

FLÁVIA SANTIN

**“Acompanhamento laboratorial da função renal de cães sadios
tratados experimentalmente com doses terapêuticas de
anfotericina b.”**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da UNESP, Campus de
Botucatu, para a obtenção do Título
de Mestre em Medicina Veterinária
(Área de Concentração: Clínica
Veterinária).

**Botucatu – SP
2003**

FLÁVIA SANTIN

**“Acompanhamento laboratorial da função renal de cães sadios
tratados experimentalmente com doses terapêuticas de
anfotericina b.”**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da UNESP, Campus de
Botucatu, para a obtenção do Título
de Mestre em Medicina Veterinária
(Área de Concentração: Clínica
Veterinária).

Orientador: Prof. Ass. Dr. Flávio Quaresma Moutinho

Botucatu – SP

2003

“A vida só pode ser compreendida olhando-se para trás, mas só pode ser vivida, olhando-se para a frente.”

(Soren Kierkegaard)

“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível, e de repente você estará fazendo o impossível.”

(São Francisco de Assis)

AGRADECIMENTOS:

A **Deus**, por estar sempre presente em todos os momentos de minha vida!!!

A todos de minha família que sempre torceram por mim, os quais têm grande parcela neste trabalho. Amo vocês!

Ao Conselho de Pós-Graduação Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista-UNESP, Campus de Botucatu, pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo fornecimento de bolsa de mestrado.

Ao Professor Drº Flávio Quaresma Moutinho, meu orientador, pela amizade inestimável, apoio e incentivo constantes, indispensáveis à esta conquista. Agradeço pelos ensinamentos, pela participação sempre ativa neste trabalho e, principalmente pelo seu exemplo de profissionalismo.

À prof. Dra Regina K. Takahira e ao prof. Dr Raimundo S. Lopes pela amizade, orientações e por permitirem a utilização do laboratório de Patologia Clínica da FMVZ –UNESP – Botucatu, para a realização dos exames de urinálise e pelas sugestões que contribuíram para enriquecer este estudo.

À prof. Dra. Claudia M. B. Helou do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela atenção e elucidação de dúvidas.

À Prof. Dra. Denise S. Swartz, do Departamento de Clínica Médica de Pequenos Animais FMVZ da UNESP, Campus de Botucatu, pelos ensinamentos, amizade, confiança e oportunidade de desenvolver a parte prática do experimento no Setor de Cardiologia da FMVZ – UNESP- Botucatu.

À prof. Karine S. Redigolo da UNIFIEO – São Paulo, pela amizade e realização da parte estatística deste trabalho.

Ao mestrando Pedro Paulo V. Diniz do Departamento de Clínica Médica de Pequenos Animais da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu, pela amizade e auxílio durante a execução da parte prática do experimento.

Aos amigos Virna e Jurandir Kono pelo apoio e incentivo em todos os momentos, e pela verdadeira amizade.

Aos Médicos Veterinários Residentes da área de Clínica Médica de Pequenos Animais da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu, Anaiara, Eunice, Aldo, Daniel, Priscila e Karina pelo apoio para a realização da parte prática do experimento.

Aos Médicos Veterinários Residentes Veridiana, Karla, Luciana e Cláudio da área de Patologia Clínica Veterinária da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu, pela amizade e pelos ensinamentos nas leituras das urinálises.

Aos funcionários e amigos do Serviço de Clínica Médica de Pequenos Animais da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu, Nélon Adriano, Lourenço Fogaça e Luiz pelo importante auxílio nas coletas de material dos animais na fase experimental deste trabalho e, principalmente pelo convívio alegre e amigável.

Aos funcionários e amigos do Serviço de Patologia Clínica da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu, Sônia e Ilson pela amizade e auxílio na realização da parte prática do experimento.

À secretária do Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu, Marlene Dias Camargo, pelo convívio amistoso.

Aos amigos da Pós Graduação, Veridiana, Mére, Anne e Gaspar por compartilharem tantas coisas ao meu lado, por me incentivarem nos momentos difíceis e pela verdadeira amizade.

A todos os queridos cães que fizeram parte deste trabalho.

Aos funcionários da Biblioteca da UNESP, Campus de Botucatu, pelo auxílio na revisão das referências e confecção da ficha catalográfica.

À todos que contribuíram direta ou indiretamente na realização deste trabalho e que involuntariamente foram omitidos.

“Sinceramente, meu muito obrigado.”!!!!

ÍNDICE

RESUMO.....	i
SUMMARY.....	ii
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	1
2. OBJETIVOS.....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 LOCAL.....	13
3.2 ANIMAIS.....	13
3.3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	13
3.4 PROTOCOLO DE ANÁLISES.....	16
3.5 EXAMES LABORATORIAIS	16
3.5.1 COLHEITA DAS AMOSTRAS DE URINA.....	16
3.5.2 COLHEITA DAS AMOSTRAS SANGÜÍNEAS.....	17
3.5.3 BIOQUÍMICO.....	17
3.5.4 GASOMETRIA.....	18.
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18
4. RESULTADOS.....	18
5. DISCUSSÃO.....	39
6. CONCLUSÕES.....	55
7. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	56
8. ANEXOS.....	66

RESUMO

A presença de uma função renal adequada é importante para a manutenção da homeostase. A anfotericina b é um antifúngico potente, cuja utilização tem sido limitada devido ao seu elevado potencial nefrotóxico.

O presente trabalho teve por objetivos acompanhar, laboratorialmente, a função renal de cães saudáveis submetidos à administração de doses terapêuticas do antifúngico anfotericina b (Fungison[®]), bem como avaliar dentre os métodos laboratoriais empregados, qual o método mais sensível e precoce de diagnóstico de lesão renal. A função renal foi avaliada por meio da realização diária de urinálise, da excreção fracionada dos eletrólitos sódio e potássio, dosagem das concentrações séricas de creatinina e uréia e atividade da enzima gama-glutamyltransferase (GGT) urinária. Cada animal foi seu próprio controle, uma vez que foram obtidas amostras de urina e sangue de cada animal, para realização dos exames acima citados, antes da primeira aplicação do fármaco.

Concluiu-se que a anfotericina b provoca lesões tanto em túbulo proximal quanto em distal, onde a alteração em túbulo distal foi a primeira a ser detectada, por meio da diminuição dos valores de densidade urinária; dosagem de creatinina e uréia séricas e potássio sérico, deve ser realizada antes de cada aplicação do fármaco; a enzima urinária gama-glutamyltransferase (GGT) não foi eficaz como método de diagnóstico de lesão renal induzida por anfotericina b; demonstrou-se também que a anfotericina b provoca acidose tubular renal do tipo I e induz *diabetes insipidus* nefrogênico em cães.

Summary

Anfotericina B is a strong anti-fungus agent, which use has been limited due to its high nephrotoxic potential. The objective of this experiment is to accompany in the laboratory the renal function of healthy dogs which were submitted to therapeutic doses of Anfotericina B (Fungison®), as well as to evaluate which method can first diagnose kidney lesions with the most precise results.

Ten healthy adult male dogs were used in the experiment. All dogs received five doses of 0.5 mg/kg of Anfotericina B every other day. The renal function was evaluated through daily urine exams, fractioned excretion of the electrolytes sodium and potassium, doses of serical concentrations of creatine and urea and the activity of the enzyme gama-glutamyltransferase (GGT) [urinaria]. Throughout the experiment, each animal was individually tested.

We concluded that Anfoteracina B provokes lesions both in the proximal and distal tubes. Urinalysis proved to diagnose kidney lesions in its earliest stage through a modification of the density parameters. The dosage of creatine and serical urea must be effected before each application of Anfoteracina B. Finally, urinal enzyme gama-glutamyltrasferase (GGT) should not be used as a method to diagnose kidney lesions caused by therapeutic doses of Anfotericina B.

The experiment also demonstrates the importance of accompanying the serical concentration of potassium during the treatment with Anfotericina B. Finally, we concluded that Anfotericina B resulted in tubular acidosis type I of the kidney, as well as induces nephrogenic *diabetes insipidus* in dogs.

1.INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Os rins são essenciais para a manutenção da homeostase do organismo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1999; YU et al., 2000). SMITH em 2000 considerou que os rins fornecem os meios básicos para a homeostase. Estes órgãos desempenham diversas funções, dentre as quais podem-se ressaltar a excreção de produtos de degradação do metabolismo e de substâncias estranhas, as regulações do equilíbrio hidreletrolítico, da pressão arterial, da osmolalidade e das concentrações de eletrólitos dos líquidos corporais, além de participar da secreção, do metabolismo e da excreção de hormônios, e do processo de gliconeogênese (GYTON & HALL, 2002). Neste sentido a importância dos rins torna-se evidente, ao se observar as consequências da perda da função renal (YU et al., 2000).

Insuficiência Renal Aguda (IRA) é uma síndrome clínica associada ao declínio rápido da função renal, que pode ocorrer em um período de horas até dias, sendo geralmente causada por uma agressão de origem tóxica ou isquêmica aos rins (FORRESTER, 1994; NELSON & COUTO, 2001). A perda da função renal leva à azotemia, onde os níveis séricos de creatinina e uréia se apresentam acima dos valores de normalidade. A azotemia pode ser provocada por processos pré-renal, pós-renal e renal primário. O termo azotemia renal primária refere-se à perda da função renal devido à ocorrência de alterações do parênquima renal (SENIOR, 2001).

A IRA tem sido dividida, classicamente, em três fases distintas: indução, manutenção e recuperação. A fase de indução é o período do início do insulto renal, que pode ser de horas a dias, até o estabelecimento da diminuição da capacidade de concentração da urina e da ocorrência da azotemia (FORRESTER & LITTLE, 1994; OSBORNE & FINCO, 1995). A intervenção terapêutica nesta fase, pode prevenir a progressão das alterações renais e do desenvolvimento de uma IRA estabelecida (OSBORNE & FINCO, 1995; NELSON & COUTO, 2001).

A fase de manutenção da IRA se desenvolve quando lesões tubulares renais já estão estabelecidas. A intervenção terapêutica, nesta fase, embora muitas vezes possa salvar a vida dos animais, interfere muito pouco na diminuição das lesões renais existentes (OSBORNE & FINCO, 1995).

A fase de recuperação da IRA está associada à melhora da função renal, e embora néfrons adicionais não possam ser produzidos para substituir os que sofreram lesões letais, os néfrons sobreviventes podem hipertrofiar e compensar parcialmente à redução numérica dos néfrons (GRAUER & LANE, 1997). Uma vez que a insuficiência renal aguda estabelecida freqüentemente depende de tratamento auxiliar intensivo e oneroso, por ser seu prognóstico reservado e, por ser muitas vezes de origem iatrogênica, torna-se importante a sua prevenção e a identificação precoce de lesão ou da disfunção renal (GRAUER & LANE, 1997; NELSON & COUTO, 2001).

Os processos que desencadeiam a insuficiência renal intrínseca são a nefrose, que é a mais comum, e a nefrite, provocada geralmente por infecção. As causas de nefrose são nefrotoxinas e/ou hipoperfusão renal (FORRESTER & LEES, 1997; LANE, 1998).

O rim é particularmente susceptível à ação de agentes tóxicos devido a três pontos básicos: recebe cerca de 25% do débito cardíaco, estando portanto exposto de forma rápida e direta a qualquer agente tóxico circulante; concentra o filtrado glomerular, aumentando várias vezes o potencial tóxico de qualquer agente; as células da *pars recta* do túbulo proximal possuem um sistema de transporte de solutos orgânicos, estando assim, mais diretamente expostas a agentes tóxicos (YU et al., 2000; DiBARTOLA, 2001).

O processo de nefrotoxicidade induzida por drogas se refere às lesões renais causadas pela ação de agente farmacológico, utilizados para diagnosticar ou tratar uma doença. Quando essas lesões são graves, pode se desenvolver uma insuficiência renal aguda (IRA) (TILLEY & SMITH, 2003).

A terapia antifúngica sistêmica tem sido indicada para o tratamento de infecções micóticas superficiais, subcutâneas e profundas. Nas duas últimas décadas tornaram-se disponíveis drogas antifúngicas de amplo espectro, de distribuição sistêmica ampla e aplicação conveniente, o que melhorou o prognóstico de várias infecções micóticas subcutâneas e profundas (FARIAS & GIUFRIDA, 2001). A anfotericina b é um agente antifúngico potente cuja utilização tem sido limitada devido ao seu elevado potencial nefrotóxico (MONTEIRO et al., 1993; BILL, 1997). Além de sua propriedade antifúngica, a anfotericina b tem sido utilizada em cães e em seres humanos para o tratamento da leishmaniose (SCOTT et al., 2001).

A anfotericina b foi descoberta, em 1956, por Gold e colaboradores, que estudavam uma cepa de *Streptomyces nodosus*, um estreptomiceto obtido no Vale do Rio Orenoco, na Venezuela (SMITH & REYNARD, 1992; BENNETT,

1996). A Anfotericina b é um antibiótico poliênico macrolídeo, que contém sete ligações duplas na posição 3-amino-3,6-didesoximanose ligada ao anel principal por uma ligação glicosídica. O comportamento anfotérico que deu nome ao fármaco origina-se da presença de um grupamento carboxila no anel principal, e de um grupamento amino primário na glicosamina; esses grupamentos conferem hidrossolubilidade em extremos de pH. A cristalografia por raios X demonstrou uma molécula rígida em forma de bastão, com grupamentos hidroxílicos hidrofílicos no anel macrolídeo e, em uma face oposta, uma porção poliênica lipofílica (BENNETT, 1996).

Os antibióticos poliênicos são substâncias tóxicas para o homem e outros mamíferos, pois provocam lesões, nas células dos animais, semelhantes às causadas aos microorganismos. A anfotericina b liga-se avidamente às membranas de fungos e de alguns protozoários, e com menor avidéz às células de mamíferos. A especificidade relativa aos fungos ocorre devido à maior afinidade da droga ao ergosterol (o esterol da membrana dos fungos) do que pelo colesterol, que é o principal esterol encontrado na membrana plasmática de células animais (RANG et al., 2001). Uma vez que bactérias e riquétsias não contêm esteróis em sua composição, a anfotericina b não exerce nenhuma ação contra estes microorganismos (PLUMB, 1999). A explicação para a ação tóxica dos poliênicos sobre as células de algas, fungos, protozoários e animais reside no mecanismo de ação destas drogas (TAVARES; 2002).

A anfotericina b liga-se às membranas celulares e interfere na permeabilidade e nas funções de transporte. A droga forma um poro na membrana celular criando, com a parte central hidrofílica da molécula, um canal iônico

transmembrana, tendo como conseqüências a perda de íons intracelulares e de pequenas moléculas (BENNETT, 1996; HARLEY & CHAMPE, 1998; RANG et al., 2001). Com a saída destes íons, principalmente do potássio, há o comprometimento do metabolismo celular (SPINOSA et al., 1999). Esta alteração de permeabilidade pode levar ao rompimento da membrana celular e morte celular (BURDMANN et al., 1996; SCOTT et al., 2001). A anfotericina b é um potente agente fungistático, com pouca incidência de aparecimento de resistência, sendo que quando utilizada em concentrações altas torna-se fungicida (SPINOSA et al., 1999; TAVARES, 2001).

A anfotericina b é um pó amarelado, inodoro, insolúvel em água e estável em suspensão a 22° Celsius durante 24 horas, mesmo em presença de luz. Foi associado a este antibiótico o desoxicolato de sódio, que aumenta a sua hidrossolubilidade, com o intuito de facilitar o uso desse fármaco quando administrado pela via parenteral (NETO, 1985). Os frascos contendo anfotericina b em pó devem ser armazenados em geladeira, com temperatura variando de 4° a 8° Celsius. Após a reconstituição do pó, com água estéril para injeção, a solução permanece estável, quando protegida da luz, por 24 horas em temperatura ambiente, ou durante sete dias sob refrigeração (PLUMB, 1999).

Devido à sua baixa solubilidade em água, a anfotericina b não é bem absorvida quando administrada pela via oral ou intramuscular (BEAM, 1992). Em infecções sistêmicas, o fármaco deve ser administrado pela via intravenosa, ou no caso de meningite fúngica, pela via intratecal (SPINOSA et al., 1999). A anfotericina b é organodepositária, permanecendo armazenada no fígado, no pulmão, no baço e nos rins, onde sofre metabolização lenta, permitindo

concentrações séricas fungistáticas ou fungicidas por até 48 horas (SMITH & REYNARD, 1992; NETO et al., 1985; FARIAS & GIUFFRIDA, 2002).

No soro, a anfotericina b liga-se 95% aos glóbulos vermelhos e às lipoproteínas (MONTEIRO, 1996). Supõe-se que o remanescente da droga, liga-se ao colesterol das membranas celulares. É excretada muito lentamente pelos rins, sendo encontrados traços da droga por longos períodos, de semanas até dois meses após o término da sua administração (PLUMB, 1999; RANG et al., 2001). A eliminação do fármaco não é modificada em pacientes anéfricos ou em pacientes hemodialisados (BENNETT, 1996).

Anfotericina b tem amplo espectro de ação, sendo a droga de escolha para o tratamento de micoses que ameaçam a vida (FOIL, 1986). A anfotericina b é ativa contra *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, *Sporothrix schenckii*, *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Mucor sp*, *Rhizopus sp*, *Rhodotorulla sp*, *Mycrosporium sp*, *Trychophyotom sp*, *Madurella sp* e *Leptosphaeria sp* (FARIAS & GIUFFRIDA, 2002). Este antibiótico penetra no interior das células, o que explica sua ação contra o *Histoplasma capsulatum*, que é um parasita intracelular (TAVARES, 2002).

A maioria dos regimes terapêuticos em medicina veterinária foi desenvolvida empiricamente (DAVIS, 1981; FOIL, 1986) e foi baseada por meio de combinação de limites de toxicidade, experiência clínica, dados obtidos dos trabalhos feitos em seres humanos e conveniência (DAVIS, 1981). A dose utilizada é de 0.5 mg/ kg, reconstituída em água para injeção, diluída em solução de glicose a 5% e administrada em dias alternados (SCOTT et al., 2001).

A anfotericina b provoca intensa constrição vascular renal, sendo responsável pela diminuição do fluxo sanguíneo (BAGATIN & CUCÉ, 1983; MONTEIRO et al., 1993; TAVARES, 2002). Este efeito vasoconstritor é fator principal na indução da diminuição do ritmo de filtração glomerular (MONTEIRO, 1996). Estudos realizados, em 1980, por Gerkens e Branch, corroboravam com a hipótese de que o aumento da resistência vascular provocado pela anfotericina b ocorria devido à ativação do mecanismo de retroalimentação (feedback) tubuloglomerular. Tais estudos sugeriam que devido à alteração da permeabilidade celular provocada pela anfotericina b, um aporte maior de cloreto de sódio chegaria à mácula densa, acionando o mecanismo de “feedback” tubuloglomerular, o qual levaria à vasoconstrição das arteríolas aferentes renais (GRAUER & LANE, 1997).

