL, W.A. Gentamicin-associated acute renal failure in the dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 186, n. 7, p.686-690, 1985.

7. BROWN, S. A.; GRAUER, G. F. Diseases of the Kidney. In: MORGAN, R. V. **Handbook of small animal practice**. 3 ed. Philadelphia: W. B. Saunders company, 1997, p. 497-524.
8. CAMPBELL, B.G.; BARTHOLOW S.; ROSIN E. Bacterial killing by use of once daily gentamicin dosage in guinea pigs with *Escherichia coli* infection. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 11, p. 1627-1630, 1996.
9. CHAMBERS, H.F.; SANDE, M.A. Os aminoglicosídeos. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; MOLINOFF, P.B. et al. **Goodman & Gilman As bases farmacológicas da terapêutica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Mc Graw-Hill Interamericana Editores, 1996, p. 812-825.
10. CHEW, D.J.; DIBARTOLA, S.P. **Manual de Nefrología y Urología de los pequeños Animales**. Barcelona: Salvat editores S.A., 1988, 358p.
11. CHEW, D.J.; DIBARTOLA, S.P. Diagnóstico e fisiopatologia da moléstia renal. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de medicina interna veterinária**. São Paulo: Manole, 1992, p.1975-2046.
12. DANTAS, A.F.M. **Intoxicação experimental por gentamicina em cães**. Santa Maria, 1996. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária), Universidade Federal de Santa Maria (RS).

13. DE SCHEPPER, J.; DE COCK, I.; CAPIAU, E. Urinary γ -glutamyl transferase and the degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. **Research in Veterinary Science. American Journal of Veterinary Research**, v. 46, p. 396-400, 1989.

14. FADEL, A.A.; LARKIN, H.A. Gentamicin-induced nephrotoxicosis in lambs. **Research in Veterinary Science American Journal of Veterinary Research**, v. 61, p. 187-192, 1996.

15. FARSHID, A.A.; SUNDARARAJ, A.; PARTHASARATHY, K.R. Urinary, serum and localization of gamma-glutamyl transpeptidase in experimental tubular damage in dogs. **Indian Veterinary Journal**, v. 70, p. 906-908, 1993.

16. FERREIRA, M.F. **Antibioticoterapia em pequenos animais**. São Paulo: Ícone, 1997, 214p.

17. FINCO, D.R. Applied physiology of the kidney. In: OSBORNE, C.A.; FINCO, D.R. **Canine and feline nephrology and urology**. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1995a, p.29-46.

18. FINCO, D.R. Evaluation of renal functions. In: OSBORNE, C.A.; FINCO, D.R. **Canine and feline nephrology and urology**. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1995b, p.216-229.

19. FINCO, D.R. Kidney function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. San Diego: Academic Press., 1997, p.441-484.
20. FORD, E.J.H. Activity of Gamma-glutamyl transpeptidase and other enzymes in the serum of sheep with liver or kidney damage. **Journal of Comparative Pathology**, v. 84, p. 231-243, 1974.
21. FRAZIER, D.L.; AUCOIN, D.P.; RIVIERE, J.E. Gentamicin Pharmacokinetics and nephrotoxicity in naturally acquired and experimentally induced disease in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.192, n. 1, p. 57-63, 1988.
22. GARRY, F.; CHEW, D.J.; HOFFSIS G.F. Urinary indices of renal function in sheep with induced aminoglycoside nephrotoxicosis. **American journal veterinary research**, v. 51, n. 3, p. 420-427, 1990.
23. GODBER, L.M.; WALKER, R.D.; STEIN, G.E. et al. Pharmacokinetics, nephrotoxicosis, and in vitro antibacterial activity associated with single versus multiple (three times) daily gentamicin treatments in horses. **American journal veterinary research**, v. 56, n. 5, p. 613-618, 1995.

24. GOSSET, K.A.; TURNWALD, G.H.; KEARNEY, M.T. et al. Evaluation of γ -glutamyl transpeptidase-to-creatinine ratio from spot samples of urine supernatant, as an indicator of urinary enzyme excretion in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 48, n. 3, p.455-457, 1987.
25. GRAUER, G.F.; GRECO, D.S.; BEHREND, E.N. et al. Effects of dietary protein conditioning on gentamicin-induced nephrotoxicosis in healthy male dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 55, n. 1, p. 90-97, 1994.
26. GRAUER, G.F.; LANE, I.F. Acute renal failure: ischemic and chemical nephrosis
In: Osborne, C.A.; Finco, D.R. **Canine and feline nephrology and urology**. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1995, p. 441-459.
27. GRECO, D.S.; TURNWALD, G.H.; ADAMS, R. et al. Urinary gamma-glutamyl transpeptidase activity in dogs with gentamicin-induced nephrotoxicity. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 11, p. 2332-2335, 1985.
28. HENNEMANN, C.R.A. **Atividade da gama glutamil transpeptidase urinária, urinálise, dosagens séricas de uréia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeo em cães**. Santa Maria, 1996. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica), Universidade Federal de Santa Maria (RS).

29. JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 7 ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1990, 285p.
30. KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. San Diego: Academic Press, 1997, 932p.
31. KELLER, P. Enzyme activities in dog: tissue analyses, plasma values, and intracellular distribution. **American Journal of Veterinary Research**, v. 42, n. 4, p. 575-582, 1981.
32. LEES, G. E.; WILLARD, M. D.; GREEN, R. A. Urinary disorders. In: WILLARD, M.D.; TVEDTEN, H.; TURNWALD, G.H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994. p.115-146.
33. MEALEY, K.L.; BOOTHE, D.M. Nephrotoxicosis associated with topical administration of gentamicin in the cat. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 204, n. 12, p. 1919-1921, 1994.
34. MEYER, D. J.; COLES, E. H. & RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinária interpretação e diagnóstico**. Editora Roca, SP, 1995, p. 8-9, 53, 71.

35. MINGEOT-LECLERCQ, M.P.; BRASSEUR, R.; SCHANCK, A. Molecular parameters involved in aminoglycoside nephrotoxicity. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 44, p. 263-300, 1995.
36. MORGAN, R.V. **Handbook of small animal practice**. 3 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1997, 1436p.
37. MULLER, F.; TYLER, J.W.; PARISH, S.M. et al. Stability of γ -glutamyltransferase activity in calf sera after refrigerated or frozen storage. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, n. 4, p. 354-355, 1997.
38. OSBORNE, C.A.; STEVENS, J.B.; LULICH J.P. et al. A Clinician's analysis of urinalysis. In: OSBORNE, C.A.; FINCO, D.R. **Canine and feline nephrology and urology**. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1995, p. 136-205.
39. PALACIO, J.; LISTE, F.; GASCÓN, M. Enzymuria as an index of renal damage in canine leishmaniasis. **The Veterinary Record**, v. 140, p. 477-480, 1997.
40. PRESCOTT, J.F.; BAGGOT, J.D. **Antimicrobial therapy in veterinary medicine**. 2 ed, Iowa, EUA: Iowa State University Press/Ames, 1993, 612p.
41. RIVERS, B. J.; WALTER, P. A.; O'BRIEN, T.D. et al. Evaluation of urine gamma-glutamyl transpeptidase-to-creatinine ratio as a diagnostic tool in an experimental model of aminoglycoside-induced acute renal failure in the dog.

- Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 32, n. 4, p. 323-336, 1996.
42. RIVIERE J.E.; HINSMAN, E.J.; COPPOC, G.L. et al. Morphological and functional aspects of experimental gentamicin nephrotoxicity in young beagles and foals. **Veterinary Research Communications**, v. 7, p. 211-213, 1983.
43. ROSSIER, Y.; DIVERS, T. J.; SWEENEY, R. W. Variation in urinary gamma glutamyl transferase/urinary creatinine ratio in horses with or without pleuropneumonia treated with gentamicin. **Equine Veterinary Journal**, v. 27, n. 3, p. 217-220, 1995.
44. RUDOLPH, W.G.; CORVALAN E.O. Urinary and serum gamma glutamyl transpeptidase in relation to urinary pH and proteinuria in healthy thoroughbred horses in training. **Equine Veterinary Journal**, v. 24, n. 4, p. 316-317, 1992.
45. SCHENTAG, J.J.; GENGO, F.M.; PLAUT, M.E. et al. Urinary casts as an indicator of renal tubular damage in patients receiving aminoglycosides. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 16, n. 4, p. 468-474, 1979.
46. SHAW, F.D. The effect of mercuric chloride intoxication on urinary γ -glutamyl transpeptidase excretion in the sheep. **Research in Veterinary Science**, v. 20, p. 226-228, 1976.

47. SMITH, C.R.; BAUGHMAN, K.L.; EDWARDS, C.Q. et al. Controlled comparison of amikacin and gentamicin. **The New England Journal of Medicine**, v.296, n. 7, p. 349-353, 1977.
48. SOMMARDAHL, C.; OLCHOWY T.; PROVENZA M. et al. Urinary diagnostic indices in calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 211, n. 2, p. 212-214, 1997.
49. STURM, A.W. Netilmicin in the treatment of gram-negative bacteremia: single daily versus daily dosage. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 159, n. 5, p. 931-937, 1989.
50. TERBRAAK, E.W.; VRIES, P.J.; BOUTER, P.K. et al. Once-daily dosing regimen for aminoglycoside plus β -lactam combination therapy of serious bacterial infections: comparative trial with netilmicin plus ceftriaxone. **The American Journal of Medicine**, v. 89, p. 58-66, 1990.
51. UECHI, M.; TERUI, H.; NAKAYAMA, T. et al. Circadian variation of urinary enzymes in the dog. **Journal of the Veterinary Medicine Science**, v. 56, n. 5, p. 849-854, 1994.