A hipótese de alteração da retroalimentação tubuloglomerular nunca foi devidamente provada, tendo sido desconsiderada por Sawaya et al. (1991), quando demonstraram que a anfotericina b é um agente indutor direto de vasoconstrição arteriolar. Este efeito vasoconstritor da arteríola aferente ocorre por ação direta do fármaco sobre os vasos renais, e provoca a entrada de cálcio na célula induzindo sua despolarização, com conseqüente contração do vaso (GRAUER & LANE, 1997).

Em seres humanos, a anfotericina b altera a permeabilidade e a função das células dos túbulos proximais, das células da porção ascendente espessa da alça de Henle, e das células epiteliais dos túbulos distais (WALKER & DUGGIN, 1992). *In vitro*, a imersão prolongada, em anfotericina b, de membranas da borda em escova dos rins, resultou em aumento generalizado da permeabilidade das

células. Sendo que alterações similares ocorreram *in vivo*, onde progressivo aumento de permeabilidade à inulina e ao manitol, nos túbulos proximais, ocorreu três horas após a administração da droga (WALKER & DUGGIN, 1992).

A anfotericina b provoca clinicamente insuficiência renal não oligúrica, iniciando-se de dias a semanas após o início do uso desta droga (BURDMANN et al., 1996). Em seres humanos, descrevem-se a diminuição da capacidade de concentração renal, alterações degenerativas e regenerativas dos túbulos proximal e distal, com a obstrução luminal por detritos necróticos (BAGATIN & CUCÉ, 1983; TAVARES, 2002). O quadro histológico é de necrose tubular aguda tóxica com dilatação tubular; necrose e calcificação dos túbulos proximais e distais; e vacuolização inespecífica de pequenas e médias artérias e arteríolas (BURDMANN et al., 1996).

A urinálise e as dosagens séricas de creatinina e uréia são métodos convencionais utilizados para a avaliação da função renal (GRECO et al., 1985; CHEW, 1985). A urinálise avalia aspectos físicos (volume, densidade, cor, transparência, odor), químicos (pH, proteínas, glicose, acetona, bilirrubina, urobilinogênio, sais biliares, sangue oculto) e microscópicos (sedimento) (LOPES & TAKAHIRA, 2001). A finalidade da análise do sedimento urinário é de detectar e identificar hemácias, leucócitos, cilindros, células epiteliais, bactérias, leveduras, parasitas, muco, espermatozóides, cristais e artefatos, sendo que deve ser realizado tanto a identificação quanto a quantificação destes elementos (STRASINGER, 2000).

O aparecimento dos eletrólitos na urina ocorre em função do resultado final dos processos de reabsorção e secreção tubulares. A excreção fracionada dos

eletrólitos pode ser utilizada na avaliação da função tubular, sendo definida como a relação entre o eletrólito em questão, por exemplo sódio (Na^+) e potássio (K^+), e a eliminação de creatinina. Esta relação é multiplicada por 100 e expressa em porcentagem (%). A vantagem desta determinação consiste em não haver necessidade de coleta de urina dentro de determinado período de tempo. Fórmula da excreção fracionada dos eletrólitos é a seguinte (DiBartola, 1997):

$$EF_x = (U_x V / P_x) (U_{cr} V / P_{cr}) = (U_x P_{cr}) / (U_{cr} P_x)$$

Onde EF_x = excreção fracionada do eletrólito a ser avaliado

U_x = concentração do eletrólito na urina

P_x = concentração plasmática do eletrólito

U_{cr} = concentração da creatinina na urina

P_{cr} = concentração plasmática da creatinina

A concentração sérica de creatinina é freqüentemente interpretada como uma medida para o ritmo da filtração glomerular, sendo sua concentração plasmática inversamente proporcional ao ritmo de filtração glomerular (HENNEMANN et al, 1997); isto ocorre porque a creatinina é livremente filtrada pelos glomérulos e secretada apenas em pequena quantidade pelos túbulos renais (CONSTANZO, 1999).

A uréia é a principal forma de eliminação dos grupos amino derivados dos aminoácidos e responde por mais de 90% dos componentes nitrogenados da urina. A uréia é produzida no fígado e então é transportada pelo sangue até os rins, onde é excretada em sua maior parte através da urina, sendo que pequena

quantidade é degradada pelas bactérias no intestino (HARVEY & CHAMPE, 1998). A uréia é livremente filtrada pelos glomérulos e, em presença de diminuição da filtração glomerular ocorre sua retenção (MEYER & HARVEY, 1998). O aumento das concentrações séricas de creatinina e uréia é denominado de azotemia. A concentração sérica de creatinina é o indicador mais preciso da função renal quando comparada à uréia, uma vez que esta última tem seus valores influenciados pela dieta e por outros eventos como hemorragias gastrointestinais e febre, além de sofrer alteração devido à ação do hormônio antidiurético (ADH) (CARNEIRO, 2002).

Foram realizados estudos experimentais, com o intuito de avaliar a enzimúria (atividade enzimática na urina) como método diagnóstico precoce de lesão ou disfunção renal (HEIENE et al., 1991; GRAWER & LANE, 1997; PRICE, 2002). Durante o processo de filtração glomerular realizado para a formação de urina, as enzimas séricas não são filtradas pelos glomérulos devido ao seu grande peso molecular, portanto, a enzimúria é indicativa de atividade tubular, vazamento celular, ou necrose tubular (GARY et al., 1990; GRECO et al., 1985; HENEMANN et al., 1997). Sendo assim, doenças renais e nefrotoxicose induzem alterações na atividade das enzimas na urina, mas não nas enzimas plasmáticas (LANE et al., 1994).

A enzima gama-glutamiltransferase (GGT) localiza-se na borda em escova dos túbulos proximais renais. Por ser um segmento metabolicamente ativo do néfron, os túbulos proximais são facilmente lesionados em doenças renais agudas (HEINE et al., 1991; HENEMANN, 1997). O produto comercial Fungizon®

apresenta em sua fórmula o desoxicolato, utilizado como diluente da anfotericina b o qual é promotor de lesão em túbulo proximal (DÓREA et al., 1997). Os autores Welbourne et al. (1983) demonstraram aumento da atividade enzimática da GGT na urina de ratos, após indução experimental de isquemia renal. Greco et al. (1985) e Gary et al. (1990) avaliaram a atividade da enzima GGT, qualificando-a como um bom método diagnóstico de lesão ou disfunção tubular renal. Entretanto os autores Heine, Biewenga e Koeman (1991) chamam a atenção ao fato de que a maioria dos trabalhos realizados com a GGT urinária, utilizar-se de protocolos de indução de nefrotoxicidade.

DeSchepper et al. (1989), afirmaram que a variação na atividade das enzimas urinárias está relacionada à densidade urinária das amostras. Sendo assim, utilizaram a densidade de 1,025 como fator de correção para o fluxo urinário de uma única amostra colhida de cada animal por meio da seguinte fórmula:

$$X = Y \times 25 / Z$$

Onde X é igual à atividade da GGT urinária calculada;

Onde Y é igual à atividade da GGT urinária da amostra;

Onde Z é igual aos últimos dois dígitos da densidade urinária da amostra.

2. OBJETIVOS DO TRABALHO:

O presente trabalho teve por objetivos avaliar laboratorialmente a função renal de cães saudáveis submetidos à administração de doses terapêuticas do antifúngico anfotericina b (Fungizon[®]), por meio da realização de urinálise, da excreção fracionada dos eletrólitos sódio, potássio e da dosagem das concentrações séricas de creatinina e uréia; comparar os métodos de urinálise e dosagens séricas de creatinina e uréia, quanto às suas sensibilidade e precocidade na identificação de possível lesão/disfunção renal; avaliar a eficácia da atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT) urinária como método diagnóstico precoce de possível lesão/disfunção renal, bem como comparar este teste com os demais acima descritos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Local

A pesquisa foi realizada nas dependências do Departamento de Clínica Veterinária do Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu-SP.

Animais

Foram utilizados dez cães hígidos, sem raça definida, adultos, machos, com peso entre 10 e 15 kg, provenientes do Canil Central do Biotério da UNESP, Campus de Botucatu -SP. Estes animais foram submetidos às avaliações clínica (McCURING et al. 1991) e laboratorial e, internados no canil da Pós- Graduação da FMVZ-UNESP-Botucatu, por um período mínimo de 10 (dez) dias antes do início do experimento para ambientalização. Durante este período e em todo o experimento, os cães foram mantidos em jaulas individuais de alvenaria, providas de tablado de madeira removível, com acesso livre a solário e receberam água “ad libitum” e ração (comercial)¹ em horário determinado.

Metodologia Experimental

Inicialmente foram feitas as determinações dos valores basais (momento zero – M0) da urinálise, da concentração dos íons sódio (Na^+) e potássio(K^+) na urina e no plasma, concentrações sérica e urinária de creatinina, concentração sérica de uréia e atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT) urinária e

sérica. Para a obtenção dos valores basais foram colhidas três amostras de sangue e urina de cada animal, sendo utilizada a média aritmética desses valores como parâmetro de normalidade. O período experimental para cada animal foi de 11 dias, sendo que cada dia foi denominado de momento (M), sendo o primeiro dia denominado de M0 (momento zero) seqüencialmente até o M10 (décimo primeiro dia). A anfotericina b² foi administrada ao do meio dia, em dias alternados (M1, M3, M5, M7 e M9), por via intravenosa, na dose terapêutica de 0.5 (meio) mg/ kg diluída em 20 mL de solução glicosada a 5%, tendo sido aplicado o volume de 4 mL a cada 3 minutos em um total de 15 minutos.

Amostras de urina foram colhidas às oito horas da manhã e às 16 h, por meio de micção espontânea ou cateterismo, para realização de urinálise e avaliação da atividade da enzima GGT urinária. Creatinina, sódio e potássio urinários foram dosados na urina colhida no horário das 16:00 horas. Foram então realizadas colheitas de sangue todos os dias (M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9 e M10), no horário das 16:00 horas, nos quais foram realizadas determinações dos valores séricos de creatinina e uréia, gasometria e da atividade da enzima GGT. O processamento das amostras, isto é, a urinálise, dosagens séricas de creatinina e uréia, avaliação da atividade da enzima GGT sérica e urinária e a gasometria, foi feito imediatamente após a colheita do material. Enquanto que as amostras de urina para dosagem de sódio, potássio e creatinina urinários foram

¹ Pedigree Champ® - Éffem

² Fungizon® 50mg - Bristol-Myers Squibb

armazenadas em freezer³ a menos 80° Celsius e foram processadas ao final do experimento.

Fórmulas Utilizadas:

Para a obtenção dos valores da atividade da enzima urinária GGT utilizou-se a fórmula descrita por DeShepper et al. (1989), que utiliza a densidade urinária 1,025 como fator de correção para o fluxo urinário de uma única amostra colhida de cada animal, como descrito abaixo:

$$X = Y \times 25 / Z$$

Onde X é igual à atividade da GGT urinária calculada;

Onde Y é igual à atividade da GGT urinária da amostra;

Onde Z é igual aos últimos dois dígitos da densidade urinária da amostra.

Para a obtenção dos valores da excreção fracionada dos eletrólitos utilizou-se a seguinte fórmula (DiBARTOLA, 1997):

$$EF_x = (U_x V / P_x) (U_{cr} V / P_{cr}) = (U_x P_{cr}) (U_{cr} P_x)$$

Onde EF_x = excreção fracionada do eletrólito a ser avaliado

U_x = concentração do eletrólito na urina

P_x = concentração plasmática do eletrólito

U_{cr} = concentração da creatinina na urina

P_{cr} = concentração plasmática da creatinina

³ CFC Free® Sanyo Ultra Low

Protocolo de análise

Exames Laboratoriais

Colheita das amostras de urina

As amostras foram obtidas por micção espontânea, desprezando-se o primeiro jato; ou por cateterismo vesical através de sonda uretral⁴ de numeração adequada ao tamanho do animal. Foram colhidas amostras às oito horas da manhã e às 16 h.

Para realização da urinálise utilizou-se urina recém colhida, a qual foi submetida à centrifugação⁵ em tubo cônico por 5 minutos, com força centrífuga relativa de 500 g. Após a centrifugação da amostra, utilizou-se o sobrenadante urinário para a realização dos exames físico e químico da urina, utilizando-se refratômetro portátil e fita reagente⁶ respectivamente, e para a determinação da atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT), por meio de kit comercial⁷. Para realização do exame de sedimento urinário, utilizou-se o material restante (0.5 mL) do tubo cônico, e foi feita a ressuspensão deste material com pipeta de plástico. Retirou-se uma gota deste material em suspensão, a qual foi colocada em lâmina⁸ de microscópio e coberta com lamínula⁹, e realizou a sua leitura em

⁴ Sonda uretral - CPL

⁵ Centrifugador Excelsa[®]3 – Fanem Ltda

⁶ Combur Test[®] - Roche

⁷ Gama GT[®] - Celm

⁸ Microscope Slides[®] (1"x3") - Bioslide

⁹ Microscope Slides[®] - Bioslide

microscópio¹⁰ em aumento de 40 vezes. Alíquotas de 1ml foram armazenadas em ependorf, mantidas em freezer a menos 80° Celsius para dosagem da creatinina¹¹, de sódio¹² e de potássio¹³ urinários, que foi processada¹⁴ no laboratório de emergência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da UNESP-Botucatu.

Colheita das amostras sangüíneas

A obtenção das amostras de sangue foi realizada por meio da venopunção jugular, utilizando tubos a vácuo¹⁵ sem anticoagulante e, com agulhas¹⁶ apropriadas para estes tubos. Para a realização da gasometria foi colhido sangue por venopunção, na quantidade mínima de 0.7 mL, todos os dias no horário das 16 h, em seringa de um mL embebida com heparina¹⁷.

Bioquímico

Foram destinados a este exame 10 mL de sangue, acondicionados em tubos sem anticoagulante, submetidos à centrifugação¹⁸ na velocidade de 1600 G obtendo-se o soro onde foram dosados os níveis das substâncias subscritas:

- creatinina¹⁹: método colorimétrico por reação cinética com picrato alcalino.
- uréia²⁰: método enzimático colorimétrico.

¹⁰ Leitz

¹¹ Creatinina slides vitros products chemistry ortho-clinical diagnostics® – Johson & Johnson

¹² Na⁺ slides vitros products chemistry ortho-clinical diagnostics® – Johson & Johnson

¹³ K⁺ slides vitros products chemistry ortho-clinical diagnostics® – Johson & Johnson

¹⁴ Vitros System Chemistry® 750XRc – Johson & Johnson.

¹⁵ Vacutainer® - Becton Dickson

¹⁶ Vacutainer® brand blood collection needles 21G1Multiple Sample – Becton Dickson

¹⁷ Lique mine® - Roche

¹⁸ Centrifuga modelo combate - CELM.

- gama-glutamyltransferase²¹: método cinético colorimétrico por reação com p-nitroanilina

Gasometria

A amostra de sangue colhida foi acondicionada em isopor com gelo, e foi processada²² em um período de no máximo 30 minutos após a sua colheita, no laboratório de emergência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da UNESP- Botucatu, obtendo-se os valores do pH sangüíneo e concentrações dos eletrólitos sódio e potássio.

Análise Estatística

As variáveis classificatórias foram apresentadas em tabelas contendo frequências absolutas (n) e relativas (%).

As variáveis quantitativas, mensuradas em onze momentos, foram apresentadas em tabelas contendo média, desvio padrão, mediana, valores mínimos e máximos. As variáveis foram submetidas à transformação logarítmica para estabilizar a variância. Utilizou-se a análise de variância para medidas repetidas para avaliar as médias ao longo dos momentos estudados, e quando o teste mostrou significância estatística, foram utilizados contrastes para discriminar as diferenças.

Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

¹⁹ Creatinina ES-CELM

²⁰ Uréia ES-CELM

²¹ Gama GT – CELM

²² AVL® OMNI MEASUREMENT REPORT

4. RESULTADOS

Dos exames laboratoriais realizados, a urinálise foi a primeira a apresentar alteração indicativa de disfunção renal, observada ao exame físico da urina. Todos os dez cães do experimento apresentaram suas densidades urinárias diminuídas logo no M1 à tarde, ou seja, logo após quatro horas da primeira aplicação da anfotericina b, sendo que os valores máximos alcançados desde o M1 até o M10 mantiveram-se muito abaixo do que seus valores basais (tabela 1). No gráfico onde são apresentados os valores das médias e desvios padrão, verifica-se que as médias da densidade urinária do período da tarde (figura 1) diminuíram ao longo dos momentos apresentando alteração estatisticamente significativa, como demonstrado na tabela 2.

TABELA 1: Médias, desvios padrão, medianas, valores mínimos e máximos da densidade urinária da tarde de todos os cães (n =10) ao longo dos momentos (M =10).

Densidade (tarde)	CÃES (n =10)	M ÉDIA	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	1,035	0,004	1,034	1,030	1,040
M 1	10	1,013	0,004	1,014	1,006	1,016
M 2	10	1,009	0,003	1,008	1,004	1,016
M 3	10	1,013	0,005	1,014	1,004	1,018
M 4	10	1,014	0,005	1,014	1,010	1,024
M 5	10	1,011	0,002	1,010	1,010	1,016
M 6	10	1,015	0,003	1,014	1,012	1,022
M 7	10	1,011	0,003	1,012	1,008	1,014
M 8	10	1,012	0,003	1,012	1,006	1,016
M 9	10	1,013	0,003	1,012	1,008	1,020
M 10	10	1,012	0,003	1,012	1,008	1,018

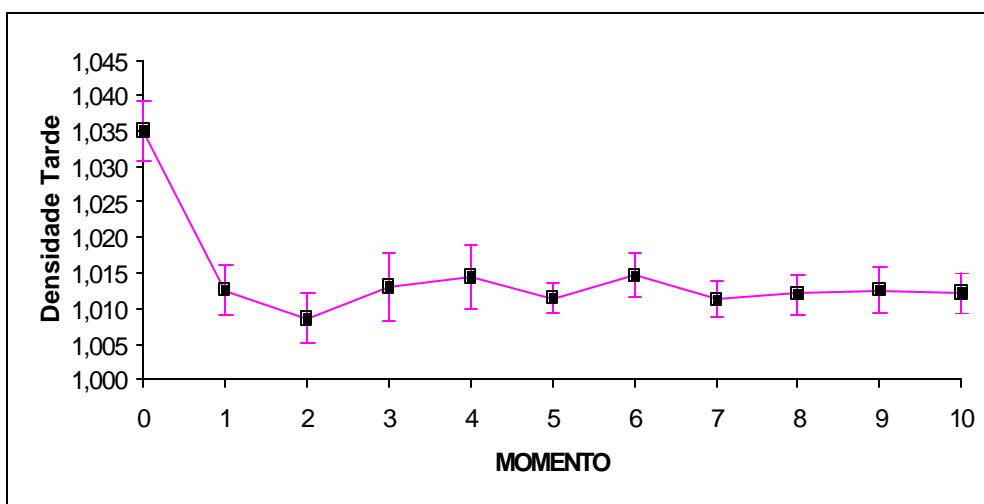


FIGURA 1: Densidade urinária (tarde): médias e desvios padrão de todos os cães (n =10) ao longo dos momentos (M =10).

TABELA 2: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas da densidade da urina da tarde ao longo dos momentos (M).

p	<,0001		
M (0 x 1)	<,0001	M (0 x 1)	<,0001
M (0 x 2)	<,0001	M (1 x 2)	0,0075
M (0 x 3)	<,0001	M (2 x 3)	0,0034
M (0 x 4)	<,0001	M (3 x 4)	0,3405
M (0 x 5)	<,0001	M (4 x 5)	0,0429
M (0 x 6)	<,0001	M (5 x 6)	0,0311
M (0 x 7)	<,0001	M (6 x 7)	0,0222
M (0 x 8)	<,0001	M (7 x 8)	0,5853
M (0 x 9)	<,0001	M (8 x 9)	0,6823
M (0 x 10)	<,0001	M (9 x 10)	0,7849

Em relação à densidade urinária do período da manhã, houve alteração estatisticamente significativa dos valores de suas médias (tabela 2), que apresentaram valores diminuídos com a evolução dos momentos (figura 2). Constatou-se também que seus valores máximos não superaram, em nenhum momento, os valores basais (tabela 3).

TABELA 3: Médias, desvios padrão, medianas, valores mínimos e máximos da densidade urinária (manhã de todos os cães (n =10), ao longo dos momentos (M =10).

Densidade Manhã	CÃES (n)	MÉDIA	DESvio PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	1,035	0,004	1,034	1,030	1,040
M 1	10	1,038	0,005	1,040	1,028	1,040
M 2	10	1,012	0,004	1,012	1,006	1,016
M 3	10	1,014	0,003	1,012	1,010	1,022
M 4	10	1,013	0,005	1,012	1,006	1,024
M 5	10	1,015	0,003	1,015	1,010	1,022
M 6	10	1,014	0,004	1,014	1,010	1,022
M 7	10	1,013	0,004	1,014	1,006	1,016
M 8	10	1,013	0,002	1,012	1,010	1,016
M 9	10	1,015	0,003	1,014	1,012	1,020
M 10	10	1,013	0,004	1,014	1,006	1,018

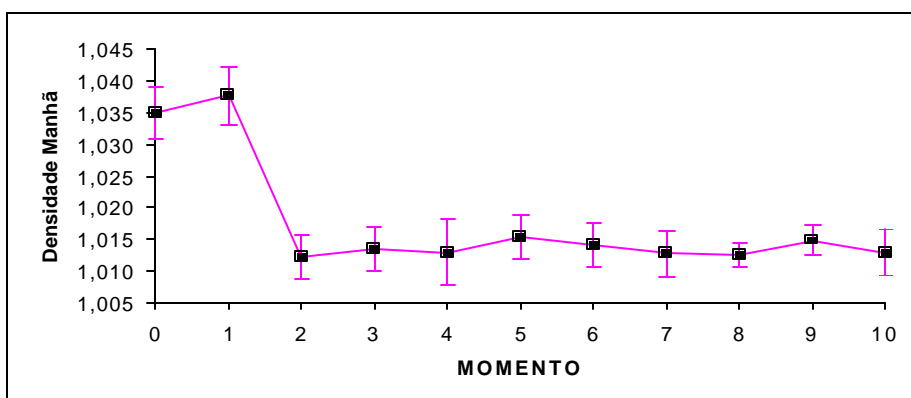


FIGURA 2: : Densidade urinária (manhã): médias e desvios padrão de todos os cães (n =10) ao longo dos momentos (M =10).

TABELA 4: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas das médias da densidade da urina da manhã ao longo dos momentos (M).

p,	< ,0001		
M (0 x 1)	0,1079	M (0 x 1)	0,1079
M (0 x 2)	<,0001	M (1 x 2)	<,0001
M (0 x 3)	<,0001	M (2 x 3)	0,4189
M (0 x 4)	<,0001	M (3 x 4)	0,7286
M (0 x 5)	<,0001	M (4 x 5)	0,1673
M (0 x 6)	<,0001	M (5 x 6)	0,4882
M (0 x 7)	<,0001	M (6 x 7)	0,4189
M (0 x 8)	<,0001	M (7 x 8)	0,9079
M (0 x 9)	<,0001	M (8 x 9)	0,1673
M (0 x 10)	<,0001	M (9 x 10)	0,2491

Ainda em relação ao exame físico da urina, embora não tenha sido utilizado gaiolas metabólicas, houve nítido aumento da produção de urina de todos os cães

do experimento e esta apresentou-se predominantemente com a cor amarelo clara, odor sui generis e aspecto límpido.

No exame químico da urina verificou-se a presença desde traços até concentrações de 500 mg/dl de proteínas, tanto na urina da tarde quanto na da manhã (tabela 5). As concentrações de 100 mg/dl e 500 mg/dl de proteínas ocorreram em um mesmo animal (cão 10: tabela III em anexo).

TABELA 5: Concentração de proteínas na urina (manhã e tarde) de todos os cães (n) ao

Momentos (M)	500mg/dl (+++)		100 mg/dl (++)		30 mg/dl (+)		Traços		Neg.		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
M 0	-	---	-	---	2	20%	8	80%	-	---	10	100%
Manhã 1	-	---	-	---	2	20%	7	70%	10	100%	10	100%
Tarde 1	-	---	-	---	1	10%	9	90%	-	---	10	100%
Manhã 2	-	---	-	---	-	---	10	100%	-	---	10	100%
Tarde 2	-	---	-	---	1	10%	9	90%	-	---	10	100%
Manhã 3	-	---	-	---	1	10%	9	90%	-	---	10	100%
Tarde 3	-	---	-	---	3	30%	7	70%	-	---	10	100%
Manhã 4	-	---	-	---	4	40%	6	60%	-	---	10	100%
Tarde 4	-	---	-	---	4	40%	6	60%	-	---	10	100%
Manhã 5	-	---	-	---	3	30%	7	70%	-	---	10	100%
Tarde 5	-	---	1	10%	2	20%	7	70%	-	---	10	100%
Manhã 6	-	---	-	---	6	60%	4	40%	-	---	10	100%
Tarde 6	-	---	-	---	6	60%	4	40%	-	---	10	100%
Manhã 7	-	---	-	---	3	30%	7	70%	-	---	10	100%
Tarde 7	-	---	-	---	3	30%	7	70%	-	---	10	100%
Manhã 8	-	---	-	---	5	50%	5	50%	-	---	10	100%
Tarde 8	-	---	-	---	5	50%	5	50%	-	---	10	100%
Manhã 9	-	---	-	---	3	30%	7	70%	-	---	10	100%
Tarde 9	1	10%	-	---	4	50%	5	50%	-	---	10	100%
Manhã 10	-	---	-	---	5	50%	5	50%	-	---	10	100%
Tarde 10	-	---	-	---	5	50%	5	50%	-	---	10	100%

No exame químico da urina também foi observada a presença de glicosúria em diferentes animais (tabela V e VI em anexo), manifestada em momentos diversos tanto na urina da tarde quanto na da manhã (tabela 6).

TABELA 6: Concentração de glicose na urina (manhã e tarde) de todos os cães (n) ao longo dos momentos (M =10).

Momentos (M)	100mg/dl (+++)		50 mg/dl (++)		30 mg/dl (+)		Traços (%)		Normal (%)		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
M 0	-	---	-	---	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Manhã 1	-	---	-	---	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Tarde 1	-	---	-	---	-	---	1	10%	9	90%	10	100%
Manhã 2	-	---	-	---	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Tarde 2	-	---	-	---	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Manhã 3	-	---	-	---	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Tarde 3	-	---	-	---	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Manhã 4	4	40%	-	---	-	---	-	---	6	100%	10	100%
Tarde 4	3	30%	1	10%	-	---	-	---	6	60%	10	100%
Manhã 5	2	20%	1	10%	1	10%	-	---	6	60%	10	100%
Tarde 5	1	10%	2	20%	-	---	1	10%	6	60%	10	100%
Manhã 6	3	30%	-	---	-	---	-	---	7	60%	10	100%
Tarde 6	3	30%	-	---	-	---	-	---	7	70%	10	100%
Manhã 7	3	30%	-	---	-	---	-	---	9	70%	10	100%
Tarde 7	1	10%	-	---	-	---	-	---	9	90%	10	100%
Manhã 8	-	---	-	---	-	---	-	---	9	90%	10	100%
Tarde 8	-	---	-	---	-	---	1	10%	9	90%	10	100%
Manhã 9	-	---	-	---	-	---	1	10%	10	90%	10	100%
Tarde 9	-	---	-	---	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Manhã 10	-	---	-	---	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Tarde 10	-	---	-	---	-	---	-	---	10	100%	10	100%

Outra alteração apresentada no exame químico da urina foi em relação ao pH urinário. Embora tenha ocorrido alteração estatisticamente significativa apenas na urina da tarde (tabela 8), houve aumento das médias do pH urinário ao longo dos momentos tanto na urina da tarde (figura 3) quanto na urina da manhã (figura 4), tendo sido alcançados valores de pH de até 8,5. (tabelas 7 e 9).

TABELA 7: Médias, desvios padrão, mediana e valores mínimos e máximos do pH da urina da tarde de todos os cães (n =10), ao longo dos momentos (M =10).

pH urina (tarde)	n (10)	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	6,30	0,54	6,50	5,50	7,00
M 1	10	7,10	1,10	7,25	5,50	8,50
M 2	10	6,85	0,47	7,00	6,00	7,50
M 3	10	7,55	0,86	7,50	6,00	8,50
M 4	10	7,00	0,94	7,25	5,50	8,50
M 5	10	7,25	0,75	7,00	6,00	8,50
M 6	10	7,25	0,86	7,50	5,50	8,50
M 7	10	7,75	0,63	7,75	7,00	8,50
M 8	10	7,45	0,50	7,50	7,00	8,50
M 9	10	7,35	0,41	7,50	6,50	8,00
M 10	10	7,45	0,55	7,50	6,50	8,50

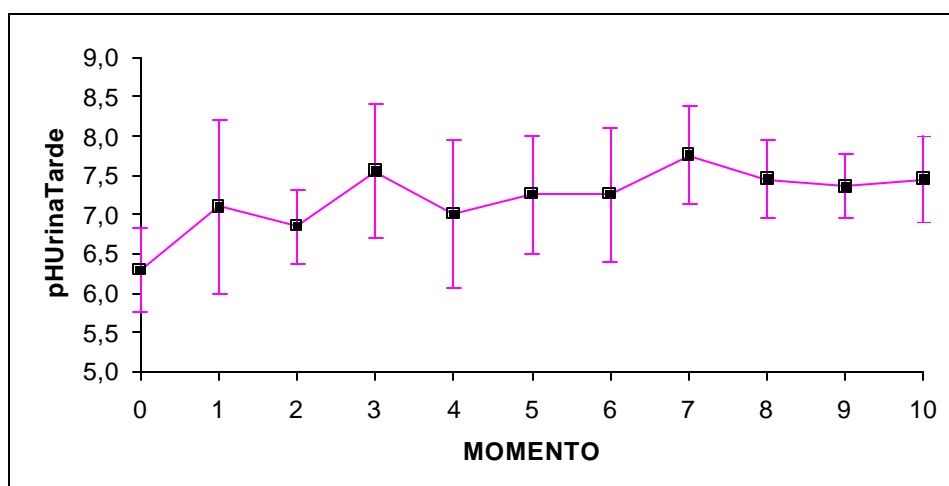


FIGURA 3: pH urina da tarde: gráfico com médias e desvios padrão de todos os cães (n =10) ao longo dos momentos (M).

TABELA 8: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas das médias do pH da urina da tarde ao longo dos momentos (M).

p,	0,0014		
M (0 x 1)	0,0039	M (0 x 1)	0,0039
M (0 x 2)	0,0774	M (1 x 2)	0,3562
M (0 x 3)	0,0002	M (2 x 3)	0,0110
M (0 x 4)	0,0322	M (3 x 4)	0,0443
M (0 x 5)	0,0041	M (4 x 5)	0,3562
M (0 x 6)	0,0042	M (5 x 6)	1,0000
M (0 x 7)	<,0001	M (6 x 7)	0,0669
M (0 x 8)	0,0006	M (7 x 8)	0,2688
M (0 x 9)	0,0016	M (8 x 9)	0,7115
M (0 x 10)	0,0006	M (9 x 10)	0,7115

TABELA 9: Médias, desvios padrão, medianas e valores mínimos e máximos do pH da urina da manhã de todos os cães (n =10), ao longo dos momentos (M =10).

pH urina (manhã)	n (10)	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	6,35	0,53	6,50	5,50	7,00
M 1	10	6,85	0,47	7,00	6,00	7,50
M 2	10	7,00	0,53	7,00	6,50	8,00
M 3	10	7,10	0,61	7,25	6,00	8,00
M 4	10	7,10	0,61	7,25	6,00	8,00
M 5	10	7,30	1,11	7,75	5,50	8,50
M 6	10	7,10	0,94	7,50	5,50	8,50
M 7	10	7,30	0,48	7,25	6,50	8,00
M 8	10	7,10	0,88	7,25	6,00	8,50
M 9	10	7,00	0,91	7,00	5,50	8,50
M 10	10	7,30	0,42	7,50	6,50	8,00

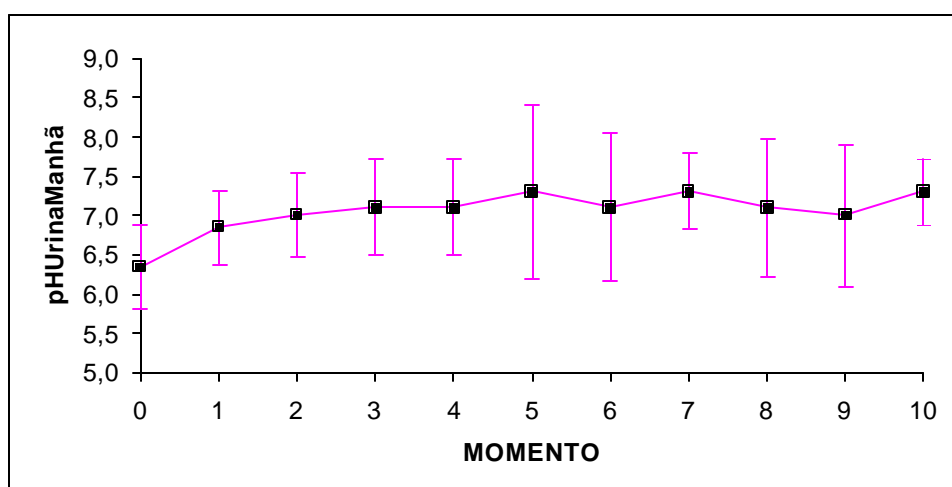


FIGURA 4: pH urina da manhã: gráfico com médias e desvios padrão de todos os cães (n =10) ao longo dos momentos (M).

TABELA 10: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas das médias do pH da urina da manhã ao longo dos momentos (M).

(p.)

p = 0,1798.

Quanto aos demais parâmetros do exame químico da urinálise, não houve em momento algum a presença de cetonúria, urobilinogênio ou sais biliares na

urina dos animais do presente experimento. Em relação à presença de bilirrubina, esta manteve-se dentro dos valores de 1+ à 2+. Em relação ao sangue oculto houve a presença desde traços até 1+ na urina de alguns dos animais, e apenas no cão de número 10, à partir do M9 à tarde, foi detectado a presença de 2+ de sangue oculto, devido instalação de processo inflamatório.

Ao exame do sedimento urinário detectou-se a presença de cilindros granulosos logo a partir do M2 à tarde (tabela 11), sendo que no M10 à tarde, 90% dos animais apresentaram estas formações em sua urinálise (tabela 11).

Tabela 11: Presença de cilindros granulosos na urina (manhã e tarde) de todos os cães (n =10) ao longo dos momentos (M =10).

Momentos (M)	+		Raros		Ausentes		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
0	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Manhã 1	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Tarde 1	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Manhã 2	-	---	-	---	10	100%	10	100%
Tarde 2	-	---	1	10%	9	90%	10	100%
Manhã 3	-	---	3	30%	7	70%	10	100%
Tarde 3	1	10%	1	10%	8	80%	10	100%
Manhã 4	1	10%	1	10%	8	80%	10	100%
Tarde 4	2	20%	1	10%	7	70%	10	100%
Manhã 5	1	10%	-	---	9	90%	10	100%
Tarde 5	1	10%	2	20%	7	70%	10	100%
Manhã 6	1	10%	2	20%	6	60%	10	100%
Tarde 6	2	20%	2	20%	6	60%	10	100%
Manhã 7	2	20%	1	10%	8	60%	10	100%
Tarde 7	1	10%	5	50%	5	50%	10	100%
Manhã 8	1	10%	5	50%	4	40%	10	100%
Tarde 8	1	10%	4	40%	5	50%	10	100%
Manhã 9	2	20%	2	20%	6	60%	10	100%
Tarde 9	3	30%	5	50%	2	20%	10	100%
Manhã 10	1	10%	8	80%	1	10%	10	100%
Tarde 10	4	40%	5	50%	1	10%	10	100%

Ainda em relação ao sedimento urinário de alguns animais, foram detectados cristais desde o M0 até o M10 das urinas da tarde e da manhã. Os cristais observados foram os de fosfato amorfo e fosfato triplo (raros até ++), quando em presença de urina básica; urato amorfo (raros até +) quando em urina ácida e em alguns animais houve a detecção de raros cristais de bilirrubina. Quanto à celularidade não houve em nenhum momento um aumento significativo da presença de células renais, de pelve, vesicais ou uretrais dos animais estudados, estas foram observadas também desde o M0 até o M10 mantendo-se principalmente entre raras até, em alguns momentos, de cinco a sete por campo.

Por terem sido utilizados cães machos, observou-se em algumas urinálises a presença de espermatozóides, e devido a colheita de urina ter sido realizada por micção espontânea, pôde-se observar também a presença de bactérias (de raras até 1+).

Em relação à excreção fracionada dos eletrólitos houve a manutenção das médias da excreção fracionada do sódio (Na%) em valores abaixo de 1% (tabela 12) ao longo de todos os momentos. Embora a partir do M6 (figura 5), tenha sido observado aumento de seus valores, este não foi estatisticamente significativo (tabela 13).

TABELA 52: Médias, desvios padrão, medianas, valores mínimos e máximos da excreção fracionada do sódio (Na%) de todos os cães (n =10) ao longo dos momentos (M =10).

Na%	CÃES (n)	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	0,39	0,26	0,37	0,08	0,71
M 1	10	0,69	0,73	0,43	0,09	2,63
M 2	10	0,34	0,19	0,30	0,08	0,68
M 3	10	0,66	0,52	0,69	0,05	1,50
M 4	10	0,41	0,23	0,44	0,13	0,79
M 5	10	0,71	0,38	0,72	0,23	1,27
M 6	10	0,57	0,35	0,43	0,19	1,21
M 7	10	0,71	0,43	0,67	0,21	1,36
M 8	10	0,88	0,82	0,52	0,20	2,66
M 9	10	0,88	0,55	0,76	0,19	1,74
M 10	10	0,79	0,58	0,52	0,18	1,93

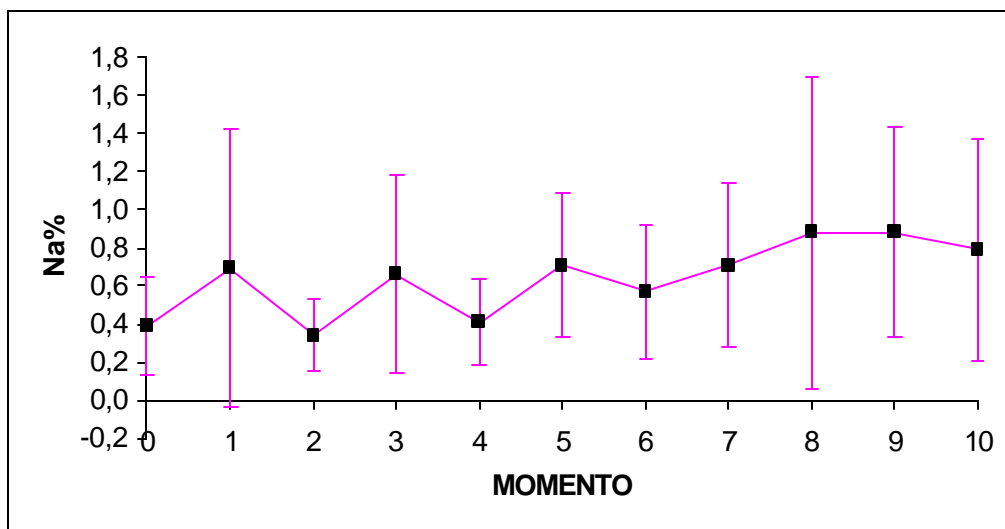


FIGURA 5: Excreção fracionada do sódio (Na%): médias e desvios padrão de todos os cães (n = 10) ao longo dos momentos.

TABELA 13: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas das médias da excreção fracionada de sódio (Na%), ao longo dos momentos (M).

p,	0,0501		
M (0 x 1)	0,0697	M (0 x 1)	0,0697
M (0 x 2)	0,7987	M (1 x 2)	0,0347
M (0 x 3)	0,2029	M (2 x 3)	0,0531
M (0 x 4)	0,9121	M (3 x 4)	0,1358
M (0 x 5)	0,1431	M (4 x 5)	0,0703
M (0 x 6)	0,4190	M (5 x 6)	0,3782
M (0 x 7)	0,1449	M (6 x 7)	0,3750
M (0 x 8)	0,0277	M (7 x 8)	0,3020
M (0 x 9)	0,0288	M (8 x 9)	0,9854
M (0 x 10)	0,0756	M (9 x 10)	0,5674

Em relação à excreção fracionada do potássio (K%), houve aumento dos valores de suas médias ao longo dos momentos, como demonstrado na tabela 14 e figura 6, tendo sido estatisticamente significativo (tabela 15).

TABELA 14: Médias, desvios padrão, medianas, valores mínimos e máximos da excreção fracionada do potássio (K%) de todos os cães (n =10) ao longo dos momentos (M =10).

K%	CÃES (n)	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	14,20	5,92	15,07	3,99	20,03
M 1	10	18,95	9,34	20,18	2,16	31,89
M 2	10	13,61	9,07	10,99	4,25	31,69
M 3	10	24,87	14,00	23,66	3,32	55,76
M 4	10	22,11	8,60	21,64	8,74	35,07
M 5	10	29,05	8,64	27,60	16,78	43,11
M 6	10	21,57	8,43	23,47	6,94	33,70
M 7	10	26,01	12,79	26,02	3,89	44,86
M 8	10	31,42	12,70	27,21	19,34	53,40
M 9	10	34,26	13,44	34,33	10,73	58,47
M 10	10	26,50	8,20	25,88	9,31	35,69

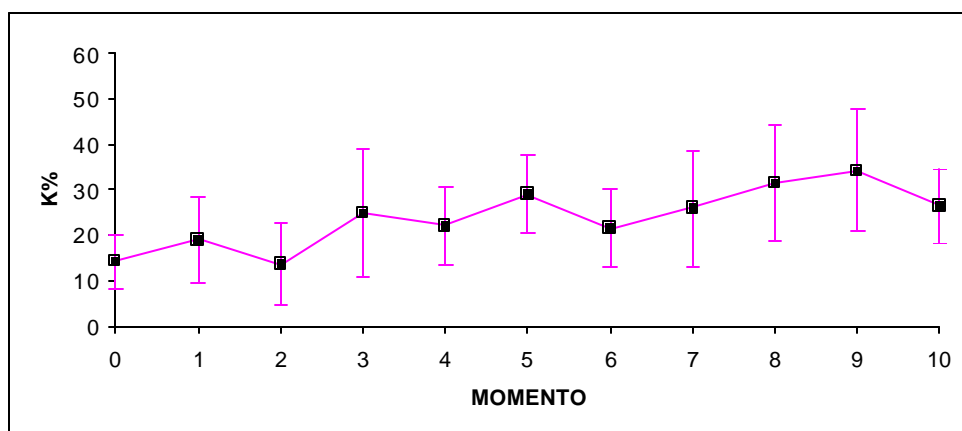


FIGURA 6: Excreção fracionada do potássio (K%): médias e desvios padrão de todos os cães (n = 10) ao longo dos momentos.

TABELA 15: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas das médias excreção fracionada do potássio (k%), ao longo dos momentos (M).

p,	0,0003		
M (0 x 1)	0,2013	M (0 x 1)	0,2013
M (0 x 2)	0,8912	M (1 x 2)	0,1512
M (0 x 3)	0,0202	M (2 x 3)	0,0030
M (0 x 4)	0,0879	M (3 x 4)	0,4565
M (0 x 5)	0,0018	M (4 x 5)	0,0633
M (0 x 6)	0,1143	M (5 x 6)	0,0456
M (0 x 7)	0,0123	M (6 x 7)	0,2319
M (0 x 8)	0,0003	M (7 x 8)	0,1461
M (0 x 9)	<,0001	M (8 x 9)	0,4434
M (0 x 10)	0,0093	M (9 x 10)	0,0383

Houve aumento dos valores das médias da concentração plasmática do íon sódio (Na^+) ao longo dos momentos (tabela 16), entretanto nota-se a presença de desvios padrão amplos (figura 7), tanto que este aumento não foi estatisticamente significativo (tabela 17).

TABELA 16: Médias, desvios padrão, medianas e valores mínimos e máximos da concentração plasmática do íon sódio (Na^+) de todos os cães (n =10) ao longo dos momentos (M =10).

Na^+	CÃES (n)	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	149,71	3,57	150,10	143,50	156,20
M 1	10	151,48	2,93	151,00	146,70	156,80
M 2	10	152,79	3,70	152,65	148,40	159,10
M 3	10	152,24	3,75	152,05	146,10	159,00
M 4	10	152,98	2,17	152,50	150,00	157,60
M 5	10	152,04	2,69	151,75	148,40	156,30
M 6	10	153,49	3,29	152,60	149,10	158,40
M 7	10	152,31	1,27	152,55	149,90	153,70
M 8	10	151,71	5,67	151,95	143,30	163,80
M 9	10	151,41	4,26	152,60	143,00	155,50
M 10	10	152,11	4,25	151,45	144,70	161,70

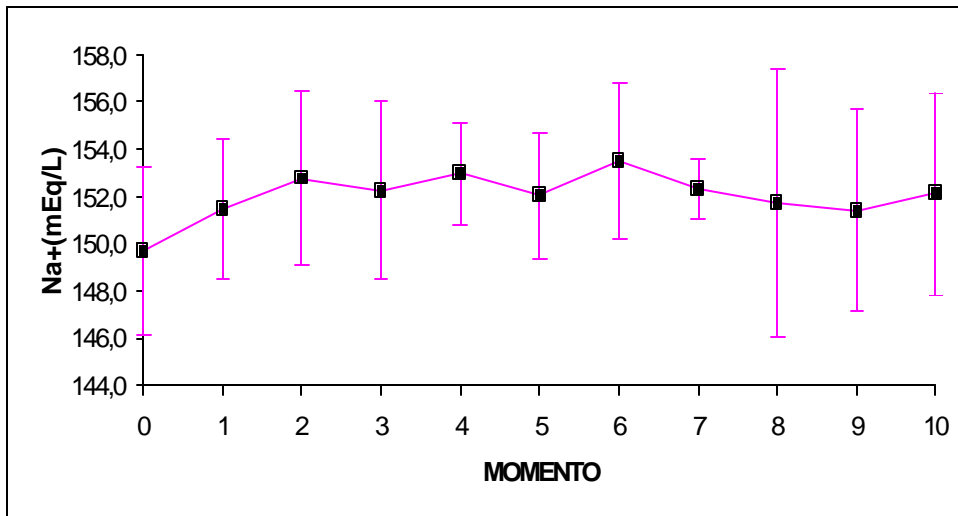


FIGURA 7: Concentração plasmática do íon sódio (Na^+ :mEq/L): médias e desvios padrão de todos os cães ao longo dos momentos (M =10).

TABELA 17: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas da concentração plasmática do íon sódio(Na^+) ao longo dos momentos (M =10).

(p)
Efeito de avaliação Na^+ : p = 0,6570

Em relação a concentração plasmática do íon potássio (K^+) embora não tenha sido estatisticamente significativa (tabela 19), houve progressiva diminuição dos valores de suas médias ao longo dos momentos (tabela 18 e figura 8). Houve a necessidade de correção logarítmica para normalização da variância deste parâmetro (tabela 19), tendo o cão de número 01 (um) (tabela x em anexo), sido o responsável pelo valor máximo de 7.92 mEq/dl apresentado no M1 à tarde (tabela 18).

Tabela 18: Médias, desvios padrão, medianas e valores mínimos e máximos da concentração plasmática do íon potássio (K^+ :mEq/L) de todos os cães (n =10) ao longo dos momentos (M =10).

K^+	CÃES (n)	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	4,26	0,29	4,25	3,73	4,72
M 1	10	4,52	1,22	4,06	3,94	7,92
M 2	10	4,04	0,36	4,12	3,36	4,51
M 3	10	4,25	0,29	4,17	3,81	4,65
M 4	10	4,11	0,46	4,22	3,23	4,67
M 5	10	4,22	0,25	4,22	3,79	4,60
M 6	10	4,08	0,22	4,13	3,60	4,36
M 7	10	4,11	0,18	4,17	3,79	4,38
M 8	10	4,08	0,18	4,06	3,79	4,36
M 9	10	4,03	0,23	4,09	3,53	4,24
M 10	10	4,07	0,20	4,11	3,61	4,30

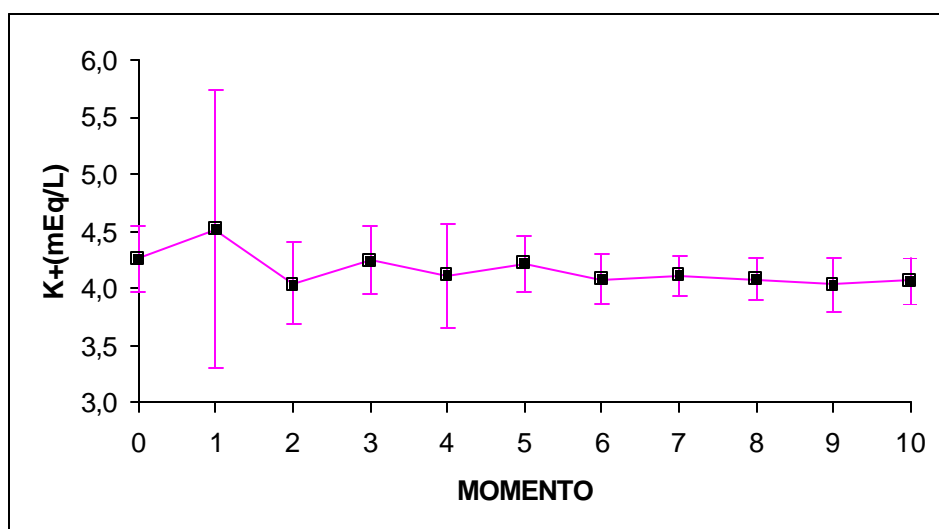


Figura 8: Concentração plasmática do íon potássio (K^+ :mEq/L): médias e desvios padrão de todos os cães (n =10), ao longo dos momentos (M =10).

TABELA 19: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas da concentração plasmática do íon potássio (K^+ :mEq/L): ao longo dos momentos (M =10).

(p): Log
p = 0,4814

Houve aumento progressivo dos valores das médias da concentração sérica de creatinina ao longo dos momentos (tabela 20). Contudo, devido aos elevados valores deste parâmetro apresentados pelo cão de número dez (tabela x em anexo), verificou-se a presença de desvios padrão amplos (figura 9), tendo sido necessário empregar transformação logarítmica para normalização da variância (tabela 21).

TABELA 20: Médias, desvios padrão, medianas e valores mínimos e máximos da concentração sérica de creatinina de todos os cães (n=10), ao longo dos momentos (M=10).

Creatinina (soro)	CÃES (n)	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	0,99	0,19	1,00	0,70	1,20
M 1	10	1,00	0,18	1,00	0,80	1,30
M 2	10	1,05	0,18	1,05	0,80	1,30
M 3	10	1,34	0,52	1,20	0,80	2,70
M 4	10	1,43	0,82	1,20	0,90	3,70
M 5	10	1,50	1,03	1,25	0,90	4,40
M 6	10	1,51	0,97	1,25	0,90	4,20
M 7	10	1,70	1,15	1,30	0,90	4,90
M 8	10	1,84	1,23	1,40	1,30	5,30
M 9	10	1,97	1,34	1,50	1,30	5,70
M 10	10	2,12	1,47	1,60	1,30	6,20

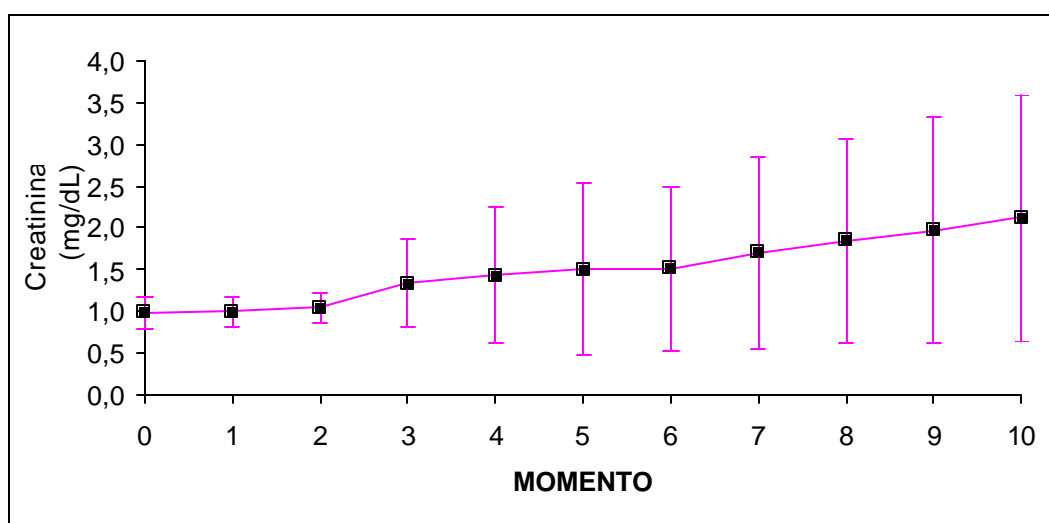


FIGURA 9: Concentração da creatinina sérica (mg/dl): médias e desvios padrão ao longo dos momentos (M=10).

TABELA 21: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas da concentração da creatinina sérica, ao longo dos momentos (M).

Contrastes ao longo dos momentos (M): Log		p,	<,0001
M (0 x 1)	0,7703	M (0 x 1)	0,7703
M (0 x 2)	0,3105	M (1 x 2)	0,2642
M (0 x 3)	0,0003	M (2 x 3)	<,0001
M (0 x 4)	0,0006	M (3 x 4)	0,5724
M (0 x 5)	0,0008	M (4 x 5)	0,6794
M (0 x 6)	0,0010	M (5 x 6)	0,6883
M (0 x 7)	<,0001	M (6 x 7)	0,0147
M (0 x 8)	<,0001	M (7 x 8)	0,0418
M (0 x 9)	<,0001	M (8 x 9)	0,1777
M (0 x 10)	<,0001	M (9 x 10)	0,1055

Em relação a concentração sérica de uréia, houve o aumento progressivo dos valores de suas médias ao longo dos momentos, como demonstrado pela tabela 22 e figura 10, sendo este aumento estatisticamente significativo (tabela 23).

TABELA 22: Médias, desvios padrão, medianas e valores mínimos e máximos da concentração sérica de uréia (mg/dL) de todos os cães (n =10), ao longo dos momentos (M =10).

URÉIA (soro)	CÃES (n =10)	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	42,33	9,80	43,00	26,00	55,90
M 1	10	43,38	11,27	39,50	30,00	58,90
M 2	10	47,82	12,06	46,15	32,79	71,00
M 3	10	52,32	12,31	56,50	30,00	66,70
M 4	10	53,62	16,25	60,00	27,00	72,40
M 5	10	55,49	11,59	61,35	35,00	65,00
M 6	10	60,56	13,51	61,09	44,00	85,50
M 7	10	63,69	13,93	62,00	38,00	88,80
M 8	10	63,22	11,42	60,33	53,00	91,00
M 9	10	67,14	13,26	64,75	52,36	97,00
M 10	10	73,40	16,83	65,50	61,00	111,10

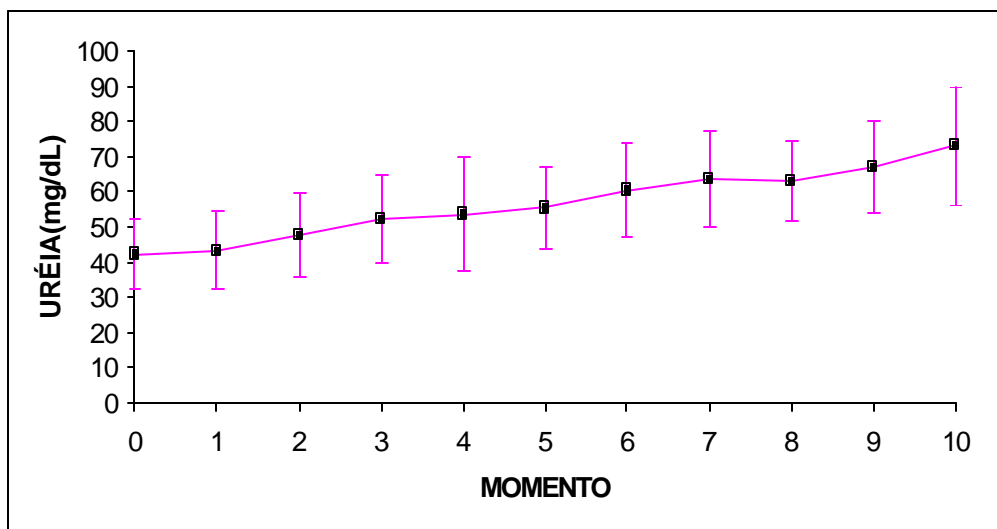


FIGURA 10: Concentração sérica da uréia (mg/dL): médias e desvios padrão de todos os cães (n =10) ao longo dos momentos (M= 10).

Tabela 23: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas das concentração sérica de uréia ao longo dos momentos (M).

p,	0,0011		
M (0 x 1)	0,7273	M (0 x 1)	0,7273
M (0 x 2)	0,1706	M (1 x 2)	0,1445
M (0 x 3)	0,0310	M (2 x 3)	0,1390
M (0 x 4)	0,0248	M (3 x 4)	0,6681
M (0 x 5)	0,0134	M (4 x 5)	0,5363
M (0 x 6)	0,0011	M (5 x 6)	0,0963
M (0 x 7)	0,0002	M (6 x 7)	0,3013
M (0 x 8)	0,0004	M (7 x 8)	0,8757
M (0 x 9)	<,0001	M (8 x 9)	0,1973
M (0 x 10)	<,0001	M (9 x 10)	0,0406

Em relação a atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT) na urina da tarde, houve aumento dos valores de suas médias com a evolução dos momentos (tabela 24), tendo sido estatisticamente significativo (tabela 25). Entretanto verifica-se a presença de valores altos de desvios padrão em todos os

momentos (figura 11), tendo sido necessário instituir-se correção logarítmica para normalização das variáveis (tabela 25).

TABELA 24: Médias, desvios padrão, medianas e valores mínimos e máximos da atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT:UI/L) na urina da tarde de todos os cães (n =10), ao longo dos momentos (M =10).

GGTurina (tarde)	CÃES (n)	MÉDIA	DESvio PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	18,54	10,86	15,65	9,00	39,00
M 1	10	43,61	32,49	38,75	7,80	109,30
M 2	10	50,77	35,05	39,25	8,50	109,00
M 3	10	58,28	45,99	47,70	15,20	155,50
M 4	10	52,85	51,64	24,95	12,50	162,50
M 5	10	44,10	40,83	30,00	17,50	152,00
M 6	10	41,51	25,43	32,50	10,70	88,90
M 7	10	46,31	20,87	42,40	19,60	74,10
M 8	10	42,29	22,40	34,45	10,40	85,00
M 9	10	64,86	44,09	43,15	20,80	135,40
M 10	10	61,69	47,92	42,50	15,00	160,00

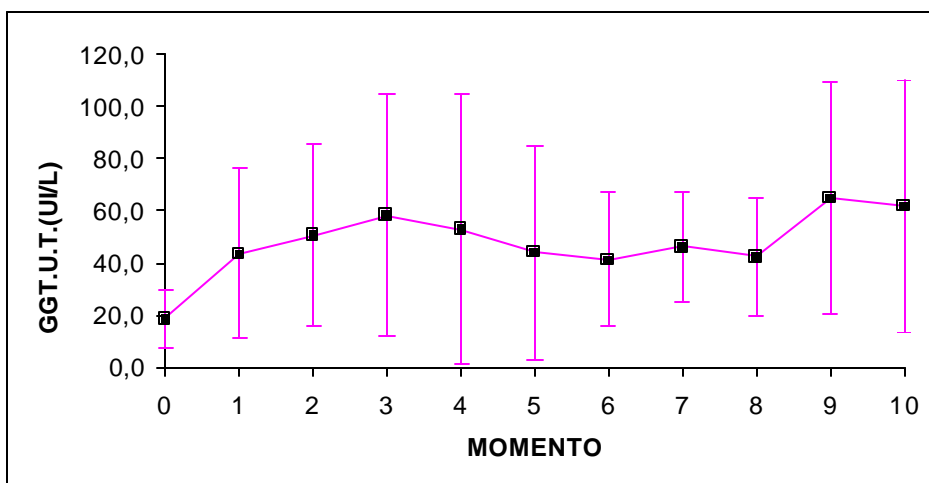


FIGURA 41: Atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT:UI/L) na urina da tarde: médias e desvios padrão de todos os cães (n =10), ao longo

TABELA 25: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas das médias da enzima GGT na urina da tarde ao longo dos momentos (M).

Análise no Log		p,	0,0042
M (0 x 1)	0,0100	M (0 x 1)	0,0100
M (0 x 2)	0,0049	M (1 x 2)	0,4690
M (0 x 3)	0,0022	M (2 x 3)	0,6294
M (0 x 4)	0,0148	M (3 x 4)	0,4465
M (0 x 5)	0,0212	M (4 x 5)	0,8736
M (0 x 6)	0,0175	M (5 x 6)	0,9193
M (0 x 7)	0,0040	M (6 x 7)	0,5081
M (0 x 8)	0,0118	M (7 x 8)	0,6352
M (0 x 9)	0,0004	M (8 x 9)	0,1769
M (0 x 10)	0,0009	M (9 x 10)	0,7680

Em relação a atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT) na urina da manhã também houve aumento dos valores de suas médias (tabela 26), tendo sido estatisticamente significativo (tabela 27). Entretanto houve a presença de valores altos de desvios padrão (figura 12), tendo sido necessário o emprego de transformação logarítmica para estabilizar a variância.

TABELA 26: Médias, desvios padrão, medianas e valores mínimos e máximos da atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT:UI/L) na urina da manhã de todos os cães (n =10), ao longo dos momentos (M =10).

GGTurina (manhã)	CÃES (n)	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	18,54	10,86	15,65	9,00	39,00
M 1	10	21,72	17,43	14,55	7,00	62,50
M 2	10	40,80	25,62	31,05	10,00	90,00
M 3	10	34,81	25,07	23,20	16,10	85,00
M 4	10	43,23	27,07	39,85	12,50	77,00
M 5	10	41,12	27,83	36,60	12,50	95,00
M 6	10	42,84	23,74	34,50	12,50	90,00
M 7	10	36,85	25,16	27,85	13,50	88,90
M 8	10	55,38	50,83	38,95	15,00	189,00
M 9	10	44,32	28,09	33,55	14,20	93,70
M 10	10	51,57	27,88	40,80	20,00	95,00

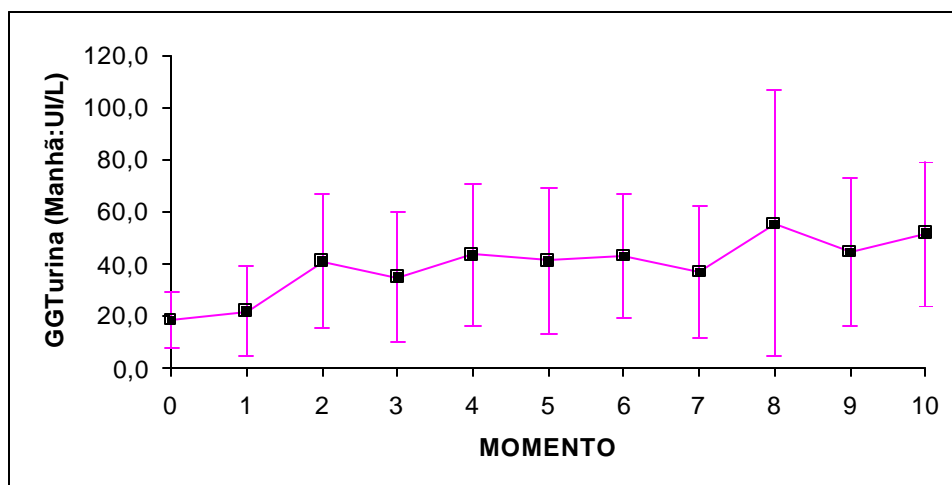


FIGURA 52: Atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT:U/L) na urina da manhã: médias e desvios padrão de todos os cães (n =10), ao longo dos momentos (M =10).

TABELA 27: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas das médias da GGT da urina da manhã ao longo dos momentos (M).

Análise no Log		p,	0,0042
M (0 x 1)	0,7466	M (0 x 1)	0,7466
M (0 x 2)	0,0020	M (1 x 2)	0,0004
M (0 x 3)	0,0220	M (2 x 3)	0,4437
M (0 x 4)	0,0052	M (3 x 4)	0,3461
M (0 x 5)	0,0105	M (4 x 5)	0,7896
M (0 x 6)	0,0036	M (5 x 6)	0,5279
M (0 x 7)	0,0254	M (6 x 7)	0,2917
M (0 x 8)	0,0009	M (7 x 8)	0,0750
M (0 x 9)	0,0049	M (8 x 9)	0,4115
M (0 x 10)	0,0005	M (9 x 10)	0,2717

As médias das concentrações séricas da enzima gama-glutamilttransferase (GGT) mantiveram-se relativamente constantes ao longo dos momentos (tabela 28), não havendo alteração estatisticamente significativa deste parâmetro (tabela 29). Devido a presença de desvios padrão amplos (figura 13), foi aplicada correção logarítmica para normalizar a variância.

TABELA 28: Médias, desvios padrão, medianas e valores mínimos e máximos da atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT) sérica de todos os cães (n =10), ao longo dos momentos (M =10).

GGT (soro)	CÃES (n)	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MEDIANA	MÍNIMO	MÁXIMO
M 0	10	5,01	2,87	4,55	2,00	10,00
M 1	10	5,88	3,72	5,15	2,00	13,00
M 2	10	5,27	3,32	4,10	1,00	11,00
M 3	10	5,61	4,00	5,05	1,00	13,00
M 4	10	5,24	2,64	5,15	2,00	10,00
M 5	10	4,95	4,04	2,50	1,00	11,30
M 6	10	5,42	3,14	4,00	2,00	10,00
M 7	10	4,74	3,39	3,00	1,00	11,00
M 8	10	4,83	3,88	3,50	1,00	11,30
M 9	10	5,55	3,35	5,00	2,00	12,00
M 10	10	4,92	3,01	3,50	2,00	9,00

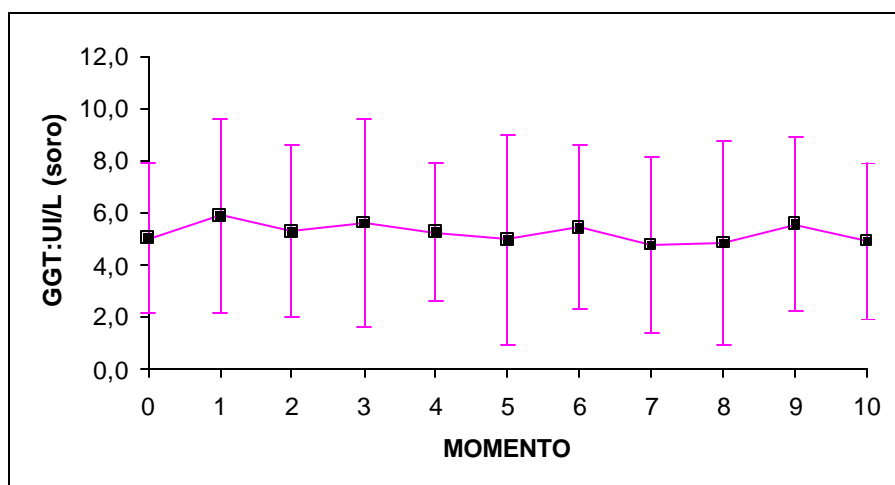


FIGURA 13: Atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT) sérica: médias e desvios padrão de todos os cães (n =10), ao longo dos momentos (M =10).

TABELA 29: Resultado (p) da análise da variância para medidas repetidas da enzima GGT sérica, ao longo dos momentos (M).

(p): Log
p=0,1324.

5. DISCUSSÃO

URINÁLISE

Exame Físico

CAPACIDADE DE CONCENTRAÇÃO DA URINA

Os resultados da urinálise demonstraram diminuição da densidade logo após quatro horas da primeira aplicação de anfotericina b (M1 à tarde), a qual manteve-se baixa durante todo o experimento, ou seja, até o M10 à tarde (figuras 1 e 2). Registrou-se (tabelas 1 e 2) diferentes valores da densidade urinária durante a evolução dos momentos, tendo sido detectado médias em torno de 1.015 e valor máximo de até 1.024. Importante salientar que os valores de densidade ficaram sempre abaixo de 1.025, valor este considerado normal para cães com livre acesso à água (DiBARTOLA, 1997) e utilizado como referência no teste de privação de água (FORD, 1992), mas os valores obtidos ficaram muito abaixo dos valores de controle do M0, embora não tenha ocorrido alterações estatisticamente significativas entre todas as comparações (p) feitas.

A capacidade renal de concentração da urina está diretamente ligada à presença ou ausência do hormônio antidiurético (ADH) e a presença de uma hipertonicidade medular (FORD, 1992; GYTON & HALL, 2002). Os resultados obtidos no presente trabalho descartam a possibilidade da súbita alteração da capacidade de concentração urinária ser devida à perda da hipertonicidade medular renal referente ao cloreto de sódio. Tal afirmação pode ser comprovada analisando-se o gráfico da excreção fracionada de sódio EF_{Na} (figura 5) onde suas médias apresentaram-se com valores menores do que 1%, indicando a presença

da capacidade de conservação deste íon através dos túbulos renais. Achados semelhantes foram encontrados em experimento realizado por DÓREA et al (1997), que utilizando ratos demonstraram também a preservação de EF_{Na} de seus animais. Deve ser observado que Grauer (1997) afirmou que a $EF_{Na} < 1\%$ é considerada valor de normalidade para cães, e isto demonstra uma capacidade adequada de conservação renal deste íon. Embora tenha sido detectado um valor de EF_{Na} de 2.63% (tabela 12), no M1 à tarde, para um único animal (Cão 4 -tabela XI, anexo), nota-se que logo no momento seguinte, sua EF_{Na} retorna a valor menor do que 1%. Uma vez que sua densidade continuou baixa, é mais uma prova da não interferência imediata da anfotericina **b** na hipertonicidade medular, referente à concentração de cloreto de sódio.

Em todos os momentos zero, de todos os animais, observou-se a capacidade de concentração urinária, ao registrar-se valores de densidade específico de até 1.040 (tabelas 1 e 2). Esta densidade controle descarta uma possível falta de produção ou inadequada resposta ao ADH de todos os animais no início do experimento, uma vez que como foi descrito por OSBORNE e POLZIN (1983), Ross (1988) e Tilley (2003), cães com alterações de produção ou de resposta ao ADH, dificilmente concentram suas urinas com valores acima de 1.025. Somando-se estes achados, de densidade específica da urina à presença da manutenção da reabsorção tubular de sódio ($EF_{Na} < 1\%$), a anfotericina **b** demonstrou-se como indutora de resposta inadequada ao hormônio antidiurético (ADH), que caracteriza o *diabetes insipidus* nefrogênico. Afirmação esta que discorda de Cohen & Post (2002), que relatam que o *diabetes insipidus* nefrogênico provocado pela anfotericina **b** ocorre apenas em seres humanos.

Além disso, deve-se salientar que Dibartola (1997) afirmou que em um sentido mais amplo, a denominação de *diabetes insipidus* nefrogênico pode ser utilizada na descrição de qualquer distúrbio no qual ocorra defeito estrutural ou funcional na capacidade de concentração renal, defeito que foi demonstrado no presente trabalho por meio da observação de baixos valores de densidade urinária (figuras 1 e 2).

Exame Químico

Proteinúria

Examinando-se na tabela 5, o M0 de todos os animais, quanto a presença de proteínas na urina, verificou-se a presença destas desde traços em 80% dos animais até 1+ (30mg/dL) nos 20% restantes; porém, estes achados podem ser considerados normais, como descrito por Bush (1991), uma vez que a densidade da urina neste momento encontrou-se alta (1,030 a 1.040). A partir do M1 à tarde até o M10 à tarde, de todos os animais, detectou-se a presença de proteínas na urina também em torno de traços até 1+, porém, estes achados embora semelhantes ao do M0, encontram-se presentes em urinas com densidade muito baixa. Sendo assim, a presença, mesmo que de apenas 1+ de proteínas nas amostras do presente experimento, a partir do M1 à tarde, pode estar representando lesão renal provocada pela anfotericina b, uma vez que como alertados por Meyer (1995) e Strasinger (2000), deve ser levada em conta a concentração das amostras, pois terá maior significado clínico a presença de quantidades vestigiais de proteínas em amostras diluídas do que em amostras concentradas. Associando-se estes achados com a presença de cilindrúria,

discutida no próximo tópico, pode ser afirmado que a proteinúria encontrada tem significado clínico de lesão renal, embora tenha sido registrada em baixas concentrações em todas as urinálises realizadas.

Verifica-se, na tabela 5, a presença de 2+ (100 mg/dL) no M5 à tarde e 3+ (500 mg/dL) de proteína no M9 à tarde, apresentado pelo mesmo animal (tabela III, anexo). No primeiro momento citado, esse aumento de proteína na urina pode ser atribuído a ação direta do fármaco como já mencionado acima e que condiz com literatura, onde Carlson e Condon (1994) e Tavares (2002) citam a presença de uma proteinúria variável quando a anfotericina b é utilizada. Já a proteinúria do M9 pode ser atribuída ao processo inflamatório do trato urinário inferior que se instalou neste momento, pois também houve a presença de leucocitúria (20 células/ campo) e presença de 3+ de bactérias na urinálise deste animal, uma vez que como explicado por Bush (1991), a proteinúria deve ser interpretada junto com o sedimento da urina e, nas condições acima descritas, sugere processo inflamatório com origem em trato urinário inferior.

Glicosúria

Em condições de normalidade quase toda a glicose filtrada através dos glomérulos é reabsorvida no túbulo contorcido proximal, sendo assim, a urina contém quantidades mínimas de glicose (STRASINGER, 2000). Analisando-se os resultados deste trabalho (tabela 6), nota-se a presença de glicose desde traços logo no M1 à tarde, até +++ (300 mg/dL) a partir do M4 até o M8 à tarde. Estes achados demonstram que a anfotericina b tem a capacidade de lesionar os túbulos proximais, discordando de Rubin (1984) que afirmou não ter observado em

seu experimento alterações que comprovassem a existência das lesões neste segmento do néfron.

Mais uma vez deve-se relembrar o mecanismo de ação da anfotericina b o qual altera a permeabilidade das membranas celulares por meio da formação de poros que permitem o influxo e efluxo de íons e outros solutos (LAMBING, WOLF, HARTSEL, 1993). Sendo assim, pode-se supor que a perda da capacidade de reabsorção de glicose deve-se, em parte, à modificação da permeabilidade iônica dessas membranas que acabaria por alterar o co-transporte de glicose para o interior das células. Esta hipótese pode ser embasada associando-se os achados do presente trabalho com os de Capasso et al (1985) e Joly et al (1989) que demonstraram a atuação deste fármaco, alterando a permeabilidade ao sódio das membranas das bordas em escova dos túbulos proximais do rim de ratos e coelhos; sódio este necessário para o funcionamento adequado do co-transporte de glicose, como explicado por Gyton e Hall (2002). A glicosúria também pode ser atribuída à presença de leão tubular aguda, uma vez que observou-se (tabelas V e VI, anexo) a presença concomitante do aumento da atividade da enzima gama-glutamilttransferase (GGT) urinária nos cães de número 9 (M4) e número 10 (M4 e M5) e cilindros granulosos (tabela 11). Além disso, deve-se salientar que TILLEY e SMITH (2003) afirmaram que na insuficiência renal aguda, a presença de glicosúria normoglicêmica tem sua origem devido à presença de significativas lesões tubulares.

Por outro lado, poderia ser levantada a hipótese de que essa glicosúria seria resultado da administração da solução de dextrose a 5% na qual foi diluída a anfotericina b. Porém, registrou-se a presença da glicosúria (tabela 6) nos

momentos M4, M6 e M8, momentos estes onde não foi administrada a droga, sendo assim, descarta-se essa possibilidade. Além disso, deve-se lembrar que os animais receberam somente pequena quantidade deste fluido (20 mL), no qual foi diluído a anfotericina b e mantido a via venosa com velocidade lenta de gotejamento do fluido.

pH

Nas tabelas de resultados do pH urinário, tanto da tarde quanto do período da manhã (tabelas 7 e 9), observou-se aumento dos valores das médias ao longo dos momentos. Já nas tabelas dos valores individuais do pH urinário (tabelas VII e VIII, anexas) nota-se que valores de até 8.5 foram alcançados, sendo que os valores basais encontravam-se na faixa de 5.5 até 7.0. Achados semelhantes foram descritos por Joly et al (1989) que em experimento utilizando coelhos, demonstraram a presença do aumento do pH da urina de seus animais e, Llanos et al (1991) e Sawaya, Brigs e Schenermann (1995) descreveram a ocorrência de alteração na capacidade de acidificação urinária em seres humanos tratados com o fármaco em questão. Atribuí-se à alteração na capacidade de excreção dos íons hidrogênio ocasionada pela anfotericina b o aumento da permeabilidade passiva da membrana luminal tendo a retrodifusão deste íon, sem grandes alterações sobre o seu transporte ativo (SEGURO, 1996), fato este que se comprova ao analisar os valores do pH sangüíneo que se mantiveram dentro da normalidade (tabela XX, anexo).

Exame do Sedimento Urinário

Cilindrúria

Os cilindros urinário formam-se no interior dos túbulos renais, sendo que a presença de cilindros granulosos indica processo de lesão tubular (MEYER, 1995; VARELA, 1996). Observando-se a tabela 11 referente à cilindrúria, verifica-se a presença de cilindros granulosos logo a partir do M2 à tarde, sendo que no M10 a porcentagem de animais com cilindrúria foi de 90%. Nota-se a presença, principalmente, da quantificação de raros cilindros, que representa cerca de menos de 1 (um) cilindro por campo; sendo assim, em uma primeira análise, este resultado sugere que não ocorreu lesão tubular grave, porém deve-se chamar a atenção ao fato do pH da urina dos animais, em praticamente todos esses momentos, apresentavam dentro da faixa de 7,0 a 8,5, e além disso, os animais apresentaram poliúria. Uma vez que os cilindros podem se desintegrar na presença tanto de urinas diluídas quanto de urinas alcalinas, como afirmado por Henry, Lauzon e Schumann (1999) e Tilley e Smith (2003), o número de cilindros inicialmente formados deveria ser bem maior, representando um maior acometimento do parênquima renal.

EXCREÇÃO FRACIONADA DE SÓDIO (FE_{Na})

Como previamente discutido no tópico de capacidade de diluição urinária, não foram detectadas alterações estatisticamente significativas nos primeiros momentos em relação às médias da excreção fracionada de sódio (tabela 13). Estes achados são condizentes com experimento realizado por MONTEIRO, Seguro e Rocha (1993) que demonstraram que a excreção fracionada de sódio

manteve-se inalterada, logo após a infusão da droga diretamente em artéria renal de cães. Yano, Monteiro e Seguro (1994) demonstraram em experimento utilizando fragmentos da medula interna renal de ratos, que a anfotericina b não causou alteração na permeabilidade tubular de sódio em presença do ADH, permeabilidade esta que se alterada teria levado à perda da hipertonicidade medular, afetando assim a capacidade de concentração da urina. Sendo assim, a presença de valores da $EF_{Na} < 1\%$ do presente trabalho, mais uma vez, confirma que a alteração na capacidade de concentração renal ocorreu por alteração da capacidade dos néfrons em responder ao ADH, ou seja, houve a indução de *diabetes insipidus* nefrogênica.

Alguns animais do presente trabalho apresentaram EF_{Na} acima de 1%, valor considerado normal para cães (DiBARTOLA, 1997), a partir do M5, e um animal apresentou alteração logo no M1, voltando à normalidade logo no momento seguinte (tabela XI, anexo). Deve-se lembrar que o mecanismo de ação da anfotericina b, consiste em sua ligação aos esteróis das membranas celulares, formando poros permeáveis à saída de íons monovalentes (RANG, DALE, RITTER, 2001). Sendo assim torna-se possível atribuir essa perda do sódio à ação tóxica direta da anfotericina b sobre os túbulos renais.

EXCREÇÃO FRACIONADA DE POTÁSSIO (EF_K)

Durante o decorrer deste experimento, houve o aumento das médias da EF_K ao longo dos momentos (tabela 14 e figura 6), tendo sido estatisticamente significativo (tabela 15). Atribui-se à anfotericina b a capacidade de provocar esta

perda de íons potássio através da urina, como descrito por Dórea et al (1997) que também demonstraram aumento da EF_K em ratos tratados com anfotericina b.

O mecanismo pelo qual ocorreu este aumento da perda de íons potássio pelas células dos túbulos distais renais é atribuído à alteração na permeabilidade destas membranas, causada pela formação de canais ionóforos, possibilitando a saída passiva do potássio, por meio de gradiente eletroquímico favorável (SAWAYA, BRIGGS, SCHNERMANN, 1995; TAVARES, 2002).

Não se pode descartar que a poliúria provocada pela anfotericina b atue como fator agravante da perda de potássio, uma vez que o aumento da velocidade de formação da urina também aumenta a excreção deste íon. Esta hipótese é corroborada por Polzin et al (1997) que comentam sobre a poliúria levando à uma maior perda de potássio. Embora não tenham sido utilizadas gaiolas metabólicas durante o experimento, o que possibilitaria a quantificação adequada da produção de urina, foi observado aumento do volume de urina produzido.

Sabe-se que o hormônio aldosterona atua nas células principais estimulando a retenção de sódio e a excreção de potássio (SEGURO, HELOU, ZATZ; 2000); sendo assim, poderia ser levantada a hipótese de que a espoliação aumentada de potássio ocorreria devido à alguma alteração na ação deste hormônio. Porém, deve-se ressaltar que os autores Gerkens e Branch (1980) e Sawaya, Briggs e Schnermann (1995) afirmaram que a anfotericina b não aumenta os níveis tanto de aldosterona quanto de renina durante o período de sua utilização, sendo assim, descarta-se a hipótese acima citada.

CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE SÓDIO (Na^+)

Embora não tenha ocorrido alteração estatisticamente significativa (tabela 17), houve discreto aumento dos valores das médias da concentração sérica do íon sódio, com a evolução dos momentos (figura 7). Estes achados são condizentes com a presença de *diabetes insípida* (DI) nefrogênica. Isto porque, o aumento da concentração de sódio está sendo causado pela perda contínua de água pelos rins (PINCUS, PREUSS, HENRY, 1999) mesmo com a presença de água “ad libitum” aos animais deste experimento, o que justifica a não alteração drástica destes valores. Isto ocorreu porque cães com DI exibem poliúria primária com polidipsia secundária, ou seja, eles bebem excessivamente para compensar a grande perda de água pela urina, a qual provoca contração de volume (NICHOLS & THOMPSON, 1997).

Importante lembrar que o aumento de cerca de 1% na osmolaridade sangüínea estimula a liberação do ADH pela hipófise posterior, sendo que esta resposta é rápida, podendo os níveis plasmáticos de ADH aumentarem por várias vezes em poucos minutos (GYTON & HALL, 2002). Sendo assim deveriam observar a eliminação de uma urina mais concentrada e não diluída, como ocorreu com os animais deste experimento. Isto confirma, mais uma vez, a atuação da anfotericina b como indutora de DI nefrogênica em cães.

CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE POTÁSSIO

Durante a evolução dos momentos, embora não tenha ocorrido alteração estatisticamente significativa do potássio sérico (tabela 19), houve uma gradativa

diminuição dos valores de suas médias (tabela 18 e figura 8). Como pode ser observado, o valor da média deste íon no M0 foi de 4.26 mEq/dL, alcançando 4.07 mEq/dL no M10. Isto demonstra a importância do acompanhamento deste eletrólito durante tratamentos prolongados com anfotericina b. Tais achados condizem com afirmações feitas por Noxon (1989) e Carlson e Condon (1994) que descrevem a hipopotassemia como possível efeito adverso da terapia com anfotericina b. Esta perda de potássio é atribuída à ação direta da anfotericina b que altera a permeabilidade das células, as quais perdem este íon para o meio extracelular, o qual então não é retido pelos rins (TAVARES, 2002). O aumento do desvio padrão encontrado no M1 deve-se ao aumento da concentração sérica de potássio do cão de número um que obteve o valor de 7.92 mEq/dl (tabela x, anexo). Este aumento do potássio pode ser atribuído à liberação deste íon das membranas das hemácias para a corrente sanguínea, como descrito por MONTEIRO (1996).

CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CREATININA E URÉIA

Analisando-se as tabelas 20 e 22 das concentrações séricas de creatinina e uréia, pode-se observar que houve um aumento progressivo dos valores de suas médias ao longo da evolução dos momentos, sendo que este aumento foi estatisticamente significativo (tabelas 21 e 23). No referente a creatinina (figura 9), embora tenha ocorrido, na análise estatística, um desvio padrão relativamente grande à partir do M4, este ocorreu devido às alterações drásticas dos valores do cão de número 10 (tabela XV, anexo), que por provável sensibilidade individual, apresentou dentre os 10 cães os mais altos valores deste parâmetro. A creatinina

é utilizada para avaliar o ritmo de filtração glomerular (RFG), onde seu aumento sérico indica diminuição desse ritmo, sendo assim os achados do presente trabalho vem corroborar com os autores Sabra et al (1989) e Kuan, Branch & Jackson (1990) que afirmam que a anfotericina b tem a capacidade de provocar diminuição do ritmo de filtração glomerular. Importante salientar que como descrito por ZATZ (2000), a concentração sérica de creatinina é uma função inversa do tipo $y = k/x$ (hiperbólica) do ritmo de filtração glomerular (RFG), sendo que graças a esse tipo de forma de curva, aumentos relativamente pequenos da concentração plasmática de creatinina podem corresponder às perdas mais significativa de função renal.

Como já mencionado, houve aumento progressivo dos valores das médias da concentração de uréia sérica (tabela 22) ao longo dos momentos, o qual foi estatisticamente significativo (tabela 23). Sabe-se que diversos fatores podem influenciar a concentração de uréia no sangue (FINCO, 1997), entretanto, pode-se atribuir à queda no ritmo de filtração glomerular como causa principal deste aumento, uma vez que os mais altos valores de uréia estão acompanhados respectivamente de valores também mais altos de creatinina (tabela XVI, anexo), afirmação esta corroborada por Harvey e Champe (1998), que atribuem o aumento da uréia sangüínea como sendo provocado pela anfotericina b.

Autores como Bagatin e Gucé (1983) atribuem à nefrotoxicidade produzida pela anfotericina b como sendo exclusivamente de cunho dose-dependente, porém, os resultados do presente trabalho discordam desta hipótese, uma vez que pôde-se observar no cão de número 10 (tabela XV, anexo), que as concentrações séricas de creatinina aumentaram significativamente logo no M3, ou seja, logo

após apenas duas aplicações. Pôde-se notar a presença de animais não azotêmicos durante os 10 momentos do experimento (cães 2, 5, 7 e 9 na tabela XV, anexo), além do início de azotemia em dois animais apenas nos M6 e M8. Estes achados sugerem que não se deve atribuir à nefrotoxicidade da anfotericina b uma exclusiva ação dose-dependente, pois pôde-se comprovar a existência de uma susceptibilidade individual, corroborada por MALICK et al (1996) e RANDALL et al (1996), que alertam sobre a importância desta susceptibilidade ao ser instituído um tratamento com a anfotericina b.

URINÁLISE x CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CREATININA E URÉIA

Como previamente descrito, sabe-se que a detecção de azotemia ocorre somente quando cerca de dois terços dos néfrons de ambos os rins encontram-se com sua função alterada, tornando este método diagnóstico tardio no que se refere à possível prevenção de instalação de insuficiência renal aguda. Analisando-se os resultados do presente trabalho, nota-se que embora na maioria dos animais as alterações detectadas na urinálise foram realmente mais precoces, como o surgimento de glicosúria e cilindrúria logo nos primeiros momentos, a azotemia instalou-se agudamente no M3 em um dos animais (tabela XV, anexo), e a partir do M6, em outro animal, houve a instalação de IRA com apenas duas a três aplicações do fármaco. Estes resultados demonstraram que para o acompanhamento da função renal de cães recebendo anfotericina b na dose de 0,5 mg/kg, tanto a urinálise quanto as dosagens séricas de creatinina e uréia devem ser realizadas sempre que a droga for administrada aos animais, devido ao

potente mecanismo nefrotóxico deste fármaco, que pode, agudamente, alterar tanto a hemodinâmica quanto a função tubular renal.

ATIVIDADE DA ENZIMA URINÁRIA GAMA-GLUTAMILTRANSFERASE (GGT)

Observando-se as tabelas 24 e 26, nota-se que, embora tenha ocorrido um pequeno aumento das médias da atividade da enzima gama-glutamyltransferase (GGT) urinária, estes valores mantiveram-se dentro do intervalo de normalidade, considerado entre 13 a 92 U/L (DeSCHEPPER et al, 1989), durante a evolução dos momentos. Embora tenha ocorrido alteração estatisticamente significativa das médias ao longo dos momentos (tabelas 25 e 27), registrou-se a presença de valores altos de desvios padrão (figuras 11 e 12), que demonstraram que a GGT urinária apresenta variação muito ampla de seus valores. Analisando-se os dados da tabela XVII (anexo) o caso do animal nove, pode-se observar que embora a GGT tenha alcançado valor muito acima do normal no M1 à tarde, logo no momento seguinte seu valor voltou à normalidade, porém não houve o interrompimento da lesão renal, uma vez que em momentos posteriores ocorreu a detecção de glicosúria (tabela 6) e cilindrúria (tabela 11), e novamente aumento da atividade da GGT urinária no M4 à tarde. Analisando-se o cão de número um (tabela XVII, anexo), nota-se que no M3 à tarde foi detectado o aumento da atividade da GGT urinária, porém, este foi o único momento onde este parâmetro se apresentou alterado, mesmo verificando-se a persistência de lesão renal por meio da detecção de glicosúria, cilindrúria e azotemia em momentos seguintes. Estes achados discordam de Rivers et al (1996) que afirmam que a GGT urinária é um marcador confiável de persistência de lesão renal tubular.

Analisando-se as tabelas XVII e XVIII (anexo), verifica-se uma grande discrepância entre as detecções das alterações da GGT urinária. Observando-se os valores do cão nove, verifica-se que no M4 a GGT urinária apresenta-se alterada durante a colheita da tarde, porém, na amostra colhida pela manhã, a mesma encontra-se dentro do intervalo de normalidade. Esta divergência também ocorreu no M8 deste mesmo cão, onde na urina da manhã registra-se uma GGT alterada, entretanto encontra-se dentro da normalidade quando na urina da tarde. Verificou-se semelhante achado nos cães de número 07 (sete) que apresentou atividade da GGT urinária aumentada no M2 à tarde, porém, sem alteração durante a colheita da manhã, e de número 10, o qual teve valor normal no M4 de manhã e alterado à tarde. Estes achados descartam a utilização da GGT urinária como método de diagnóstico de lesão renal induzida por anfotericina b (Fungison®), discordando de Grauer (1996) que afirma ser a GGT urinária um sensível marcador de lesão renal tubular.

Dentre os exames realizados no presente trabalho a urinálise foi o primeiro a alterar-se durante o tratamento com a anfotericina b, e embora tenha sido observado, na tabela XVII (anexo), o aumento da atividade da GGT urinária em momentos iniciais do experimento (animais 1, 7 e 9), é importante chamar a atenção para o cão de número 10 (tabela XV e XVI, anexo), que apresentou, no M3 à tarde, aumentos concomitantes da atividade da GGT urinária e das concentrações séricas de uréia e creatinina, descartando-se então a utilização desta enzima como método precoce de diagnóstico de lesão renal. Embora isto inicialmente poderia ser atribuído mais pelo tipo de mecanismo de ação da

anfotericina b, que altera primeiro a função do túbulo distal, torna-se importante salientar que a anfotericina b utilizada está associada ao desoxicolato que sabidamente causa lesão tubular proximal, como demonstrado experimentalmente por Zager, Bredl e Schimpf (1992) e por Dórea et al (1997). Além disso, Zager, Bredl e Schimpf (1992) demonstraram, utilizando *in vitro*, segmentos de túbulos proximais de ratos, que a anfotericina b isolada causou aumento da liberação da enzima LDH, enzima esta indicativa de danos em túbulos renais proximais, 30 e 60 minutos após a exposição ao fármaco.

ATIVIDADE DA ENZIMA SÉRICA GAMA-GLUTAMILTRANSFERASE (GGT)

Como demonstrado na tabela 29, não ocorreu alteração estatisticamente significativa da atividade da enzima sérica gama-glutamiltransferase (GGT) e, comparando-se as tabelas 28 com as tabelas 24 e 26, nota-se a diferença entre seus valores. Isto porque a enzima sérica GGT não é a mesma que aparece na urina, corroborando com Lane, Grauer e Fettman (1994) e Henemann et al (1997), que relatam que a GGT tem seu tamanho molecular muito grande, o qual impede que seja filtrada nos glomérulos renais.

LOCAIS DE AÇÃO DA ANFOTERICINA B

O defeito da acidificação urinária, a perda de potássio e o defeito na capacidade de concentração urinária encontrados neste trabalho, vêm corroborar o conceito de que a anfotericina b atua causando danos diretos nos túbulos distais renais (MONTEIRO, 1994), sendo a perda na capacidade de concentração da urina a primeira alteração a ser detectada. Os achados de glicosúria e do

aumento, mesmo que em somente alguns momentos, da excreção da GGT na urina, vem comprovar que a anfotericina b também atua provocando lesões nos túbulos proximais, discordando de Rubin (1994) que em experimento realizado em cães, não verificou alterações em túbulo proximal.

6.CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nas condições em que foi realizado o experimento, permitem as seguintes conclusões:

A anfotericina b provoca lesões tanto em túbulo proximal quanto em túbulo renal distal;

A densidade da urina demonstrou ser a variável mais precoce para demonstrar alteração da função renal;

A enzima urinária gama-glutamilttransferase (GGT) não demonstrou eficiência como método de diagnóstico de lesão renal induzida por anfotericina b;

Avaliação sérica de potássio deve ser realizada durante o tratamento com anfotericina b;

A anfotericina b provoca acidose tubular renal do tipo I;

A anfotericina b provoca diabetes insipidus nefrogênica em cães.

7. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA²³

BAGATIN, E.; GUCÉ, L. C. Nefrotoxicidade da anfotericina b em relação á dose total administrada. **Anais Bras. Dermat.**, R. J., v.58, n. 6, p.261-264, 1983.

BEAM, T. R. Jr. Antifungal agents. In: SMITH, C. A., REYNARD, A. M. (Eds). **Textbook of pharmacology**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1992. p. 888-889.

BENNETT, J.E. Fármacos antimicrobianos (continuação): fármacos antifúngicos. In: GOODMAN, L. S., GILMAN, A. G. (Eds). **As bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: MacGraw Hill, 1996. p. 863-875.

BILL, R. L. Antimicrobials. In:_. **Pharmacology for the veterinary technicians**. 2. ed. Saint Louis: Mosby, 1997. p. 196-229.

BRAUN, P. et al. Gamma glutamyl transferase in domestic animals. **Vet. Res. Commun.**, Amsterdam, v.6, p. 77-90, 1983.

BROBST, D. Urinalysis and associated laboratory procedures. In: **The veterinary clinics of north america: small animal practice**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1989. p. 929-49.

BURDMANN, E. A.; VIEIRA, J. M.; VIDAL, E. C. Nefropatia tóxica e tubulointersticial. In: RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrolíticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996 p. 325-350.

CAPASSO, G. et al. Amphotericin b and amphotericin b methylester: effecto on brush border membrane permeability. **Kidney Int.**, New York, v. 30, p. 311-317, 1985.

²³ ABNT - 2002

CARLSON, M. A.; CONDON, R. E. Nephrotoxicity of amphotericin b. **J. Am. Coll. Surg.**, v. 179, p.361-381, sep., 1994.

CARNEIRO, R. S. **Contribuição ao estudo do *clearence* de creatinina e da excreção fracionada de sódio, potássio e uréia e determinação de valores de referência de indicadores de função renal em cães.** 2002. 86p. Dissert (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

CHEW, D. J. Urogenital emergencies. In: SHERDING, R. G. (Ed). **Medical emergencies.** New York: Churchill livingstone, 1985.p. 187-212.

COHEN, M.; POST, G. S. Water transport in the kidney and nephrogenic diabetes insipidus. **J Vet. Intern. Med.**, Philadelphia, n. 16, p.510-517, 2002.

COLES, E.H. **Patologia clínica veterinária.** 3 ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.

CONSTANZO, L. S. **Fisiologia.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, 392p.

DAVIS, L.E. Clinical pharmacology of amphotericin B. **JAVMA.**, Schaumburg, v.179, n 1, p. 83-84, jul.,1981.

DESCHEPPER, J.; COCK, I.; CAPIAU, E. Urinary γ -glutamyltransferase and degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. **Res. Vet. Sci.**, Casinoplein, v. 46, 1989.p. 396-400.

DiBARTOLA, S.P. Abordagem clínica e avaliação laboratorial da afecção renal. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. (Eds). **Tratado de medicina interna veterinária.** São Paulo: Manole, 1997. p. 2355-73.

DÓREA, E. L. et al. Nephrotoxicity of amphotericin b is attenuated by solubilizing with lipid emulsion. **J. Am. Soc. Nephrol.**, Baltimore, v.8, 1997, p. 1415-1422.

FARIAS, M. R.; GIUFRIDA, R. Antifúngicos. In: ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. São Paulo: Roca, 2002.p. 59-72.

FOIL, C. S. Antifungal agents in dermatology. In: **Current veterinary therapy IX small animal practice**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. p.560-65.

FORD, R. B. In: **Signos clínicos y diagnóstico en pequeños animales**. Buenos Aires ; Med. Panamericana, 1992.

FORRESTER, S. D.; LITTLE, S. E. The etiopathogenesis of acute renal failure. **Vet. Med.** , Kansas, p. 204-211, mar., 1994.

FORRESTER, S. D.; LEES, G. E. Nefropatias e uretropatias. In: Bichard, S.J., Sherding, R.G. (Eds). **Manual saunders clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1998. p. 902-25.

GARY, F.; CHEW, D.J.; HOFFSIS, G.F. Enzymuria as an index of renal damage in sheep with induced aminoglycoside nephrotoxicosis. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v.51, n.3, p. 428-31, mar. 1990.

GOSSET, K. A. et al. Evaluation of γ -glutamyl transpeptidase-to-creatinine ratio from spot samples of urine supernatant, as na indicator of urinary enzyme excretion in dogs. **Am J Vet Res.**, Chicago, v.48, n 3, p. 455-4457, mar., 1987.

GRAUER, G. F. Prevention of acute renal failure. **Veterinary clinics of north america: small animal practice**, Philadelphia, v 26, n 6, p. 1447-1457, nov., 1996.

GRAUER, G.F.; LANE, I.F. Acute renal failure: ischemic and chemical nephrosis. In: OSBORNE, C.A., FINCO, D.R. (Eds). **Canine and feline nephrology and urology**. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1995. p.441-56.

GRAUER, G.F.; LANE, I.F. Insuficiência renal aguda. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. (Eds). **Tratado de medicina interna veterinária**. São Paulo: Manole, 1997. p. 2374-93.

GRAUER, G.F. Prevention of acute renal failure. **Veterinary clinics of north america: small animal practice.**, Philadelphia, v. 26, n. 6, p. 1447-1459, nov., 1996.

GRECO, D. S. et al. Urinary gamma-glutamyltranspeptidase activity in dogs with gentamicin-induced nephrotoxicity. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v. 46, n. 11, p.2332-2335, nov., 1985.

GYTON, A. C.; HALL, J. E. . Formação da urina pelos rins: II processamento tubular do filtrado glomerular. In: **_Tratado de fisiologia médica**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan., 2002, p. 280-296.

GYTON, A. C.; HALL, J. E. Regulação da osmolaridade do líquido extracelular e da concentração de sódio. In: **_Tratado de fisiologia médica**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan., 2002, p. 297-311.

HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C. Fármacos antifúngicos. In: **Farmacologia ilustrada**. Porto Alegre: Artmed, 1998, p. 337-345.

HEIENE, R.; BIEWENGA, W.J.; KOEMAN, J.P. Urinary alkaline phosphatase and γ -glutamyltransferase as indicators of acute renal damage in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, Gloucestershire, v.32, p.521-24, 1991.

HEINE, R.; MOE, L.; MOLMEN, G. Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra. **Res. Vet. Sci.**, Casinoplein, v.70, p. 129-137.

HENNEMANN, C. R. A. et al. Atividade da gama glutamil transpeptidase urinária, dosagens séricas de uréia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeos em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, n. 2, p.237-244, 1997.

HENRY, J. B.; LAUZON, R. B.; SCHUMANN, G. B. Exame básico da urina. In: **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. São Paulo: Manole, 1999, p. 411-452.

HUMES, H. D.; WEINBERG, I. M. Toxic nephropathies. In: BRENNER, B. M., RECTOR, F. C. (Eds). **The Kidney**. 3.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996. p. 1491 -1532.

JOLY , V. et al. Incorporation of amphotericin b (amb) into lipossomes alters amb-induced acute nephrotoxicity. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, Baltimore, v. 251, n.1, p. 311-316, 1989.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Aparelho urinário. In: **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan., 315-331, 1999.

KUAN, C. J.; BRANCH, R. A.; JACKSON, E. K. Effect of an adenosine receptor antagonist on acute amphotericin b nephrotoxicity. **European J Pharmacol.**, Amsterdam, v. 178, p. 285-291, 1990.

LAMBING, H. E.; WOLF, B. D.; HARTSEL, S. C. Temperature effects on the aggregation state and activity of amphotericin b. **Biochem. Biophys. Acta.**, Amsterdam, v. 1152, p. 185-188, 1993.

LANE, I. F.; GRAUER, G. F.; FETTMAN, M. J. Acute renal failure part I risk factors, prevention, and strategies for protection. **Compend. Cont. Educ. Article**, v.16, n1., p.15-29, jan. 1994.

LLANOS et al. Effect of salt supplementation on amphotericinb nephrotoxicity.

Kidney international, New York, v. 40, p.302-308, 1991.

LOPES, R. S.; TAKAHIRA, R. K. **Urinálise** (Apostila), Botucatu, 2001.

MALIK, R. et al. Combination chemotherapy of canine and feline cryptococcosis using subcutaneously administered amphotericin B. **Aust. Vet. J.**, Brunswick, v.73, n.4, p. 124-28, 1996.

MEYER, J.D.; HARVEY, W.J. Assessment of renal function, urinalysis, and water balance. In: **Veterinary laboratory medicine interpretation and diagnosis**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p. 221-35.

MONTEIRO, J. M.; SEGURO, A. C.; ROCHA, A. S. Nefrotoxicidade aguda da anfotericina no cão. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo.**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 54-59, 1993.

MONTEIRO, J. M. Nefrotoxicidade da anfotericina b. In: JENNER CRUZ-**Atualidades em nefrologia 4**. 1996.

NELSON, W. R.; COUTO, C. G. Insuficiência renal. In: NELSON, W.R., COUTO, C.G. (Eds.). **Medicina interna de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.487-99.

NETO, V. A. In: _ **Antibióticos na prática médica**.1985

NICHOLS, R.; THOMPSON, L. Afecções pituitaries-hipotalâmicas. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. (Eds). **Tratado de medicina interna veterinária**. São Paulo: Manole, 1997. p. 1967-1986.

NICHOLS, R. Diabetes insipidus. In: KIRK, R.W, ed. **Atualização terapêutica veterinária pequenos animais** . 10. ed. São Paulo: Manole, 1989. p.973-978.

NOXON, J. O. Systemic antifungal chemotherapy. In: KIRK, R.W, ed. **Atualização terapêutica veterinária pequenos animais** . 10. ed. São Paulo: Manole, 1989. p. 1101-1106.

OSBORNE, C. A.; FINCO,D. R. **Canine and feline nephrology**. Baltimore: Williams e Wilkins, p.960, 1995.

PINCUS, PREUSS, HENRY, p. 1999.

PLUMB, D. C. Drug monographs- amphotericin b. In: **Veterinary drug handbook**. Minnessota: Iowa state university press., 3. ed., 1999., p. 38-42.

POLZIN, D.J. at al. Insuficiência renal crônica. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds). **Tratado de medicina interna veterinária**. São Paulo: Manole, 1997. p. 2394-2431.

POLZIN, D.J.; OSBORNE, C.A. Pathophysiology of renal failure and uremia. In: OSBORNE, C.A; FINCO, D.R. (Eds). **Canine and feline nephrology and urology**. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1995. p. 929-49.

PRICE, R. G. Early markers of nephrotoxicity. **Comp. Clin. Path.**, London, n.11, p.2-7, 2002

RANDALL et al. Nephrotoxicity of amphotericin b administered to dogs in a fat emulsion five percent dextrose solution. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v.57, n.7, p. 1054-1058, jul., 1996.

RANG, H. P.; DALE, M.; RITTER, J. M. Fármacos antifúngicos. In: **Farmacologia**. 4. ed. Rio de janeiro: Guanabara Koogan., 2001, p.605-608.

RIVERS, B. J. 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. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, Larewood, july/august, v.32, p. 323-336 ,1996.

ROSS, L. A. Avaliação da função renal no cão e gato. In: KIRK, R.W. **Atualização terapêutica veterinária pequenos animais**. São Paulo: Manole, 1988. p.1395-1447.

RUBIN, S.I. **Nefrotoxicidade da Anfotericina B**. In: KIRK, R.W. Atualização terapêutica veterinária pequenos animais IX. 9. ed. São Paulo: Manole, 1988. p.1442-1447.

SABRA et al. Mechanisms of amphotericin b-induced reduction of the glomerular filtration rate: a micropuncture study. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, Baltimore, v. 253, n.1, p.3437, 1990.

SAWAYA et al. Direct vasoconstriction as a possible cause for amphotercin b-induced nephrotoxicity in rats. **J. Clin. Invest.**, v. 87, p. 2097-2107, jun., 1991.

SAWAYA, B. P.; BRIGGS, J. P.; SCHNERMANN, J. Amphotericin b nephrotoxicity: the adverse consequences of altered membrane properties. **J. Am. Nephrol.**, Baltimore, v. 6., n.2, p.154-164, 1995.

SCHEPPER, J.; COCK, I.; CAPIAU, E. Urinary γ -glutamyl transferase and the degree of renal dysfunction in 75 bitches with piometra. **Res. Vet. Sci.**, Casinoplein, v.46, p.396-400, 1989.

SCOTT, D.W.; MILLER, W.H.; GRIFFIN, C.E. Fungal skin diseases. In: MILLER, W.H. **Small animal dermatology**. Philadelphia: Saunders, 2001. p. 337-422.

SEGURO, ; HELOU,; ZATZ, R. In: ZATZ, R. **Fisiopatologia renal**. São Paulo: Atheneu, 2000. p.

SHAW, D.H.; IHLE, S.L. Urinary tract diseases and fluid and electrolyte disorders. In: **Small animal internal medicine**. London: Williams & Wilkins, 1997. p. 323-50.

SENIOR, D. F. Doenças do sistema urinário. In: DUNN, J. K (ed) **Tratado de medicina interna de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2001, p.607- 644.

SMITH, H. W. Renal physiology. In: DiBARTOLA, S. P. **Fluid therapy in small animal practice**. 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders., 2000, p.26-41.

SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. Agentes antifúngicos e antivirais. In:_. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 2ª ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1999. p. 409-21.

STRASINGER, S. K. In:_. **Uroanálise & fluidos biológicos**. São Paulo: Editorial Premier, 2000.

TAVARES, W. Poliênicos e outros antibióticos antifúngicos. In: **Manual de antibióticos**. 3ª ed. São Paulo: Atheneu, 2002, p. 747-764.

TILLEY, L. P.; SMITH, F. W. K. Jr. **Consulta veterinária em cinco minutos espécies canina e felina**, 2 ed. São Paulo: Manole, 2003. 1423 p.

WALKER, R. J.; DUGGIN, G. G. Cellular mechanisms of drug nephrotoxicity. In: SELDIN, D. W.; GIEBISCH, G. (Eds.): **The kidney vol. III**. 2.ed. New York: Raven press, 1992. p. 3571-3595.

WILLARD, M.D.; TVEDTEN, H.; TURNWALD, G.H. Gastrointestinal, pancreatic, and hepatic disorders. In: **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p. 189-228.

WELBOURNE, T. C. et al. Gamma glutamyltransferase release by the post ischemic kidney: multiple forms and cellular ph. **Life Sciences**, n. 33, p. 1141-1147, 1993.

YANO, Y.; MONTEIRO, J. L.; SEGURO, A. C. Effect of amphotericin b on water and urea transport in the inner medullary collecting duct. **J. Am. Soc. Nephrol.**, Baltimore, v. 5, n. 1, p. 68-74, 1994.

YU, L. et al Insuficiência renal aguda. In: ZATZ, R. **Fisiopatologia renal**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 261-82.

ZAGER, R. A.; BREDL, C. R.; SCHIMPF, B. A. Direct amphotericin b-mediated tubular toxicity: assessments of selected cytoprotective agents. **Kid. Intern.**, New York, v. 41, p.1588-1594, jan., 1992.

ZATZ, R. Distúrbios da filtração glomerular. In:_. **Fisiopatologia renal**. São Paulo: Atheneu, 2000. p. 3- 20.

6. ANEXO

TABELA I: VALORES INDIVIDUAIS DA DENSIDADE DA URINA DA TARDE, AO LONGO DOS MOMENTOS (M).

	CAO 1	CAO 2	CAO 3	CAO 4	CAO 5	CAO 6	CAO 7	CAO 8	CAO 9	CAO10
M 0	1,040	1,030	1,040	1,036	1,038	1,032	1,032	1,032	1,030	1,040
M 1	1,014	1,006	1,010	1,008	1,016	1,014	1,014	1,012	1,016	1,016
M 2	1,012	1,008	1,008	1,008	1,006	1,004	1,008	1,016	1,006	1,010
M 3	1,018	1,014	1,018	1,010	1,014	1,004	1,008	1,016	1,018	1,010
M 4	1,018	1,024	1,014	1,010	1,018	1,012	1,014	1,014	1,010	1,010
M 5	1,010	1,012	1,014	1,016	1,010	1,010	1,010	1,010	1,010	1,012
M 6	1,012	1,016	1,014	1,012	1,016	1,022	1,016	1,012	1,014	1,012
M 7	1,014	1,012	1,014	1,012	1,014	1,010	1,008	1,008	1,012	1,008
M 8	1,010	1,016	1,012	1,010	1,014	1,014	1,014	1,006	1,012	1,012
M 9	1,014	1,010	1,014	1,012	1,010	1,014	1,008	1,012	1,012	1,020
M10	1,014	1,010	1,012	1,010	1,010	1,014	1,008	1,018	1,012	1,014

TABELA II: VALORES INDIVIDUAIS DA DENSIDADE DA URINA DA MANHÃ, AO LONGO DOS MOMENTOS (M).

	CAO1	CAO2	CAO3	CAO4	CAO5	CAO6	CAO7	CAO8	CAO9	CAO10
M0	1,040	1,030	1,040	1,036	1,038	1,032	1,032	1,032	1,030	1,040
M1	1,030	1,040	1,040	1,040	1,040	1,040	1,040	1,028	1,040	1,040
M2	1,010	1,014	1,014	1,010	1,016	1,016	1,010	1,016	1,006	1,010
M3	1,012	1,012	1,022	1,014	1,014	1,012	1,010	1,016	1,012	1,012
M4	1,024	1,006	1,008	1,010	1,018	1,012	1,014	1,014	1,012	1,012
M5	1,010	1,022	1,016	1,016	1,018	1,014	1,014	1,018	1,012	1,014
M6	1,010	1,016	1,010	1,014	1,016	1,022	1,016	1,012	1,012	1,014
M7	1,014	1,006	1,008	1,016	1,014	1,010	1,016	1,016	1,014	1,014
M8	1,012	1,016	1,010	1,010	1,014	1,014	1,014	1,012	1,012	1,012
M9	1,020	1,016	1,014	1,014	1,016	1,014	1,012	1,018	1,012	1,014
M10	1,016	1,006	1,010	1,010	1,016	1,014	1,014	1,018	1,012	1,014

TABELA V: Valores individuais da presença de glicose (cruzes e mg/dl) na urina da tarde ao longo dos momentos (M).

	M0	M1T	M2T	M3T	M4T	M5T	M6T	M7T	M8T	M9T	M10T
CÃO 1	normal	normal	normal	normal	++(100)	+(50)	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 2	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 3	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 4	normal	traços	normal	normal	normal	normal	++(100)	++(100)	normal	normal	normal
CÃO 5	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 6	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	traços	normal	normal
CÃO 7	normal	normal	normal	normal	++(100)	traços	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 8	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 9	normal	normal	normal	normal	++(100)	+(50)	++(100)	normal	normal	normal	normal
CÃO 10	normal	normal	normal	normal	+(50)	++(100)	++(100)	normal	normal	normal	normal

TABELA VI: valores individuais da presença de glicose (cruzes e mg/dl) na urina da manhã ao longo dos momentos (M).

	M0	M1M	M2M	M3M	M4M	M5M	M6M	M7M	M8M	M9M	M10M
CÃO 1	normal	normal	normal	normal	++(100)	+(50)	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 2	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 3	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 4	normal	normal	normal	normal	normal	normal	++ (100)	++ (100)	normal	normal	normal
CÃO 5	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 6	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	traços	normal	normal
CÃO 7	normal	normal	normal	normal	++(100)	+(50)	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 8	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
CÃO 9	normal	normal	normal	normal	++(100)	++(100)	++(100)	normal	normal	normal	normal
CÃO 10	normal	normal	normal	normal	++(100)	++(100)	++(100)	normal	normal	normal	normal

TABELA VII: Valores individuais do pH da urina da tarde ao longo dos momentos (m).

	CÃO 1	CÃO 2	CÃO 3	CÃO 4	CAO 5	CAO 6	CAO 7	CAO 8	CAO 9	CAO 10
M 0	5,5	6,0	6,5	6,5	6,0	5,5	6,5	6,5	7,0	7,0
M 1	7,0	5,5	7,0	8,0	6,0	5,5	7,5	8,0	8,0	8,5
M 2	6,0	6,5	7,0	7,5	6,5	7,0	7,0	6,5	7,0	7,5
M 3	7,5	6,5	8,0	8,5	8,5	6,0	8,5	7,0	7,5	7,5
M 4	7,0	5,5	7,5	8,5	7,5	5,5	6,5	7,5	7,5	7,0
M 5	7,0	7,0	8,0	8,0	7,0	8,5	7,5	6,5	6,0	7,0
M 6	5,5	7,5	7,5	7,5	6,5	8,5	7,5	6,5	8,0	7,5
M 7	7,5	8,5	8,0	8,5	8,5	7,0	8,0	7,0	7,5	7,0
M 8	7,0	7,5	7,0	8,0	8,5	7,5	7,5	7,5	7,0	7,0
M 9	7,0	7,0	8,0	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	6,5
M10	6,5	8,5	8,0	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,0	7,0

TABELA VIII: Valores individuais do pH da urina da manhã ao longo dos momentos (m).

	CÃO 1	CÃO 2	CÃO 3	CÃO 4	CAO 5	CAO 6	CAO 7	CAO 8	CAO 9	CAO 10
M 0	5,5	6,0	6,5	6,5	6,0	5,5	6,5	6,5	7,0	7,0
M 1	7,0	7,0	6,5	7,5	6,0	7,0	6,5	6,5	7,5	7,0
M 2	7,5	6,5	7,0	8,0	6,5	6,5	7,0	6,5	7,0	7,5
M 3	7,5	8,0	6,0	7,5	7,0	6,5	7,5	7,0	6,5	7,5
M 4	7,0	7,5	7,5	8,0	7,5	6,0	6,5	7,5	7,0	6,5
M 5	5,5	8,5	7,5	8,0	8,0	6,0	8,5	8,0	7,0	6,0
M 6	5,5	7,5	8,0	7,5	6,5	8,5	7,5	6,5	7,5	6,0
M 7	6,5	7,5	7,5	8,0	8,0	7,0	7,0	7,5	7,0	7,0
M 8	6,0	7,5	6,0	8,0	8,5	7,5	7,5	7,0	7,0	6,0
M 9	6,0	8,5	5,5	7,5	8,0	7,0	7,5	7,0	6,5	6,5
M10	7,0	7,5	7,5	7,5	8,0	7,5	7,0	7,5	7,0	6,5

TABELA IX: Presença de cilindros granulosos na urina da tarde de cada cão, ao longo dos momentos (M).

	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
CÃO 1	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	raros	+
CÃO 2	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
CÃO 3	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	raros	raros
CÃO 4	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	+	raros	raros	raros	raros
CÃO 5	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	raros	ausente	raros	raros	ausente	raros
CÃO 6	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	raros	raros	ausente	+	+	+
CÃO 7	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	raros	+
CÃO 8	ausente	ausente	raros	+	+	+	+	raros	raros	raros	+
CÃO 9	ausente	ausente	ausente	raros	+	ausente	raros	raros	ausente	+	raros
CÃO 10	ausente	ausente	ausente	ausente	raros	ausente	ausente	raros	raros	+	raros

Tabela X: Presença de cilindros granulosos na urina da manhã de cada cão, ao longo dos momentos (M).

	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
CÃO 1	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	raros
CÃO 2	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
CÃO 3	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	raros
CÃO 4	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	+	ausente	raros	ausente	raros
CÃO 5	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	+	raros	ausente	raros
CÃO 6	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	raros	ausente	+	+	+
CÃO 7	ausente	ausente	ausente	raros	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	raros	raros
CÃO 8	ausente	ausente	ausente	raros	+	+	+	raros	raros	ausente	raros
CÃO 9	ausente	ausente	ausente	raros	raros	ausente	raros	ausente	raros	+	raros
CÃO 10	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	raros	raros	raros	ausente

TABELA XI: valores individuais da excreção fracionada do sódio ($EF_{Na}\%$) ao longo dos momentos (m).

	CÃO 1	CÃO 2	CÃO 3	CÃO 4	CÃO 5	CÃO 6	CÃO 7	CÃO 8	CÃO 9	CÃO10
M 0	0,08	0,41	0,61	0,69	0,14	0,71	0,08	0,63	0,22	0,32
M 1	0,09	0,87	0,32	2,63	0,35	0,33	0,50	0,36	0,55	0,90
M 2	0,08	0,24	0,32	0,68	0,27	0,12	0,43	0,42	0,28	0,55
M 3	0,05	0,27	1,19	0,92	1,06	0,12	0,91	1,50	0,12	0,46
M 4	0,13	0,21	0,79	0,76	0,43	0,16	0,48	0,46	0,26	0,45
M 5	0,79	0,34	0,94	1,26	1,27	0,65	0,87	0,23	0,53	0,25
M 6	0,33	0,79	1,21	1,03	0,19	0,67	0,45	0,41	0,38	0,22
M 7	0,94	1,20	0,84	1,12	0,31	0,21	1,36	0,49	0,25	0,42
M 8	0,57	1,60	1,71	2,66	0,47	0,20	0,34	0,61	0,24	0,44
M 9	0,96	1,30	1,74	1,05	1,67	0,19	0,47	0,56	0,33	0,54
M10	0,41	1,20	1,93	1,51	0,89	0,18	0,56	0,43	0,29	0,47

TABELA XII: Valores individuais da excreção fracionada do potássio ($EF_K\%$) ao longo dos momentos (m).

	CÃO 1	CÃO 2	CÃO 3	CÃO 4	CÃO 5	CÃO 6	CÃO 7	CÃO 8	CÃO 9	CÃO10
M0	7,38	15,07	19,98	20,03	7,51	3,99	19,35	19,17	14,46	15,07
M1	2,16	23,26	31,89	28,33	12,97	8,51	20,04	14,96	20,32	27,06
M2	4,25	15,01	31,69	14,10	7,29	5,16	7,88	20,08	7,21	23,43
M3	14,63	24,24	23,08	21,29	18,16	3,32	55,76	38,19	25,55	24,47
M4	29,94	29,99	27,81	18,57	17,04	8,74	35,07	16,34	12,89	24,71
M5	27,27	39,05	29,15	26,44	43,11	16,78	27,93	21,65	20,66	38,42
M6	22,45	25,72	28,66	17,51	6,94	8,93	26,50	33,70	20,78	24,48
M7	23,83	25,92	39,48	35,36	9,11	3,89	44,86	26,11	19,89	31,62
M8	22,37	44,23	35,24	53,40	19,86	19,34	22,93	45,95	19,36	31,48
M9	33,81	43,25	46,23	25,34	58,47	10,73	23,16	38,70	28,02	34,85
M10	21,34	34,56	35,37	35,69	22,11	9,31	25,61	26,14	23,40	31,46

TABELA XIII: VALORES INDIVIDUAIS DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DO SÓDIO (Na^+ :mEq/dL) AO LONGO DOS MOMENTOS (M).

	CÃO 1	CÃO 2	CÃO 3	CÃO 4	CÃO 5	CÃO 6	CÃO 7	CÃO 8	CÃO 9	CÃO 10
M 0	143,5	145,6	150,7	156,2	148,0	151,7	151,2	148,6	152,1	149,5
M 1	156,8	150,6	154,2	148,2	151,0	152,9	151,0	153,2	150,2	146,7
M 2	149,6	149,1	158,5	159,1	153,5	154,0	152,5	152,8	150,4	148,4
M 3	149,2	146,1	153,5	155,5	153,1	159,0	149,0	155,0	151,0	151,0
M 4	151,4	151,8	155,6	157,6	152,6	152,2	153,4	152,8	152,4	150,0
M 5	156,3	148,5	152,2	154,3	154,5	150,6	151,3	154,1	150,2	148,4
M 6	151,3	156,8	152,1	153,1	153,8	158,4	158,2	150,0	152,1	149,1
M 7	153,7	152,8	152,3	153,6	153,3	152,3	151,6	150,6	153,0	149,9
M 8	145,6	154,5	154,4	148,3	153,7	163,8	152,1	149,6	151,8	143,3
M 9	154,4	152,8	155,2	144,6	155,5	153,1	152,4	151,4	151,7	143,0
M10	153,3	151,2	151,6	150,7	150,2	161,7	151,7	154,7	151,3	144,7

TABELA XIV: VALORES INDIVIDUAIS DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DO POTÁSSIO (K^+ :mEq/dL) AO LONGO DOS MOMENTOS (M).

	CÃO 1	CÃO 2	CÃO 3	CÃO 4	CÃO 5	CÃO 6	CÃO 7	CÃO 8	CÃO 9	CÃO 10
M 0	4,08	3,73	4,15	4,26	4,26	4,72	4,15	4,23	4,27	4,70
M 1	7,92	4,49	4,67	3,96	4,11	4,00	3,98	3,97	4,15	3,94
M 2	3,36	4,51	3,84	4,11	4,13	4,50	4,07	4,15	3,58	4,19
M 3	4,65	4,57	4,05	4,10	4,23	4,62	3,81	4,32	4,10	4,00
M 4	3,80	4,54	4,34	3,23	4,41	4,67	3,55	4,36	4,05	4,10
M 5	4,21	4,51	4,14	3,79	4,23	4,60	4,27	4,44	4,11	3,94
M 6	3,60	4,19	4,10	4,17	3,80	4,22	4,36	4,08	4,15	4,11
M 7	4,15	4,18	4,10	3,79	3,81	4,21	4,22	4,38	4,19	4,06
M 8	3,94	3,97	4,22	3,98	3,79	4,35	4,36	4,01	4,10	4,12
M 9	4,06	4,18	4,08	4,10	4,14	4,07	4,24	3,53	4,21	3,68
M10	3,88	4,14	4,20	4,08	4,30	4,26	3,61	4,01	4,19	4,05

TABELA XV: Valores individuais da concentração sérica de creatinina (mg/dl) ao longo dos momentos (M).

	CAO 1	CAO 2	CAO 3	CAO 4	CAO 5	CAO 6	CAO 7	CAO 8	CAO 9	CAO10
M 0	1	0,8	0,8	1,0	0,7	1,2	1,1	1,2	0,9	1,2
M 1	0,8	1	0,9	1,1	0,8	1,1	1,2	1	0,8	1,3
M 2	0,8	1,1	0,8	1,2	0,9	1	1,3	1	1,1	1,3
M 3	1,2	1,2	1,1	1,2	0,8	1,1	1,2	1,3	1,6	2,7
M 4	1,5	1,2	1,1	1,2	0,9	1	1,3	1	1,4	3,7
M 5	1,5	1,2	1,0	1,3	0,9	1,1	1,3	1	1,3	4,4
M 6	1,7	1,2	1,0	1,3	0,9	1,1	1,3	1,1	1,3	4,2
M 7	1,7	1,3	1,3	1,5	0,9	1,1	1,7	1,3	1,3	4,9
M 8	1,8	1,3	1,3	1,7	1,3	1,4	1,4	1,5	1,4	5,3
M 9	2,3	1,3	1,3	1,8	1,4	1,5	1,4	1,5	1,5	5,7
M10	2,4	1,3	1,6	2,0	1,5	1,6	1,5	1,6	1,5	6,2

TABELA XVI: valores individuais da concentração sérica de uréia (mg/dl) ao longo dos momentos (M).

	CAO 1	CAO 2	CAO 3	CAO 4	CAO 5	CAO 6	CAO 7	CAO 8	CAO 9	CAO 10
M 0	52	41	55,9	42	29,35	44	35	26	47,5	50,5
M 1	41	58,9	51,8	55	35	30	38	33	33,4	57,7
M 2	44,59	60	55,9	71	52,61	32,79	39	37	37,6	47,7
M 3	44,51	60,9	50	59	62	30	35	54	66,7	61,1
M 4	67,38	60,8	72,4	58	64,6	32	34	27	60	60,0
M 5	61	63,9	60	63	65	40	42	35	61,7	63,3
M 6	70,5	62,18	60	65	51	44	47	47	73,4	85,5
M 7	80	60	62	68,13	57	38	67	54	62	88,8
M 8	67,36	54	58,96	71,18	54	53	58	63	61,7	91
M 9	81	52,36	58	70,13	67,38	56	60	65	64,5	97
M10	85,26	62,18	62	90,5	68	63	62	69	61	111,1

TABELA XVII Valores individuais da atividade enzima urinária gama-glutamilttransferase (GGT) (u/l) ao longo dos momentos (M): amostra da tarde.

	CAO1	CAO2	CAO3	CAO4	CAO5	CAO6	CAO7	CAO8	CAO9	CAO10
M 0	10,7	16,3	16,4	9,0	31,0	39,0	9,0	15,0	30,0	9,0
M 1	40,5	56,1	63,9	9,4	37,0	12,5	26,7	72,9	109,3	7,8
M 2	8,5	78,0	41,0	12,5	91,6	37,5	109,0	32,0	75,0	22,6
M 3	155,5	32,0	15,2	17,5	26,7	18,7	63,4	70,8	77,0	106,0
M 4	12,5	15,1	17,8	92,5	21,2	22,9	45,0	27,0	162,5	112,0
M 5	37,5	18,7	17,8	62,5	17,5	30,0	30,0	22,5	52,5	152,0
M 6	21,5	30,3	10,7	33,4	54,6	32,9	29,7	32,1	88,9	81,0
M 7	74,1	37,3	19,6	35,5	21,4	47,5	62,5	28,1	64,5	72,6
M 8	50,0	32,4	10,4	27,5	35,0	32,1	33,9	41,6	75,0	85,0
M 9	77,7	31,0	32,1	20,8	30,0	105,3	34,3	135,4	52,0	130,0
M10	30,8	42,5	31,7	15,0	32,1	58,0	134,3	42,5	70,0	160,0

TABELA XVIII Valores individuais da atividade enzima urinária gama-glutamilttransferase (GGT) (u/l) ao longo dos momentos (M): amostra da manhã.

	CAO1	CAO2	CAO3	CAO4	CAO5	CAO6	CAO7	CAO8	CAO9	CAO10
M 0	10,7	16,3	16,4	9,0	31,0	39,0	9,0	15,0	30,0	9,0
M 1	23,1	9,9	12,3	7,0	38,7	27,0	11,8	8,1	62,5	16,8
M 2	15,6	27,1	67,8	10,0	26,5	64,0	45,0	27,0	90,0	35,0
M 3	20,0	31,5	23,5	16,1	32,1	20,8	77,5	18,7	85,0	22,9
M 4	14,5	60,4	25,7	73,0	19,4	20,8	54,0	12,5	75,0	77,0
M 5	51,7	16,4	14,6	50,0	20,8	37,5	35,7	12,5	77,0	95,0
M 6	49,1	22,6	12,5	73,2	35,0	31,0	34,0	29,0	90,0	52,0
M 7	13,5	28,7	21,8	17,2	27,0	50,0	34,3	17,1	70,0	88,9
M 8	31,6	31,2	15,0	21,8	32,1	47,0	57,0	45,8	189,0	83,3
M 9	25,0	21,5	14,2	25,0	42,1	75,0	54,0	19,5	93,7	73,2
M10	31,2	95,0	20,0	23,0	37,0	77,0	44,6	33,4	64,5	90,0

TABELA XIX: Valores individuais da atividade enzima sérica gama-glutamilttransferase (GGT) (u/l) ao longo dos momentos (M).

	CAO1	CAO2	CAO3	CAO4	CAO5	CAO6	CAO7	CAO8	CAO9	CAO10
M 0	8,0	10,0	5.1	7,0	2,0	7,0	3,0	2,0	2,0	4,0
M 1	6.9	13,0	9.6	9,0	2,0	6,0	2,0	3,0	4.3	3,0
M 2	7.5	11,0	4.1	10,0	1,0	3,0	2,0	6,0	4.1	4,0
M 3	6.0	10,0	6.0	13,0	1,0	3,0	1,0	9,0	4.1	3,0
M 4	10,0	6.9	6.2	8,0	2,0	4,0	2,0	3,0	4.3	6,0
M 5	11.3	6.2	10,0	10,0	2,0	3,0	2,0	2,0	2,0	1,0
M 6	10.0	6.2	10,0	9,0	2,0	4,0	3,0	3,0	4,0	3,0
M 7	7.2	6.2	9.0	11,0	1,0	3,0	3,0	3,0	2,0	2,0
M 8	11.3	11,0	7.0	6,0	1,0	3,0	2,0	4,0	1,0	2,0
M 9	8.3	8.2	12,0	7,0	2,0	4,0	2,0	4,0	2,0	6,0
M10	8.0	7.2	9.0	9,0	2,0	3,0	2,0	3,0	2,0	4,0

TABELA XX: Valores individuais do pH sérico ao longo dos momentos (M).

	CÃO 1	CÃO 2	CÃO 3	CÃO 4	CÃO 5	CÃO 6	CÃO 7	CÃO 8	CÃO 9	CÃO10
M 0	7,41	7,45	7,40	7,36	7,37	7,38	7,38	7,38	7,41	7,41
M 1	7,41	7,42	7,39	7,35	7,37	7,38	7,43	7,39	7,43	7,48
M 2	7,39	7,42	7,42	7,31	7,32	7,39	7,41	7,37	7,43	7,39
M 3	7,41	7,44	7,42	7,33	7,37	7,39	7,48	7,43	7,42	7,41
M 4	7,41	7,46	7,43	7,38	7,40	7,38	7,43	7,43	7,41	7,39
M 5	7,43	7,41	7,41	7,35	7,37	7,36	7,44	7,45	7,43	7,39
M 6	7,38	7,42	7,39	7,36	7,39	7,37	7,41	7,36	7,42	7,37
M 7	7,39	7,45	7,42	7,43	7,38	7,35	7,45	7,37	7,43	7,36
M 8	7,39	7,4	7,40	7,46	7,37	7,42	7,43	7,39	7,52	7,37
M 9	7,36	7,44	7,41	7,34	7,38	7,38	7,41	7,38	7,43	7,38
M10	7,39	7,38	7,40	7,37	7,39	7,37	7,43	7,36	7,43	7,35

TABELA XXI: Valores de Normalidade*

Valores de Normalidade	Espécie : Canina
Creatinina:	0.5 – 1.5 mg/dl
Uréia:	21.4 – 59.9mg/dl
Sódio plasmático	141.1 – 152.3 mEq/dl
Potássio plasmático	4.37 – 5.65 mEq/dl
Gama-glutamilttransferase sérica	1.2 – 6.4 (U/l)
Gama-glutamilttransferase urinária	13 – 92 (U/l)
pH sangüíneo:	7.31 – 7.42

* Valores utilizados pelo Laboratório clínico da FMVZ – UNESP- Botucatu

: