

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

HENRIQUE JORDEM VENIAL

**AVALIAÇÃO DO PERFIL RENAL EM RATOS (*Rattus norvegicus*) TRATADOS
COM GLICOCORTICOIDES**

ALEGRE-ES

2013

HENRIQUE JORDEM VENIAL

**AVALIAÇÃO DO PERFIL RENAL EM RATOS (*Rattus norvegicus*) TRATADOS
COM GLICOCORTICOIDES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e terapêutica de enfermidades clínico-cirúrgicas.

Orientador(a): Profa. Dra. Lenir Cardoso Porfírio

ALEGRE-ES

2013

HENRIQUE JORDEM VENIAL

**AVALIAÇÃO DO PERFIL RENAL EM RATOS (*Rattus norvegicus*) TRATADOS
COM GLICOCORTICOIDES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e terapêutica de enfermidades clínico-cirúrgicas.

Aprovado em _____ de _____ de 2013.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profª. Drª. Lenir Cardoso Porfírio
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora

Profª. Drª. Karina Preising Aptekmann
Universidade Federal do Espírito Santo

Profª. Drª. Mariana Drummond Costa Ignacchiti
Universidade Federal do Espírito Santo

Aos meus pais, João Batista e Eliane, por estarem sempre ao meu lado, fazendo com que eu seguisse em frente e a minha esposa, Mariana por todo apoio nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela oportunidade da vida e pelas conquistas até aqui;

Aos meus pais e familiares que acreditaram e torceram sempre por mim, por estarem comigo nos momentos difíceis;

A minha esposa Mariana C. A. Venial pelo companheirismo, pelas sábias palavras em momentos de indecisão e angústia;

A professora orientadora Dr^a Lenir Cardoso Porfírio pela oportunidade de amadurecimento científico e orientação;

Ao médico veterinário Paulo Sérgio da Cruz Andrade Júnior, por todo apoio nas coletas das matérias para exame, pelos conselhos e ensinamentos;

A Dra. Karina Preising Aptekmann e a Dra. Mariana Drummond Costa Ignacchiti pela participação na banca de qualificação e de defesa do mestrado;

Ao biólogo e técnico responsável pelo laboratório de análises clínicas do HOVET-UFES Jorge Pinto da Silva Filho, por todo empenho e ajuda nas análises dos exames laboratoriais.

Aos funcionários (Vigias) do HOVET-UFES pelo apoio durante os testes com os ratos, sempre se preocupando em ajudar no andamento do projeto.

As amigas Médicas Veterinárias Dyeime e Mirleide pela ajuda na coleta de material e confecção dos exames.

Aos colegas do mestrado pela amizade, por estarem sempre presentes;

A Universidade Federal do Espírito Santo, pelo acolhimento;

A CAPES pelo concedimento da bolsa;

A todas as pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram para meu crescimento e me ajudaram nessa conquista, um muito obrigado.

“Suba o Primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada.
Apenas dê o primeiro passo”.

(Martin Luther King).

RESUMO

VENIAL, HENRIQUE JORDEM. **Avaliação do perfil renal em ratos (*Rattus norvegicus*) tratados com glicocorticoides**. 2013. 49p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2013.

Os glicocorticoides representam um grupo de fármacos utilizados para o tratamento de diversos sinais clínicos e enfermidades pela sua ação anti-inflamatória e imunossupressora. O uso prolongado pode induzir desequilíbrios hidroeletrolíticos devido à retenção de fluidos e alterações laboratoriais a nível renal. Objetiva-se com este trabalho avaliar a atividade enzimática da gama-glutamyltransferase (gGT), creatinina, proteína e relação proteína/creatinina urinária; ureia e creatinina sérica para comparar os tratamentos com glicocorticoides em ratos. Para isso, foram coletadas amostras de sangue e urina de 21 animais, *Rattus norvegicus* linhagem Wistar, sem alterações clínicas ou laboratoriais. Os animais foram divididos em 3 grupos de sete ratos, o grupo 1 (G1), grupo 2 (G2) e grupo 3 (G3). Todos os animais do grupo G1 receberam 50,0 mg/kg de succinato de hidrocortisona. Os animais do G2 receberam 2,0 mg/kg de metilprednisolona e os animais do G3 receberam 1,0 mg/kg de dexametasona, a cada 24h, por via intramuscular, durante 7 dias. O experimento foi dividido em dois momentos, sendo o momento inicial (M1) antes do uso dos fármacos e o momento 2 (M2) após o final de 7 dias. Para a avaliação clínico-laboratorial as amostras de sangue e urina dos animais foram coletadas nos dois momentos M1 e M2 para realização de exames hematológicos, bioquímicos e urinálise. O tratamento com glicocorticoides ocasionou aumento da creatinina sérica nos grupos tratados. Entretanto, não se pode afirmar que houve lesão renal nos ratos tratados, visto que os marcadores Pu/Cu, atividade enzimática da gGT urinária, urinálise e ureia sérica não sofreram alterações. Não há diferença entre os grupos de ratos tratados com os glicocorticoides de curta, média e longa duração em doses imunossupressoras, por via intramuscular, pelo período de 7 dias.

Palavras-chave: Rins, Hidrocortisona, Metilprednisolona, Dexametasona.

ABSTRACT

VENIAL, HENRIQUE JORDEM. **Evaluation of renal profile in rats (*Rattus norvegicus*) treated with glucocorticoids**. 2013. 49p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2013.

The glucocorticoids are a group of drugs used for the treatment of various diseases and clinical signs for its anti-inflammatory and immunosuppressive action. Prolonged use may induce electrolyte imbalances due to fluid retention and laboratory abnormalities in the kidney. The objective of this study was to evaluate the enzymatic activity of gamma-glutamyltransferase (GGT), creatinine, protein and protein/creatinine ratio in urine, urea and creatinine in the serum to compare treatments with glucocorticoids in rats. For this, were collected blood samples and urine samples from 21 animals, *Rattus norvegicus*, Wistar lineage, without clinical or laboratory changes. The animals were divided into three groups of seven rats, group 1 (G1), group 2 (G2) and group 3 (G3). All animals in the G1 received 50,0 mg/kg of hydrocortisone succinate. The animals of group 2 received 2,0 mg/kg methylprednisolone and G3 animals received 1,0 mg/kg of dexamethasone, every 24 hours, intramuscularly, for 7 days. The experiment was divided into two moments, with the initial moment (M1) before using of drugs and moment 2 (M2) after the end of seven days. For the clinical and laboratory evaluation, samples of blood and urine of the animals were collected in two moments M1 and M2 to perform hematological, biochemical and urinalysis. The treatment with glucocorticoids caused an increase in serum creatinine in the treated groups. However, one can not say that there was renal injury in rats treated since the markers Pu/Cu, enzymatic activity of urinary gGT, urinalysis and serum urea remained unchanged. There is no difference between the groups of rats treated with glucocorticoids of short, medium and long term in immunosuppressive doses, intramuscularly, for a period of 7 days.

Keywords: Kidneys, Hydrocortisone, Methylprednisolone, Dexamethasone.

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
Tabela 1-	Média \pm D.P. dos parâmetros hematológicos e plaquetas de ratos hígidos antes de serem submetidos a tratamento com succinato de hidrocortisona (G1), metilprednisolona (G2) e dexametasona (G3), pelo período de sete dias.....	49
Tabela 2-	Valores médios \pm D.P. de ureia e creatinina sérica de ratos antes e após tratamento com succinato de hidrocortisona (G1), metilprednisolona (G2) e dexametasona (G3), pelo período de sete dias.....	40
Tabela 3-	Valores médios \pm D.P. da atividade da enzima gama glutamiltransferase, creatinina e proteína urinária, e relação (Pu/Cu) de ratos antes (M1) e após (M2) tratamento com succinato de hidrocortisona (G1), metilprednisolona (G2) e dexametasona (G3), pelo período de sete dias.....	41
Tabela 4-	Valores obtidos na urinálise de ratos antes e após tratamento com succinato de hidrocortisona (G1), metilprednisolona (G2) e dexametasona (G3) pelo período de sete dias.....	43
Tabela 5-	Valores médios \pm D.P. da ureia sérica, creatinina sérica e urinária, atividade da gGT urinária, proteína urinária e relação proteína/creatinina urinária (Pu/Cu) após tratamento com succinato de hidrocortisona (G1), metilprednisolona (G2) e dexametasona (G3), pelo período de sete dias.....	44

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Glicocorticoides	14
2.1.1 Parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos.....	15
2.1.2 Mecanismos de Ação.....	16
2.1.3 Efeitos adversos dos glicocorticoides.....	18
2.2 Insuficiência Renal	19
2.2.1 Gama-glutamiltransferase (gGT) urinária.....	20
2.2.2 Azotemia.....	21
2.2.3 Proteinúria.....	23
2.2.4 Relação Proteína/Creatinina urinária (Pu/Cu).....	24
2.2.5 Urinálise.....	25
3 REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO 1 Avaliação do perfil renal em ratos (<i>Rattus norvegicus</i>) tratados com glicocorticoides	31
RESUMO	32
ABSTRACT	33
4 INTRODUÇÃO	34
5 MATERIAL E MÉTODOS	36
5.1 Seleção do Animais.....	36
5.2 Formação dos Grupos.....	36
5.3 Coleta de Sangue e Urina.....	37
5.4 Hemograma.....	37
5.5 Bioquímica Sérica e Urinária.....	37
5.6 Urinálise.....	38
5.7 Relação Proteína/Creatinina urinária (Pu/Cu).....	39
5.8 Eutanásia dos animais.....	39
5.9 Análise estatística.....	39
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
7 CONCLUSÃO	45
8 REFERÊNCIAS	46
ANEXO	49

1. INTRODUÇÃO

Desde sua introdução na prática clínica, os glicocorticoides ou corticosteroides são amplamente utilizados no tratamento de grande variedade de doenças sendo alguns dos mais potentes agentes anti-inflamatórios conhecidos. Seu uso reduziu consideravelmente a morbimortalidade de animais portadores de enfermidades graves, como doenças autoimunes, processos alérgicos, insuficiência adrenal, hiperplasia adrenal congênita, entre outras (HOCHBERG, PACAK, CHROUSOS, 2003).

No entanto, a utilização prolongada de glicocorticoide pode desencadear desordem da adrenal, e resultar no hiperadrenocorticismos iatrogênico (NELSON e COUTO, 2006). Os corticosteroides também podem induzir desequilíbrios hidroeletrólíticos por retenção de fluido causado pelo seu efeito mineralocorticoide (SCHERK; CENTER, 2005; ANDRADE, 2002; MACDONALD, 2004; COHN, 2006; PLOYNGAM et al., 2006).

Os corticosteroides são sintetizados pelo córtex das glândulas adrenais e classificados em: glicocorticoides, mineralocorticoides e androgênios. Os glicocorticoides atuam no metabolismo dos carboidratos e provocam acréscimo das reservas de glicogênio. No metabolismo proteico aumentam o catabolismo e inibem o anabolismo, enquanto no metabolismo lipídico aumentam o catabolismo (SPINOSA et al., 2002).

Os glicocorticoides podem aumentar a pressão sanguínea por meio do aumento da concentração de sódio-potássio adenosina trifosfato na membrana celular, podendo aumentar a concentração de sódio extracelular e conseqüentemente expandir o volume plasmático (ORTEGA et al., 1996; BROWN, 2005). Além disso, os glicocorticoides induzem a produção hepática de angiotensinogênio, resultando em uma resposta exagerada do sistema renina-angiotensina-aldosterona (DUKES, 1992; ACIERNO; LABATO, 2004).

A elevação da pressão arterial renal pode provocar uma degeneração tubular e fibrose intersticial, enquanto a hipertensão glomerular resulta em glomeruloesclerose, atrofia glomerular e glomerulite proliferativa. Juntas, essas

mudanças estão associadas com hiperfiltração glomerular e progressão dos danos tubulares e glomerulares. O resultado final é a piora da hipertensão e, eventualmente, falência renal (ACIERNO; LABATO, 2004). Os corticoides podem induzir a hipertensão glomerular pelo aumento do fluxo sanguíneo glomerular, dilatação das arteríolas renais e aumento da taxa de filtração glomerular dos néfrons (ORTEGA et al., 1996).

O método rotineiramente usado para avaliar a função renal é a mensuração da concentração plasmática de substâncias normalmente excretadas pelos rins. A avaliação dos níveis de ureia e creatinina são os testes mais comumente utilizados na rotina. Entretanto, a azotemia de origem renal só ocorre quando mais de 75% do parênquima renal é perdido (SANTIN et al., 2006).

Dentre outros achados laboratoriais que também auxiliam na caracterização da disfunção renal, podemos citar a proteinúria moderada a marcante, a qual é detectada na urina por quantificação e/ou por fita reagente de imersão (GRECO et al., 1985). A relação de proteína/creatinina (RPC) na urina é um teste indicado para avaliação de lesão aos glomérulos quando ainda não há evidências clínicas ou até mesmo laboratoriais de patologia no sistema urinário (LANIS et al., 2008).

A enzimologia clínica é de grande importância diagnóstica no que se refere às enzimas presentes no sangue e na urina (WESTHUYZEN et al., 2003). As enzimas urinárias são utilizadas para teste de detecção precoce de lesão renal. Dentre essas, a gama glutamil transferase (gGT) urinária é a mais facilmente testada (RAMBABU; PITTABIRAMAN, 1982; SODRÉ et al., 2007).

Objetiva-se com este trabalho avaliar a atividade enzimática da gama-glutamiltransferase (gGT), creatinina, proteína e relação proteína/creatinina urinária; ureia e creatinina sérica para comparar os tratamentos com glicocorticoides em ratos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Glicocorticoides

Os glicocorticoides ou corticosteroides são esteróides lipofílicos derivados do colesterol, produzidos endogenamente nas glândulas suprarrenais, ou adrenais, possuindo inúmeros efeitos benéficos atuando sobre o metabolismo e homeostasia. Seus representantes endógenos são o cortisol e a cortiscoteronona (LONGUI, 2007).

Nas décadas de 1930 e 1940 foram desenvolvidos estudos que permitiram reconhecer os efeitos dos hormônios adrenocorticais sobre o equilíbrio de eletrólitos (mineralocorticoides) e sobre o metabolismo dos carboidratos (glicocorticoides) (GUYTON, HALL, 2006; SCHIMMER, PARKER, 2006).

Em 1946, o cortisol foi sintetizado e, em 1948, utilizado pela primeira vez por Hench em paciente com artrite reumatoide. Logo a seguir, os efeitos colaterais desfavoráveis foram reconhecidos, os quais adicionaram limites ao uso terapêutico dos glicocorticoides. Na década de 1950, as modificações da estrutura do cortisol resultaram em novos fármacos, como a prednisona e a prednisolona. Assim, as subsequentes modificações estruturais dos esteróides sintéticos ampliaram a duração e a potência do efeito glicocorticóide, bem como propiciaram diferentes afinidades e tempo de ligação ao receptor glicocorticóide (LONGUI, 2007).

Os corticosteroides são classificados em: glicocorticoides, produzidos pela zona fasciculada da suprarrenal, os mineralocorticoides representados pela aldosterona, produzidos pela zona glomerulosa da suprarrenal, e os androgênios produzidos pela zona reticulosa. Todos participam ativamente no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, e os mineralocorticoides (aldosterona), regulam o equilíbrio hídrico e eletrolítico (SCHIMMER, PARKER, 2006).

A secreção do cortisol endógeno no organismo está sob o controle da corticotrofina ou hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), secretado pela hipófise anterior, que, por sua vez, é regulado por um hormônio hipotalâmico, o fator

liberador de corticotrofina (CRH) (RHEN, CIDLOWSKI, 2005). Ambos, ACTH e CRH, são controlados pelo cortisol por meio do mecanismo de retroalimentação, ou seja, quanto maior a concentração plasmática do cortisol, menor será a liberação de ACTH e CRH, e quanto menores os níveis séricos de cortisol, maior será a secreção do ACTH e CRH (DAMIANI et al., 2001).

2.1.1 Parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos

Os glicocorticoides podem ser classificados de acordo com sua meia-vida, sua potência e duração de ação. A caracterização de duração de ação, como curta, intermediária e longa, tem como base a duração da supressão do ACTH após dose única, com atividade anti-inflamatória equivalente a 50 mg de prednisona. São considerados glicocorticoides de ação curta a cortisona e a hidrocortisona, pois suprimem o ACTH por 8 a 12 horas; glicocorticoides de ação intermediária são a prednisona, a prednisolona, a metilprednisolona e a triancinolona, estas suprimem o ACTH por 12 a 36 horas; e os glicocorticoides de ação longa, representados pela dexametasona e betametasona, que promovem a supressão do ACTH por 36 a 72 horas. A potência dos glicocorticoides é também avaliada pela sua afinidade aos receptores citoplasmáticos. No Quadro 1 podem ser observadas características farmacológicas dos principais glicocorticoides utilizados na prática clínica (JACOBS, BIJLSMA, 2005; FARIA, LONGUI, 2006).

Quando a terapia com glicocorticoide é interrompida abruptamente, o eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA) não responde eficientemente à deficiência do hormônio corticotrófico (ACTH) podendo desencadear o hipoadrenocorticism. O tempo necessário para normalizar os níveis de glicocorticoide no sangue depende do grau de atrofia dos componentes anatômicos do eixo HPA. Animais que tenham recebido tratamento por muitos meses, com altas doses dessas substâncias, podem levar de seis a nove meses para restaurar a função normal da adrenal (PINEDA, 2003). Lien et al. (2006) reportam que a retirada gradual dos corticosteroides é a forma mais recomendada para animais, o que pode minimizar os efeitos adversos.

Quadro 1- Características farmacológicas dos principais corticoides em comparação com a hidrocortisona (cortisol).

Glicocorticoides			Potência Relativa	
	Meia vida plasmática (minutos)	Meia vida biológica (horas)	Anti-inflamatória	Mineralo-corticoide
Hidrocortisona	80-120	8 -12	1	1
Prednisona	200 – 210	12 – 36	3,5 – 4,0	0.8
Prednisolona	120 – 300	12 – 36	4,0	0.8
Deflazacort	120	24 – 36	2,5 – 3,5	0.25
Metilprednisolona	200	12 – 36	5,0	0.05
Triancinolona	200	12 – 36	5,0	0
Dexametasona	300	36 - 72	30	0
Betametasona	300	36 - 72	30	0

Fonte: JACOBS; BIJLSMA, (2005)

2.1.2 Mecanismos de ação

Em virtude da sua lipossolubilidade, os glicocorticoides são capazes de atravessar a membrana celular por difusão passiva e se ligarem aos receptores citoplasmáticos, migrando para o núcleo e modificando sua expressão gênica (ADCOCK; ITO, 2000).

São rapidamente absorvidos pelo trato gastrointestinal, membrana mucosa e pele. Após alcançar a corrente sanguínea, o glicocorticoide se liga a uma proteína plasmática específica chamada Globulina Ligadora de Corticosteroides (CBG), e pelo processo de biotransformação hepático a maioria dos compostos sofre inativação, com exceção da cortisona e da prednisona, que passam a se tornar ativas após a passagem pelo fígado (JACOBS; BIJLSMA, 2005).

Os glicocorticoides suprimem os processos inflamatórios por meio de diversos mecanismos. Eles se ligam a receptores glicocorticoides (GR) específicos no citoplasma da célula para formar complexos hormônios-receptores que, eventualmente, se deslocam para o núcleo da célula. No núcleo esses complexos se ligam a sequências de DNA e alteram a expressão de genes. Os complexos hormônio-receptor podem induzir a transcrição de genes envolvidos na resposta inflamatória (KIM et al. 2004).

A ação anti-inflamatória dos glicocorticoides deve-se, em grande parte, à inibição da transcrição do gene da enzima cicloxigenase-2 (COX-2) e à indução da proteína lipocortina, inibidora da enzima fosfolipase A₂ (ANDRADE, 2002; KIM et al., 2004; RANG et al., 2007). Além disso, reduzem a produção de citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF e IL-1 (KIM et al. 2004).

As cicloxigenases são enzimas essenciais para a síntese de prostaglandinas a partir da liberação de ácido araquidônico (AA) pelas fosfolipases da membrana celular. A oxidação e a redução subsequente do AA são responsáveis pela produção, respectivamente, de endoperoxidase (PGG₂) e hidroxendoperoxidase (PGH₂). A PGH₂ é transformada por meio de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos em prostanóides primários, prostaglandina E₂ (PGE₂), prostaglandina F₂α (PGF₂α), prostaglandina D₂ (PGD₂), tromboxano B₂ (TXB₂), tromboxano A₂ (TXA₂) e prostaciclina (PENILDON, 2000).

A síntese de prostanóides ocorre de modo gradual, em etapas, por meio de um complexo de enzimas microssômicas, sendo que a primeira enzima dessa via sintética é a prostaglandina G/H endoperoxido sintase (cicloxigenase), em duas isoformas distintas. A cicloxigenase 1 (COX-1) é expressa de forma constitutiva na maioria das células, por outro lado, a COX-2 tem sua regulação incrementada por citocinas. A COX-2 é a principal fonte dos prostanóides formados na inflamação e no câncer (BRUNTON et al., 2007).

De acordo com Penildon (2000), é provável que a COX-2 exerça algum papel na fisiologia renal, de forma que a inibição dessa enzima poderá acarretar disfunção orgânica dos rins.

2.1.3 Efeitos adversos dos glicocorticoides

Dentre os efeitos adversos sistêmicos da corticoterapia crônica, os mais relevantes são indução de *diabetes mellitus*, hipertensão, osteoporose, miopatias, predisposição a infecções, doença péptica, manifestações psicológicas, alterações oculares, ganho de peso, síndrome de Cushing e sintomas de deficiência adrenal (na retirada rápida após uso prolongado) (FREITAS; SOUZA, 2007).

Os glicocorticoides podem aumentar a pressão sanguínea por meio do aumento da concentração de sódio-potássio adenosina trifosfato na membrana celular, podendo aumentar a concentração de sódio extracelular e conseqüentemente expandir o volume plasmático. O excesso de cortisol, também age como um mineralocorticoide no rim, levando a retenção de sódio e água e, conseqüentemente, aumento do volume de sangue e do débito cardíaco (ORTEGA et al, 1996; BROWN, 2005). Também aumenta a sensibilidade do miocárdio às catecolaminas endógenas, e eleva a resposta vascular aos vasopressores endógenos como a angiotensina II e a norepinefrina (ORTEGA et al, 1996). Além disso, os glicocorticoides induzem a produção hepática de angiotensinogênio, resultando em uma resposta exagerada do sistema renina-angiotensina-aldosterona (DUKES, 1992; ACIERNO; LABATO, 2004). Os animais com elevação dos níveis de glicocorticoides na circulação também sofrem com o excesso de produção de renina, que aumenta a resistência vascular periférica, contribuindo para o desenvolvimento da hipertensão (BROWN, 2005).

A elevação da pressão arterial renal pode provocar uma degeneração tubular e fibrose intersticial, enquanto a hipertensão glomerular resulta em glomeruloesclerose, atrofia glomerular e glomerulite proliferativa. Juntas, essas mudanças estão associadas com hiperfiltração glomerular e progressão dos danos tubulares e glomerulares. O resultado final é a piora da hipertensão e, eventualmente, insuficiência renal (ACIERNO; LABATO, 2004).

2.2 Insuficiência Renal

O rim é um órgão de fundamental importância com um conjunto diversificado de funções para manter a homeostasia corpórea. Nos mamíferos, os dois rins recebem aproximadamente 25% do débito cardíaco. O rim é responsável em filtrar o sangue não só para excretar os resíduos metabólicos, como também, para recuperar as substâncias filtradas requeridas pelo organismo, incluindo proteínas de baixo peso molecular, água e eletrólitos (SINGRI; AHYA; LEVIN, 2003).

Doença renal é definida como a ocorrência de lesões morfológicas renais de qualquer extensão ou severidade ou qualquer anormalidade bioquímica relacionada à função renal (GREGORY, 2003), ou seja, indica a existência de lesão renal sem qualificar a causa, a gravidade, a distribuição ou estágio da função renal (NELSON; COUTO, 2001). Devido à extensa reserva funcional do rim, uma doença renal severa pode estar presente mesmo na ausência de sinais clínicos ou alterações laboratoriais que indiquem insuficiência renal (GREGORY, 2003). A reserva funcional do rim pode ser considerada como um percentual dos néfrons não necessários para manter a função renal e esta reserva pode variar de um animal para outro, mas é maior do que 50% em animais sadios (NELSON; COUTO, 2001).

A insuficiência renal começa quando a reserva funcional é perdida. É uma condição de decréscimo da função renal; refere-se a um nível de função do órgão e não a doença especificamente (NELSON; COUTO, 2001). Está presente quando há sinais clínicos ou alterações laboratoriais causados pela redução da função renal, o que só ocorre após a perda considerável de néfrons (GREGORY, 2003), isto é, aproximadamente 75% dos néfrons de ambos os rins (NELSON; COUTO, 2001). O resultado da insuficiência renal é a intoxicação denominada uremia (CONFER; PANCIERA, 1998).

Para avaliar a função renal, o método frequentemente utilizado é a mensuração da concentração plasmática de substâncias normalmente excretadas pelos rins. A avaliação dos níveis de ureia e creatinina são os biomarcadores mais comumente utilizados na rotina. Entretanto, a azotemia de origem renal só ocorre quando 75% do parênquima renal é afetado, dessa forma, o conhecimento e a

utilização de outros métodos que permitam o reconhecimento mais precoce da patologia renal (SANTIN et al., 2006) como a atividade enzimática da gGT (HENNEMANN et al., 1997), tornam-se muito importantes para um melhor prognóstico da insuficiência renal (SANTIN et al., 2006).

2.2.1 Gama-glutamyltransferase (gGT) urinária

A enzimologia clínica é de grande importância diagnóstica no que se refere às enzimas presentes no sangue e na urina (WESTHUYZEN et al., 2003). Os estudos de enzimologia iniciaram-se em 1901 com Vitor Henri e foram intensificados a partir de 1910 com Leonor Michaelis. Na década de 1960 foi iniciado o uso da enzimologia no diagnóstico na medicina humana e apenas na década de 1980 seu uso foi ampliado no diagnóstico na medicina veterinária (RODRIGUES, 2005).

As enzimas urinárias são utilizadas para teste de detecção precoce de lesão renal. Dentre estas, a gama-glutamyltransferase (gGT) urinária é a mais facilmente testada (SODRÉ et al., 2007). Elevações na atividade enzimática urinária ocorrem antes mesmo de mudanças na depuração de creatinina, na concentração sérica de ureia e creatinina ou na fração de eletrólitos eliminada pela urina (MEYTS et al., 1988; MELCHERT et al., 2007).

Os maiores avanços na identificação de nefrotoxicidade são as avaliações das enzimas. Devido ao tamanho molecular, enzimas séricas tendem a não passar para a urina na ausência de lesão glomerular. Já as enzimas liberadas pelos rins tendem a não passar para o soro, mas sim para a urina (LOEB, 1998).

O prognóstico e a sobrevivência do animal estão diretamente relacionados ao correto diagnóstico da doença e o conhecimento das alterações laboratoriais relacionadas à diminuição da função renal e ao diagnóstico da fase inicial da insuficiência renal (MELCHERT et al., 2007).

A gGT é uma enzima microsomal e de membrana, de vasta distribuição nos tecidos envolvidos em processos secretórios e absorptivos, particularmente no canal biliar e na borda em escova dos túbulos renais (TASCI et al., 2005). É composta por

uma subunidade pesada, com 62-68 KDa, e por uma leve, com 22 KDa (YU et al., 2007), e está presente no pâncreas, fígado, baço, coração, cérebro, vesículas seminais e rins (TATE; ROSS, 1977; FRIELLE; CURTHOYS, 1982; CABRERA-ABREU; GREEN, 2002; ELIAS et al., 2004), além de ser essencial na manutenção do balanço homeostático, no que diz respeito ao estresse oxidativo (YU et al., 2007).

A gGT urinária reflete a lesão na borda em escova dos túbulos proximais com perda da estrutura da microvilosidade (KANEKO et al., 2008; MENEZES et al., 2010; SANTIN et al., 2006) e pode ser encontrada na urina em condições lesivas, antes mesmo de outros elementos (RAMBABU, PATTABIRAMAN, 1982), além de persistir por maior tempo (YU et al., 2007).

De acordo com Hennemann et al., (1997), a mensuração da atividade da gama-glutamiltransferase na urina é um sensível indicador de lesão tubular renal, possibilitando o diagnóstico precoce, juntamente com a urinálise, em cães.

2.2.2 Azotemia

A azotemia ocorre quando há excesso de componentes nitrogenados no sangue (NELSON; COUTO, 2001; STOCKHAM; SCOTT, 2003; HOSTETTER; ANDREASEN, 2004; FINCO, 1995), que são rotineiramente detectados pelo aumento de ureia e creatinina sérica (STOCKHAM; SCOTT, 2003). As causas de azotemia podem ser pré-renal, renal ou pós-renal. A uremia ocorre quando os sinais da insuficiência renal estão presentes (NELSON; COUTO, 2001; STOCKHAM; SCOTT, 2003; HOSTETTER; ANDREASEN, 2004). Na ausência de sinais clínicos o animal é azotêmico, não urêmico (NELSON; COUTO, 2001). Os sinais clínicos associados à uremia incluem anorexia, vômito, diarreia, hemorragia gastrointestinal, estomatites ulcerativas, letargia, tremores musculares, convulsões, coma, (NELSON; COUTO, 2001) hipertensão, perda de peso (HOSTETTER; ANDREASEN, 2004) e hálito com odor amoniacal (STOCKHAM; SCOTT, 2003).

Na azotemia pré-renal a causa inicial do aumento da excreção de uréia ou creatinina envolve um processo que ocorre antes dos rins (STOCKHAM; SCOTT, 2003). Qualquer processo que diminua o fluxo de plasma renal (como desidratação

ou diminuição do volume sanguíneo) vai causar diminuição da taxa de filtração glomerular e, portanto diminuir a depuração de uréia e creatinina. A hipovolemia causa no túbulo contorcido proximal aumento da reabsorção de Na^+ e água e reabsorção passiva de ureia, pois o fluxo mais lento permite maior tempo para reabsorção. A hipovolemia também estimula a liberação de hormônio antidiurético (ADH) o qual causa aumento da reabsorção de ureia nos túbulos coletores medulares. Se a diminuição do fluxo de plasma renal for severa e persistente permite o desenvolvimento de hipóxia renal, dano renal agudo e insuficiência renal aguda (IRA). Nesses animais a azotemia pode estar tendo origem pré-renal e renal (STOCKHAM; SCOTT, 2003).

A azotemia de origem renal ocorre quando há qualquer doença renal com dano glomerular suficiente para causar grande diminuição da taxa de filtração glomerular. Uma doença renal (aguda ou crônica) que resulte em perda de pelo menos 65% a 75% da capacidade funcional dos néfrons causa redução da taxa de filtração glomerular, o que provoca inadequada excreção de uréia e creatinina e, conseqüentemente, há aumento desses metabólicos no plasma. As doenças renais que podem causar a azotemia incluem doenças inflamatórias renais como glomerulonefrite, pielonefrite, nefrite túbulo-intersticial, amiloidose, nefrose tóxica (hipercalcemia, etileno glicol, mioglobina, gentamicina, fenilbutazona), isquemia ou hipóxia renal, hipo ou aplasia congênita, hidronefrose e neoplasia (STOCKHAM; SCOTT, 2003).

Na azotemia pós-renal a causa inicial está distal aos néfrons. Uma obstrução no trato urinário (urolitíase, plugs uretrais em gatos, neoplasia, doença prostática) causa a liberação de substâncias vasoativas (prostaglandinas, angiotensinas) que causam a constrição das arteríolas glomerulares, isso reduz o fluxo plasmático renal, a taxa de filtração glomerular e conseqüentemente há diminuição da depuração de uréia e creatinina. A azotemia pós-renal também ocorre quando há a liberação da urina para a cavidade abdominal (trauma, neoplasia), pois a uréia e creatinina da urina são absorvidas passivamente pelo endotélio peritoneal e chegam ao plasma. A ureia na cavidade peritoneal se equilibra com a do plasma mais rapidamente que a creatinina. Se a excreção de ureia e creatinina não compensar a excreção urinária diminuída, também ocorrerá azotemia (STOCKHAM; SCOTT, 2003).

A ureia é um dos índices que avaliam a filtração glomerular, pois a maior parte da ureia é excretada na urina através da filtração nos glomérulos. Assim, a redução na filtração tem como consequência o aumento da concentração de ureia. Entretanto, esta concentração é afetada tanto pela taxa de produção de ureia no fígado como pela excreção da mesma pelas vias renais e extrarrenais (FETTMAN; REBAR, 2004).

O aumento de creatinina no soro ou plasma geralmente está associado a processo patológico relacionado à diminuição da taxa de filtração glomerular (pré-renal, renal ou pós-renal). O aumento pode acontecer também por aumento na produção e liberação por miócitos lesionados (STOCKHAM; SCOTT, 2003).

2.2.3 Proteinúria

Em circunstâncias normais, uma pequena parte da albumina do plasma e praticamente nenhuma globulina plasmática, passam pela barreira de filtração glomerular e chegam ao espaço de Bowman e túbulos renais. As proteínas filtradas são quase totalmente reabsorvidas no túbulo contorcido proximal e apenas pequena quantidade é observada na urina. A fita reagente de urinálise detecta níveis de albumina acima de 30mg/dl (SENIOR, 2005).

A lesão de células tubulares induz o escape de enzimas e microproteínas para a luz tubular, e a magnitude da elevação dos biomarcadores na urina vai depender da natureza do insulto e da gravidade da lesão das células tubulares. Outro mecanismo para o aparecimento desses biomarcadores na urina é a diminuição da reabsorção de proteínas de baixo peso molecular normalmente filtradas no glomérulo e reabsorvidas totalmente pelas células tubulares proximais (GLEADHILL; MICHELL, 1996).

A excreção de proteína pode ser um importante indicador de inadequada função renal, apesar de haver causas não renais. A proteinúria grave geralmente indica aumento da permeabilidade glomerular, mas também pode ocorrer quando há presença de sangue ou exsudatos de qualquer parte do trato urinário (GLEADHILL;

MICHELL, 1996). Entre os achados laboratoriais que também auxiliam na caracterização da disfunção renal está a proteinúria moderada a marcante, detectada na urina (GRECO et al., 1985).

2.2.4 Relação Proteína/Creatinina Urinária (Pu/Cu)

A relação (Pu/Cu) é um teste indicado para avaliação de lesão aos glomérulos quando ainda não há evidências clínicas ou até mesmo laboratoriais de patologia no sistema urinário. A creatinina e a ureia somente se elevam quando 75% ou mais dos néfrons foram lesados, enquanto a relação (Pu/Cu) aumenta a partir de 25% de comprometimento ao tecido renal. Portanto, este teste pode ser utilizado como indicativo de lesão aos rins em casos iniciais, o que melhora o prognóstico do paciente (LANIS et al., 2008).

Moléculas de proteína são significativamente grandes para ultrapassar os glomérulos, no entanto moléculas de creatinina são bem menores, passam facilmente e são liberadas em grande quantidade na urina. Fisiologicamente é esperado que a creatinina esteja elevada na urina, mas a proteína não. Quando a quantidade de proteínas na urina encontra-se persistentemente elevada, esta condição sugere lesão glomerular. Assim, quanto mais proteína há na urina, maior a RPC urinária e maior o índice de gravidade na lesão aos glomérulos (HEINE, 2008).

Algumas drogas podem interferir na proteína urinária, tais como acetaminofen, aminofilina, aspirina, anfotericina B, ampicilina, bacitracina, captopril, carbamazepina, cefaloridina, cefalotina, corticosteróides, ciclosporina, gentamicina, ferro, kanamicina, rifampicina, tobramicina, tetraciclina, vancomicina, vitamina K (ROSENFELD, 2009).

Portanto, quando se descarta as causas de proteinúria não-renal e estão ausentes hemorragias ou inflamações, a relação (Pu/Cu) pode ser interpretada da seguinte forma: Pu/Cu < 0,5 é considerada normal; Pu/Cu entre 0,5 e 1,0 é questionável para proteinúria renal; Pu/Cu > 1,0 é indicativa de proteinúria renal (TRIPATHI, 2011).

2.2.5 Urinálise

A urinálise é um teste laboratorial simples, de baixo custo, e é amplamente utilizado. Este exame é responsável pela detecção de processos patológicos intrínsecos ao sistema urinário, e também auxiliam no acompanhamento ou diagnóstico de patologias sistêmicas, como anomalias endócrinas ou metabólicas. Através do exame de urina pode ser acompanhada a progressão de uma patologia, a eficácia do tratamento e constatar a cura sem causar nenhum estresse ao paciente (DALMOLIN, 2011).

Existem atualmente três tipos importantes de urinálise: a fita reagente (Dipstick) que proporciona múltiplas informações físico-químicas da urina, a urinálise básica que utiliza o exame microscópico do sedimento urinário junto com a fita reagente e o exame citopatológico especializado do sedimento urinário (HENRY, 2008).

Esta análise pode auxiliar o clínico a visualizar problemas quando o paciente for assintomático, assim preconizando o diagnóstico e proporcionando uma melhor sobrevida ao paciente (DALMOLIN, 2011). Uma avaliação urinária consiste em dois componentes importantes, determinações físico-químicas e exame microscópico com o objetivo de evidenciar presença dos elementos figurados da urina, como hemácias, piócitos, cilindros, cristais etc. Na urinálise de rotina observam-se quatro componentes: avaliação da amostra, exame físico, triagem bioquímica e exame do sedimento. No exame pré-analítico é observado a devida identificação da amostra e do paciente, se tem condições para o exame solicitado, conservação adequada e sinais de contaminação. No exame analítico, observa-se o aspecto, cor, densidade e volume. A triagem bioquímica avalia o pH, proteína, glicose, cetonas, hemoglobina, bilirrubina, presença de nitrito e leucócitos na urina. A avaliação do sedimento deve ser feita com microscopia de luz e os resultados devem ser interpretados juntamente com o exame químico e físico (HENRY, 2008).

3. REFERÊNCIAS

- ACIERNO, M.J.; LABATO, M.A. Hypertension in dogs and cats. **Compendium on continuing education for practicing veterinarians**, v.26, n.5, may, 2004. p.336-345.
- ADCOCK I.M.; ITO K. Molecular mechanisms of corticosteroid actions. *Monaldi Arch Chest Dis*, 2000.
- ANDRADE, M.M.J. Anti-inflamatórios esteroidais. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARD, M. M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 918 p.
- BROWN, S. A. Clinical assessment of renal function: new methods, old ideas. In: 28th World Small Animal Veterinary Association, Tailândia, 2005.
- BRUNTON, L.L.; LOFO, J.S.; PARKER, K.L. Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 11^a ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2007. 1821 p.
- CABRERA-ABREU, J.C.; GREEN, A. γ - Glutamyltransferase: value of its measurement in paediatrics. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 39, p. 22-25, 2002.
- COHN, L.A. Glucocorticoid therapy. In: ETTINGER SJ, F.E. (Ed.). Textbook of veterinary internal medicine. St. Louis: Elsevier Saunders, p.503-508, 2006.
- CONFER, A. W.; PANCIERA, R. J. Sistema urinário. In: CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. Patologia veterinária especial. Porto Alegre: ArtMed, 1998. cap.5. p. 230-232.
- DALMOLIN, M.L. A urinálise no diagnóstico de doenças renais. 2011. Disponível em: www.ufrgs.br.
- DAMIANI, D.; KUPERMAN, H.; DICHTCHEKENIAN, V; MANNA, T.D.; SETIAN, N. Corticoterapia e suas repercussões: a relação custo-benefício. **Pediatria**, v. 1, p. 71-82, 2001.
- DUKES, J. Hypertension: A review of the mechanisms, manifestations and management. **Journal of Small Animal Practice**, v.33, n.3, March, 1992. p.119-129.
- ELIAS, F.; LUCAS, S.R.R.; HAGIWARA, M.K.; KOGIKA, M.M.; MIRANDOLA, R.M.S. Fragilidade osmótica eritrocitária em gatos acometidos por hepatopatias e gatos com insuficiência renal. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 413-418, 2004.

FARIA C.D.; LONGUI C.A. Esteroidogênese adrenal. In: Monte O, Longui CA, Calliari E, Kochi C, editores. *Endocrinologia para o pediatra*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2006. p. 253-68.

FETTMAN, M.J.; REBAR, A. Laboratory evaluation of renal function. In: THRALL, M. A.; BAKER, D. C.; CAMPBELL, R. W.; DENICOLA, D.; FETTMAN, M. J.; LASSEN, E. D.; REBAR, A.; WEISER, G. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Lippincott Williams & Wilkins: Filadelfia, 2004. cap.21. p.301-314.

FINCO, D. R. Evaluation of renal functions. In: OSBORNE, C. A.; FINCO, D. R. **Canine and feline nephrology and urology**. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins, 1995. cap.10. p.216-228.

FREITAS, T. H. P.; SOUZA, D. A. F. Corticosteroides sistêmicos na prática dermatológica. Parte I – principais efeitos colaterais. **Anais Brasileiros de dermatologia**. São Paulo, v. 82, n. 1, p. 63-70. 2007.

FRIELLE, T.; CURTHOYS, N.P. Characterization of the amphipatic structure of γ -glutamyltranspeptidase F13. **Biophysical Journal**, v. 37, p. 193-195, 1982.

GLEADHILL, A.; MICHELL, A. R. Clinical measurement of renal function. In: BAINBRIDGE, J.; ELLIOTT, J. **Manual of canine and feline nephology and urology**. Iowa: Iowa State Press, 1996. cap. 9. p.107-115.

GRECO, D.S.; TURNWALD, G.H.; ADAMS, R. Urinary gama glutamil transpeptidase activity in dogs with gentamicin-induced nephrotoxicity. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 11, p. 2332-2335, 1985.

GREGORY, C.R. Urinary system. In: LATIMER, K.S.; MAHAFFEY, E.A.; PRASSE, K. W. Duncan & Prasse's **Veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. Blackwell Publishing Company: Filadelfia, 2003. cap.9. p.231-257.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. *Textbook of medical physiology*. 11th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders: 2006.

HEINE, R. Diagnóstico laboratorial da doença renal felina. *Veterinary Focus*, v.18, n.2, p.16-22, 2008.

HENNEMANN, C.R. DE A.; SILVA, C.F. DA.; SCHOENAU, W.; KOMMERS, G.D. POLYDORO, A. DA S.; LEITZKE, M.R.M. Atividade da gama glutamil transpeptidase urinária, dosagens séricas de uréia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeo em cães. **Ciência Rural**, v. 27, n. 2. Santa Maria. Apr./June 1997.

HENRY, J.B. *Diagnósticos Clínicos e tratamento por métodos laboratoriais*. 20ª ed. Manole: Barueri-SP, 2008.

HOCHBERG Z.; PACAK K.; CHROUSOS G.P. Endocrine withdrawal syndromes. **Endocrine Reviews**. 2003;24:523-38.

HOSTETTER, S.J.; ANDREASEN, C.B. General Principles. In: COWELL, R.L. Veterinary clinical pathology secrets. Missouri: Elsevier, 2004. p. 1–3.

JACOBS, J.W.G., BIJLSMA J.W.J. Glucocorticoid therapy. In: Kelley's textbook of rheumatology. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2005. v.1, p. 859-76.

KANEKO, J.J. et al. Clinical biochemistry of domestic animals. 6.ed. New York: Academic, 2008. 896p.

KIM, H.P.; SON, K.H.; CHANG, H.W.; KANG, S.S. **Journal of Pharmacological Sciences**, 2004, 96, 229.

LANIS, A.B.; FONSECA, L.A.; ROESLER, T.; ALVES, A.; LOPES, B. Avaliação laboratorial das doenças renais em pequenos animais. **Pubvet**, Londrina, V. 2, N. 28, Ed. 39, Art. 29, 2008.

LIEN, Y.; HUANG, H.; CHANG, P. Iatrogenic hyperadrenocorticism in 12 cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.42, p. 414-423, 2006.

LOEB, W.F. The measurement of renal injury. *Toxicologic Pathology*, v.26, n.1, 1998, p. 26-28.

LONGUI, C.A. Corticoterapia: minimizando efeitos colaterais. **Journal of Pediatrics**, Porto Alegre, v. 83, n. 5, Nov. 2007.

MACDONALD, J.M. Corticoterapia. In: Ettinger S.J. (Ed.). Tratado de medicina interna veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.323-333, 2004.

MELCHERT, A.; LAPOSY, C.B.; MOTTA, Y.P.; GARCIA, A.C.F.Z. Gama-glutamyltransferase urinária como indicador de insuficiência renal aguda induzida por gentamicina em cães. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**. Unipar, v.10, n.2, p.111-116, 2007.

MENEZES, L.B.; FIORAVANTI, M.C.S.; SILVA, M.S. DE B. FRANCO, L.G.; SALES, T.P.; ANDRASCKO, M.M.; VEADO, J.C.C.; ARAÚJO, E.G. . Avaliação do efeito da clorpromazina sobre a função renal de cães submetidos à isquemia e reperfusão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 2010, vol.30, n.2, p. 108-114.

MEYTS, E. R. de; HEISTERKAMP, N; GROFFEN, J. Cloning and nucleotide sequence of human γ -glutamyl transpeptidase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 85, p. 8840-8844, 1988.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Medicina Interna de Pequenos Animais, 3ª ed., São Paulo: Mosby Elsevier, 2006, p. 847-8,.

ORTEGA, T.M.; FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W.; et al. Sistemic arterial blood pressure and urine protein/creatinine ratio in dogs with hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Medicine Association**, v.209, n.10, November, 1996. p.1724-1729

PENILDON, S. Farmacologia. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1352, 2000.

PINEDA, M.H. Female reproductive system. In: PINEDA, M.H. (ed.). McDonalds's – Veterinary Endocrinology and Reproduction. 5th ed. Ames: Iowa State Press, 2003. chap. 9, p. 283-340.

PLOYGNGAM, T.; TOBIAS, A.H.; SMITH, S.A.; TORRES, S.M.F.; ROSS, S.J. Hemodynamic effects of methylprednisolone acetate administration in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v.67, n.4, p. 583-587, 2006.

RAMBABU, K.; PATTABIRAMAN, T. N. Studies on the properties of the variants of gamma-glutamyltranspeptidase in human urine. **Journal of Bioscience**, v. 4, n. 3, p. 287-294, 1982.

RAMBABU, K.; PATTABIRAMAN, T.N. Studies on the properties of the variants of gamma-glutamyl transpeptidase in human urine. **Journal of Bioscience**, v. 4, n. 3, p. 287-294, 1982.

RHEN T., CIDLOWSKI J.A. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: new mechanisms for old drugs. **The New England Journal of Medicine**, 2005.

RODRIGUES, R. Enzimas de uso na clínica veterinária. Disponível em: www.ufrgs.br/bioquímica/posgrad/bta/enzimas_vet.pdf. Acesso em: 02/06/2012, 2005.

ROSENFELD, A. J. Sistema Urogenital. In: *Prática veterinária: uma abordagem didática*. São Paulo: Roca, 2009. cap.13, p.173-191.

SANTIN, F.; MOUTINHO, F.Q.; AMARAL, A.S. do; TAKAHIRA, R.K. Acompanhamento laboratorial da função renal de cães sadios tratados experimentalmente com doses terapêuticas de anfotericina B. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1816-1823, 2006.

SCHERK, M.A.; CENTER, S.A. Toxic, metabolic, infectious, and neoplastic liver diseases. In: ETTINGER, J.S., FELDMAN, E.C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 6. ed. St. Louis, Elsevier Saunders. p.1464-78, 2005.

SCHIMMER, Bernard P; PARKER, Keith L. Hormônio adrenocorticotropico; esteroides adrenocorticais e seus análogos sintéticos; inibidores da síntese e das ações dos hormônios adrenocorticais . In: GOODMAN e GILMAN. As bases farmacológicas da terapêutica. 11.ed. Rio de Janeiro: Mcgraw-Hill, 2006. Cap 59, p. 14433 a 1457.

SENIOR, D. F. Proteinuria. In: 30th World Small Animal Veterinary Association, México, 2005.

SINGRI, N.; AHYA, S.N.; LEVIN, M.L. Acute renal failure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. Schaumburg, v.289, n.6, p.747-751, 2003.

SODRÉ, F. L.; COSTA, J. C. B.; LIMA, J. C. C. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 5, p. 329-337, 2007.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIAC, S. L.; BERNARDI, M. M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 646p.

TASCI, I.; BULUCU, F.; MAS, M. R.; VERIM, S. Polycystic kidney disease with highly elevated γ -glutamyl transpeptidase. **European Journal of General Medicine**, v. 2, n. 1, p. 39-40, 2005.

TATE, S.S.; ROSS, M.E. Human kidney γ -glutamyl transpeptidase: catalytic properties, subunit structure, and localization of the γ -glutamyl binding site on the light subunit. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 252, n. 17, p. 6042-6045, 1977.

TRIPATHI, N. K.; GREGORY, C. R.; LATIMER, K.S. Urinary system. In: LATIMER, K. S. *Duncan & Prasse's Veterinary laboratory medicine: clinical pathology*. 5. ed. Chichester: John Wiley Consumer, 2011. cap.9. p. 259.

WESTHUYZEN, J.; ENDRE, Z.H. ; REECE, G.; REITH, D.M.; SALTISSI, D.; MORGAN, T. J. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 18, p. 543-551, 2003.

YU, C.; KASTIN, A.J.; DING, Y.; PAN, W. Gamma glutamyl transpeptidase is a dynamic indicator of endothelial response to stroke. **Experimental Neurology**, v. 203, p. 116-122, 2007.

CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO DO PERFIL RENAL EM RATOS (*Rattus norvegicus*) TRATADOS COM GLICOCORTICOIDES

Avaliação do perfil renal em ratos (*Rattus norvegicus*) tratados com glicocorticoides

Henrique Jordem Venial; Paulo Sérgio da Cruz Andrade Júnior; Jorge Pinto da Silva Filho; Mirleide de Araújo Cáo; Lenir Cardoso Porfírio.

RESUMO

Os glicocorticoides representam um grupo de fármacos utilizados para o tratamento de diversos sinais clínicos e enfermidades pela sua ação anti-inflamatória e imunossupressora. O uso prolongado pode induzir desequilíbrios hidroeletrolíticos devido à retenção de fluidos e alterações laboratoriais a nível renal. Objetiva-se com este trabalho avaliar a atividade enzimática da gama-glutamyltransferase (gGT), creatinina, proteína e relação proteína/creatinina urinária; ureia e creatinina sérica para comparar os tratamentos com glicocorticoides em ratos. Para isso, foram coletadas amostras de sangue e urina de 21 animais, *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar, sem alterações clínicas ou laboratoriais. Os animais foram divididos em 3 grupos de sete ratos, o grupo 1 (G1), grupo 2 (G2) e grupo 3 (G3). Todos os animais do grupo G1 receberam 50,0 mg/kg de succinato de hidrocortisona. Os animais do G2 receberam 2,0 mg/kg de metilprednisolona e os animais do G3 receberam 1,0 mg/kg de dexametasona, a cada 24h, por via intramuscular, durante 7 dias. O experimento foi dividido em dois momentos, sendo o momento inicial (M1) antes do uso dos fármacos e o momento 2 (M2) após o final de 7 dias. Para a avaliação clínico-laboratorial as amostras de sangue e urina dos animais foram coletadas nos dois momentos M1 e M2 para realização de exames hematológicos, bioquímicos e urinálise. O tratamento com glicocorticoides ocasionou aumento da creatinina sérica nos grupos tratados. Entretanto, não se pode afirmar que houve lesão renal nos ratos tratados, visto que os marcadores Pu/Cu, atividade enzimática da gGT urinária, urinálise e ureia sérica não sofreram alterações. Não há diferença entre os grupos de ratos tratados com os glicocorticoides de curta, média e longa duração em doses imunossupressoras, por via intramuscular, pelo período de 7 dias.

Palavras-chave: Rins, Hidrocortisona, Metilprednisolona, Dexametasona.

Evaluation of renal profile in rats (*Rattus norvegicus*) treated with glucocorticoids

Henrique Jordem Venial; Paulo Sérgio da Cruz Andrade Júnior; Jorge Pinto da Silva Filho; Mirleide de Araújo Cáo; Lenir Cardoso Porfírio.

ABSTRACT

The glucocorticoids are a group of drugs used for the treatment of various diseases and clinical signs for its anti-inflammatory and immunosuppressive action. Prolonged use may induce electrolyte imbalances due to fluid retention and laboratory abnormalities in the kidney. The objective of this study was to evaluate the enzymatic activity of gamma-glutamyltransferase (GGT), creatinine, protein and protein/creatinine ratio in urine, urea and creatinine in the serum to compare treatments with glucocorticoids in rats. For this, were collected blood samples and urine samples from 21 animals, *Rattus norvegicus*, Wistar lineage, without clinical or laboratory changes. The animals were divided into three groups of seven rats, group 1 (G1), group 2 (G2) and group 3 (G3). All animals in the G1 received 50,0 mg/kg of hydrocortisone succinate. The animals of group 2 received 2,0 mg/kg methylprednisolone and G3 animals received 1,0 mg/kg of dexamethasone, every 24 hours, intramuscularly, for 7 days. The experiment was divided into two moments, with the initial moment (M1) before using of drugs and moment 2 (M2) after the end of seven days. For the clinical and laboratory evaluation, samples of blood and urine of the animals were collected in two moments M1 and M2 to perform hematological, biochemical and urinalysis. The treatment with glucocorticoids caused an increase in serum creatinine in the treated groups. However, one can not say that there was renal injury in rats treated since the markers Pu/Cu, enzymatic activity of urinary gGT, urinalysis and serum urea remained unchanged. There is no difference between the groups of rats treated with glucocorticoids of short, medium and long term in immunosuppressive doses, intramuscularly, for a period of 7 days.

Keywords: Kidneys, Hydrocortisone, Methylprednisolone, Dexamethasone.

4. INTRODUÇÃO

Os glicocorticoides assumem na atualidade uma das classes farmacológicas mais empregadas na medicina veterinária. Desde a sua introdução na prática clínica, os glicocorticoides têm representado importante e, muitas vezes decisivo instrumento terapêutico no manejo de diferentes doenças (CALDAS; SCHRANK, 2001). São os mais potentes agentes anti-inflamatórios conhecidos, o que os tornam agentes importantes no tratamento de numerosos distúrbios inflamatórios, alérgicos, hematológicos, entre outros (KATZUNG, 2003; DAMIANI et al., 2007). Essas aplicações terapêuticas têm estimulado o desenvolvimento de muitos esteróides sintéticos com atividades anti-inflamatórias e imunossupressoras (KATZUNG, 2003).

Apesar dos benefícios gerados em determinadas enfermidades, o uso prolongado dos glicocorticoides pode desencadear uma série de efeitos com capacidade de promover alterações clínicas e laboratoriais. Estas alterações podem variar de acordo com o fármaco específico utilizado, a dose, a duração da terapia de glicocorticoides e sensibilidade individual do paciente (ANDRADE, 2002; SCHERK; CENTER, 2005).

O uso prolongado de glicocorticoide pode induzir desequilíbrios hidroeletrólíticos pela retenção de fluido causado pelo efeito mineralocorticoide e também alterações laboratoriais (SCHERK; CENTER, 2005; ANDRADE, 2002; MACDONALD, 2004; COHN, 2006; PLOYNGAM et al., 2006). Podem aumentar a pressão sanguínea por meio do aumento da concentração de sódio-potássio adenosina trifosfato na membrana celular, podendo aumentar a concentração de sódio extracelular e conseqüentemente expandir o volume plasmático (ORTEGA et al, 1996; BROWN, 2005). Além disso, os glicocorticoides induzem a produção hepática de angiotensinogênio, resultando em uma resposta exacerbada do sistema renina-angiotensina-aldosterona (DUKES, 1992; ACIERNO; LABATO, 2004).

A elevação da pressão arterial renal pode provocar degeneração tubular e fibrose intersticial, enquanto a hipertensão glomerular resulta em glomeruloesclerose, atrofia glomerular e glomerulite proliferativa. Juntas, essas mudanças estão associadas com hiperfiltração glomerular e progressão dos danos

tubulares e glomerulares. O resultado final é a piora da hipertensão e, eventualmente, insuficiência renal (ACIERNO; LABATO, 2004).

O método rotineiramente usado para avaliar a função renal é a mensuração da concentração plasmática de substâncias normalmente excretadas pelos rins. A avaliação dos níveis de ureia e creatinina são os testes mais comumente utilizados na rotina médica veterinária. Entretanto, a azotemia de origem renal só ocorre quando cerca de 75% do parênquima renal é perdido (SANTIN et al., 2006).

Dentre outros achados laboratoriais que também auxiliam na caracterização da disfunção renal, pode-se citar a proteinúria moderada a marcante, a qual é detectada na urina por quantificação e/ou por fita reagente de imersão (GRECO et al., 1985). A relação de proteína/creatinina na urina (Pu/Cu) é um teste indicado para avaliação de lesão aos glomérulos quando ainda não há evidências clínicas ou laboratoriais do sistema urinário (LANIS et al., 2008).

A enzimologia clínica é de grande importância diagnóstica no que se refere às enzimas presentes no sangue e na urina (WESTHUYZEN et al., 2003). As enzimas urinárias são utilizadas para teste de detecção precoce de lesão renal. Dentre essas, a gama glutamiltransferase (gGT) urinária é a mais amplamente testada (RAMBABU; PITTABIRAMAN, 1982; SODRÉ et al., 2007).

Objetiva-se com este trabalho avaliar a atividade enzimática da gama-glutamiltransferase (gGT), creatinina, proteína e relação proteína/creatinina urinária; ureia e creatinina sérica para comparar os tratamentos com glicocorticoides em ratos.

5. MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Alegre - FAFIA com o protocolo número 0200021/2010.

5.1 Seleção dos Animais

Foram utilizados 21 animais, *Rattus norvegicus* linhagem Wistar, fêmeas, com idade entre 5 e 6 meses com média de pesos de 250g. Todos os animais foram originados das colônias implantadas no Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES.

Ao chegarem ao biotério do CCA-UFES, passaram por período de dois dias de adaptação antes do início das avaliações laboratoriais e aplicação dos fármacos selecionados. Os animais foram alocados em caixa de polipropileno com lotação de dois animais por caixa, mantidos em temperatura de aproximadamente 21^oC a 23^oC, umidade e luminosidade controladas em foto período de 12 horas claro/escuro por 28 dias, foram alimentados com ração específica para a espécie e água *ad libidum*.

O experimento foi dividido em dois momentos, sendo o momento inicial (M1), antes do uso dos fármacos, e o momento final (M2), após 7 dias do início do tratamento.

5.2 Formação dos Grupos

Os animais foram divididos em 3 grupos com sete ratos cada um. Os animais do grupo G1 receberam 50 mg/kg de succinato sódico de hidrocortisona, os animais do G2 receberam 2 mg/kg de metilprednisolona e os animais do G3 receberam 1 mg/kg de dexametasona. Todos os animais receberam as medicações em doses imunossupressoras, por via intramuscular, a cada 24 horas, durante 7 dias.

5.3 Coleta de Sangue e Urina

As amostras de sangue foram coletadas em jejum alimentar de 24 horas, nos dois momentos M1 e M2 para realização de hemograma e exames bioquímicos.

Foi colhido 0,7 mL de sangue com seringa descartável de 1,0mL, por punção intra-cardíaca, armazenado em frascos a vácuo da marca Labor Import[®], sem anticoagulante, e em tubos contendo anticoagulante EDTA na concentração de 10%.

Coletou-se urina nos momentos M1 e M2 para análise bioquímica urinária e urinálise. Foi coletada cerca de 1,0 mL de urina por micção espontânea e/ou compressão da bexiga e acondicionadas em frascos estéreis.

Os materiais foram devidamente identificados, refrigerados e encaminhados para análise no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário do CCA-UFES.

5.4 Hemograma

O hemograma foi realizado por técnica manual segundo técnicas de rotina do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da UFES, como critério de inclusão de animais hígidos no experimento.

Foram avaliados o hematócrito, contagem de hemácias e leucócitos totais, com a câmara de Newbauer e dosagem de hemoglobina pela técnica de cianometemoglobina, cálculo dos índices eritrocitários, quantificação de proteína plasmática total pela técnica de refratometria e plaquetas.

5.5 Bioquímica Sérica e Urinária

As amostras de sangue coletado em frascos sem anticoagulantes foram centrifugadas a 2991 g durante 5 minutos, para obtenção do soro. As análises bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico manual Biospectro[®] SP-22 utilizando *kits* comerciais específicos.

A uréia sérica foi mensurada pelo teste enzimático colorimétrico de ponto final (Labtest[®] - Ref. 27). A creatinina sérica e urinária foi quantificada pelo método cinético de ponto final - Jaffé modificado da marca Labtest[®] (Ref. 35-100).

Para o exame da proteína urinária foi utilizado o método cinético de vermelho pirrolidol com *kit* Sensiprot da marca Labtest[®] (Ref. 36-50). A gama glutamiltransferase (Gama GT Liquiform) urinária foi quantificada pelo método cinético contínuo de Szasz modificado da marca Labtest[®] (Ref. 105-2). As técnicas utilizadas para todas as dosagens séricas e urinárias seguiram os protocolos dos *kits* comerciais utilizados, Labtest[®].

5.6 Urinálise

A urinálise foi realizada no experimento nos momentos inicial e final (M1 e M2). Para realização do exame, as amostras, em temperatura ambiente, foram utilizadas para execução do exame físico, com determinação da densidade urinária pela técnica de refratometria, exame químico semiquantitativo com tiras reagentes e sedimentoscopia.

Cerca de 1,0 mL foi centrifugado em centrífuga de macrotubos marca Digilab[®] durante 5 minutos a 1077 g, conforme Osborne et al. (1995) em tubos cônicos e graduados. Foi separado o sobrenadante ficando o sedimento com quantidade aproximada de 0,3 mL.

Para o exame microscópico foram utilizadas alíquotas de 10 μ L do sedimento, entre lâmina microscópica e lamínula de 20 x 20mm, com contagem média de 5 campos aleatórios, sem o emprego de corantes específicos para identificação dos elementos figurados da urina.

O sobrenadante foi utilizado para as determinações bioquímicas, com imersão das tiras reagentes para exame semiquantitativos de proteína, glicose, hemoglobina, corpos cetônicos, bilirrubina e urobilinogênio e para quantificação dos compostos nitrogenados não proteico, ureia, creatinina e determinação da atividade urinária da enzima gama glutamiltransferase.

5.7 Relação Proteína e Creatinina Urinária (Pu/Cu)

A relação proteína urinária e creatinina urinária (Pu/Cu) foi obtida por meio de cálculo aritmético, após a obtenção dos valores numéricos pelas dosagens quantificadas.

5.8 Eutanásia dos animais

Ao término do projeto, os animais foram submetidos à eutanásia de forma humanitária, com dose letal de barbitúrico, recomendado para espécies convencionais de laboratório. Para tanto se utilizou dose excessiva de anestésico, o Pentobarbital Sódico na dose de 100mg/Kg.

5.9 Análise estatística

A estatística foi realizada utilizando o programa BioEstat[®] 5.0 pelo teste paramétrico T pareado entre o momento inicial (M1) e final (M2) de cada grupo. Foram obtidos valores médios e respectivos desvio padrão de cada variável. A comparação entre os tratamentos dos três grupos foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA) e as médias foram submetidas ao teste de Tukey, assumindo-se 5% de probabilidade.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise estatística dos valores médios hematológicos (Tabela 1), constataram-se níveis dentro das variações permitidas para os animais, concordando com os valores referenciais de FIOCRUZ (2005) e com a análise de variância (ANOVA) entre os grupos ($p \leq 0,05$), e por estarem hígidos, foram incluídos no projeto (Anexo).

Os valores médios e desvios-padrão (Tabela 2) de ureia sérica não apresentaram alterações significativas ($p \leq 0,05$) após o tempo de tratamento por 7 dias. Estes dados não são compatíveis com estudos de Moreira et al. (2009) e Ortega (1996), pois relatam que o aumento dos níveis de glicocorticoides aumentam a diurese, resultando em maior perda urinária de nitrogênio ureico e diminuição do valor de ureia sérica.

Porém, os valores séricos obtidos para creatinina sérica apresentaram aumento significativo ($p \leq 0,05$) em todos os grupos tratados com glicocorticoides. Segundo Nelson (2001), o aumento dos níveis de creatinina sérica pode estar presente em casos de aumento de glicocorticoide sanguíneo (Tabela 2).

TABELA 2 - Valores médios \pm D.P. de uréia, creatinina sérica de ratos antes e após tratamento com succinato de hidrocortisona (G1), metilprednisolona (G2) e dexametasona (G3), pelo período de sete dias.

Parâmetros	Grupos Tratados								
	G1			G2			G3		
	M1	M2	P	M1	M2	P	M1	M2	P
US (mg/dL)	35,6 \pm 7	45,0 \pm 15,7	0,21	38,2 \pm 11	44,1 \pm 13,5	0,06	53,7 \pm 4,6	47,5 \pm 7,8	0,17
CS (mg/dL)	0,7 \pm 0,1	2,3 \pm 0,63	0,001*	0,8 \pm 0,2	1,5 \pm 0,6	0,02*	0,6 \pm 0,2	2,1 \pm 0,23	<0,0001*

US – ureia sérica

CS – creatinina sérica

* Valores que ocorreram alteração (nível de significância 95%)

A creatinina é o produto da degradação não enzimática da fosfocreatina no músculo, que está envolvida no metabolismo energético, particularmente na estabilização de ligações de fosfato de alta energia não necessárias para uso imediato. A produção diária de creatinina no corpo é determinada em grande parte pela massa muscular do indivíduo e não é afetada consideravelmente pela dieta (DiBARTOLA, 1997; KERR, 2003).

As alterações nos valores de creatinina sérica podem ser decorrentes de mudanças hemodinâmicas e pelo catabolismo, visto que os animais permaneceram em jejum por 24 horas e receberam a medicação por via intramuscular. Segundo Stockham e Scott (2003), o aumento de creatinina no soro ou plasma geralmente está associado a processo patológico relacionado à diminuição da taxa de filtração glomerular (pré-renal, renal ou pós-renal). Porém, o aumento também pode acontecer por aumento na produção e liberação por miócitos lesionados, o que poderia justificar o aumento dos valores de creatinina.

Na análise dos resultados da atividade enzimática de gGT, creatinina e proteína na urina, não houve alterações estatisticamente significativas em nenhum dos grupos ($p > 0,05$) após tratamento com corticoides de curta, média e longa duração (Tabela 3), o que indica não haver lesão renal.

TABELA 3 - Valores médios \pm D.P. da atividade da enzima gama glutamiltransferase, creatinina e proteína urinária, e relação (Pu/Cu) de ratos antes (M1) e após (M2) tratamento com succinato de hidrocortisona (G1), metilprednisolona (G2) e dexametasona (G3), pelo período de sete dias.

Parâmetros	Grupos Tratados								
	G1			G2			G3		
	M1	M2	P	M1	M2	P	M1	M2	P
gGT (U/L)	7,5 \pm 2,2	9,89 \pm 2,8	0,06	12,6 \pm 6,1	17,4 \pm 9,9	0,1	11,7 \pm 8,4	9,9 \pm 5,5	0,5
CU (mg/dL)	77,7 \pm 39,7	72,50 \pm 33,4	0,7	77,2 \pm 41,2	70,3 \pm 36,0	0,7	78,7 \pm 19,9	70,5 \pm 22,2	0,6
PU (mg/dL)	13,7 \pm 0,9	13,0 \pm 0,8	0,64	12,0 \pm 1,5	12,6 \pm 0,5	0,5	13,0 \pm 0,6	13,0 \pm 0,6	1,0
Pu/Cu	0,16 \pm 0,02	0,17 \pm 0,02	0,6	0,17 \pm 0,02	0,16 \pm 0,01	0,5	0,17 \pm 0,01	0,18 \pm 0,02	0,6

gGT – gama glutamiltransferase urinária

CU – creatinina urinária

PU – proteína urinária

Pu/Cu – relação proteína/creatinina urinária

*Valores que ocorreram alteração (nível de significância 95%)

A gGT urinária reflete lesão na borda em escova dos túbulos proximais com perda da estrutura da microvilosidade (KANEKO et al., 2008; MENEZES et al., 2010; SANTIN et al., 2006) e pode ser encontrada na urina em condições lesivas, antes mesmo de outros elementos clássicos (RAMBABU, PATTABIRAMAN, 1982), além de persistir por maior tempo (YU et al., 2007).

A relação (Pu/Cu) é um teste indicado para avaliação de lesão aos glomérulos quando ainda não há evidências clínicas ou até mesmo laboratoriais de insuficiência no sistema urinário. A creatinina e a ureia sérica somente se elevam quando 75% ou mais dos néfrons estiverem lesados, enquanto a relação (Pu/Cu) aumenta a partir de 25% de comprometimento ao tecido renal de acordo com Lanis et al. (2008). Portanto, este teste pode ser utilizado como indicativo de lesão aos rins em casos iniciais, o que melhora o prognóstico do paciente.

Os valores médios \pm desvios-padrão da relação (Pu/Cu) dos 3 grupos foram obtidos pelo cálculo aritmético da proteína e creatinina urinária e que não sofreram alterações significativas ($p > 0,05$), obtendo-se valor médio de $0,17 \pm 0,02$ no G1; $0,16 \pm 0,01$ no G2 e $0,18 \pm 0,02$ no G3. Em cães, Tripathi (2011) descreve que quando se descarta as causas de proteinúria não-renal e estão ausentes hemorragias ou inflamações, a relação proteína/creatinina urinária é interpretada da seguinte forma: relação (Pu/Cu) $< 0,5$ é considerada normal; relação (Pu/Cu) entre 0,5 e 1,0 é questionável para proteinúria renal; relação (Pu/Cu) $> 1,0$ é indicativa de proteinúria renal.

Segundo Menezes et al. (2010), a avaliação da relação (Pu/Cu), bem como a atividade da gGT urinária são provas mais sensíveis para detectar lesão tubular aguda que o exame de urina de rotina. Não foi observado aumento da atividade da enzima gGT e nos valores da relação (Pu/Cu) na urina de ratos tratados com glicocorticoides.

O exame de urinálise (Tabela 4) foi feito nos dois momentos, não havendo alterações significativas comparadas aos valores de referência da urinálise de ratos criados no Biotério Central da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (2012) após tratamento com glicocorticoides por 7 dias. A presença de proteína (+) pode ter ocorrido pela presença de células de descamação, hemácias e leucócitos, no sedimento, mesmo em quantidade reduzida, pois segundo Senior (2005), as

proteínas filtradas nos glomérulos são quase totalmente reabsorvidas no túbulo contorcido proximal e apenas pequena quantidade é observada na urina.

Os glicocorticoides podem aumentar a velocidade de filtração glomerular e inibir os efeitos do hormônio antidiurético nos túbulos renais, resultando em isostenúria, poliúria e polidipsia, o que leva a diminuição da densidade urinária. Os valores da densidade urinária no presente estudo não apresentaram alterações após corticoterapia, não sendo compatíveis com relatos de Moreira et al. (2009).

TABELA 4 - Valores obtidos na urinálise de ratos antes e após tratamento com succinato de hidrocortisona (G1), metilprednisolona (G2) e dexametasona (G3) pelo período de sete dias.

Parâmetros	Grupos Tratados						Referência*
	G 1		G 2		G 3		
	M1	M2	M1	M2	M1	M2	
Cor	Amarelo	Amarelo	Amarelo	Amarelo	Amarelo	Amarelo	Amarelo
Densidade	1.048	1.040	1.039	1.041	1.033	1.032	1.030
pH	8,0	7,0	8,0	8,0	7,0	8,0	7,0
Glicose	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
C. Cetônicos	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Bilirrubina	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Urobilinogênio	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Hemoglobina	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Cél. Descama.	1 p/c	1 p/c	1 p/c	1 p/c	1 p/c	1 a 2 p/c	Raras
Cilindros	0	0	0	0	0	0	0
Proteínas	+	+	+	+	+	+	Raras
Hemácias	1 p/c	2 p/c	1 p/c	2 p/c	1 p/c	1 p/c	1 a 2 p/c
Leucócitos	1 p/c	2 p/c	1 p/c	1 p/c	1 p/c	2 p/c	2 a 3 p/c

*Valores de referência da urinálise de ratos, criados no Biotério Central da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, MS, 2012.

Na análise de variância (ANOVA) entre os grupos tratados com classes diferentes de glicocorticoides não foram verificadas alterações significativas ($p > 0,05$) nos valores da ureia sérica, creatinina sérica e urinária, gGT urinária, proteína urinária e relação (Pu/Cu) entre os tratamentos (Tabela 5).

TABELA 5 - Valores médios \pm D.P. da ureia sérica, creatinina sérica e urinária, atividade da gGT urinária, proteína urinária e relação proteína/creatinina urinária (Pu/Cu) após tratamento com succinato de hidrocortisona (G1), metilprednisolona (G2) e dexametasona (G3), pelo período de sete dias.

Parâmetros	Grupos Tratados (M2)			p
	G1	G2	G3	
Uréia Sérica (mg/dL)	45,0 \pm 15,7	44,1 \pm 13,5	47,5 \pm 7,8	0,19
Creatinina Sérica (mg/dL)	2,3 \pm 0,63	1,5 \pm 0,6	2,1 \pm 0,23	0,055
gGT Urinária (U/L)	9,89 \pm 2,8	17,4 \pm 9,9	9,9 \pm 5,5	0,08
Creatinina Urinária (mg/dL)	72,50 \pm 33,4	70,3 \pm 36,0	70,5 \pm 22,2	0,22
Proteína Urinária (mg/dL)	13,0 \pm 0,8	12,6 \pm 0,5	13,0 \pm 0,6	0,6
Pu/Cu	0,17 \pm 0,02	0,16 \pm 0,01	0,18 \pm 0,02	0,6

7. CONCLUSÃO

O tratamento com succinato de hidrocortisona, metilprednisolona e dexametasona ocasiona aumento da creatinina sérica nos grupos tratados. Entretanto, não se pode afirmar que há lesão renal nos ratos tratados, visto que os marcadores Pu/Cu, atividade enzimática da gGT urinária, urinálise e ureia sérica não sofreram alterações.

Não há diferença entre os grupos de ratos tratados com os glicocorticoides de curta, média e longa duração em doses imunossupressoras, por via intramuscular, pelo período de 7 dias.

8. REFERÊNCIAS

- ACIERNO, M.J., LABATO, M.A. Hypertension in dogs and cats. **Compendium on continuing education for practicing veterinarians**, v.26, n.5, may, 2004. p.336-345.
- ANDRADE, M.M.J. Anti-inflamatórios esteroidais. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARD, M. M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 918 p.
- BIOTÉRIO CENTRAL. Unidade Técnica do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS. Regulamento Interno, n. 1 dez 2012.
- BROWN, S.A.; HENIK, R.A. Diagnosis and treatment of systemic hypertension. **Veterinary Clinics of North America: Small animal practice**, v.28, n.6, November, 1998. p.1481-1494.
- COHN, L.A. Glucocorticoid therapy. In: ETTINGER SJ, F.E. (Ed.). **Textbook of veterinary internal medicine**. St. Louis: Elsevier Saunders, p.503-508, 2006.
- DAMIANI, D.; KUPERMAN, H.; DICHTCHEKENIAN, V; MANNA, T.D.; SETIAN, N. Corticoterapia e suas repercussões: a relação custo-benefício. **Pediatria**, v. 1, p. 71-82, 2001.
- DiBARTOLA, S.P. Abordagem Clínica e Avaliação Laboratorial da Afecção Renal. In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. Tratado de Medicina Interna Veterinária – Moléstias do cão e do gato. 4ed. São Paulo: Manole, 1997, cap. 132, p. 2355-2373.
- DUKES, J. Hypertension: A review of the mechanisms, manifestations and management. **Journal of Small Animal Practice**, v.33, n.3, March, 1992. p.119-129.
- FIOCRUZ- Fundação Osvaldo Cruz. Centro de Criação de Animais de Laboratório. Curso de Manipulação de Animais de Laboratório. Salvador, 2005.
- GRECO, D.S., TURNWALD, G.H., ADAMS, R. Urinary gamma glutamil transpeptidase activity in dogs with gentamicin-induced nephrotoxicity. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 11, p. 2332-2335, 1985.
- GRECO, D.S.; STABENFELDT, G.H. Endocrinologia. In: CUNNINGHAM, JG.; KLEIN, B.G. Tratado de Fisiologia Veterinária, 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008, p. 414 – 421.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. California: Academic Press, 2008. 916 p.

- KATZUNG, B.G. Farmacologia Básica & Clínica. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2003. p. 300. p. 574-587
- KERR, M.G. Substâncias Nitrogenadas. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária – Bioquímica clínica e Hematologia. 2 ed. São Paulo: Roca, 2003, p. 119-130.
- LANIS, A.B.; FONSECA, L.A.; ROESLER, T.; ALVES, A.; LOPES, B. Avaliação laboratorial das doenças renais em pequenos animais. **Pubvet**, Londrina, V. 2, N. 28, Ed. 39, Art. 29, 2008.
- MACDONALD, J.M. Corticoterapia. In: Ettinger S.J. (Ed.). Tratado de medicina interna veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.323-333, 2004.
- MENEZES, L.B.; FIORAVANTI, M.C.S.; SILVA, M.S. DE B. FRANCO, L.G.; SALES, T.P.; ANDRASCKO, M.M.; VEADO, J.C.C.; ARAÚJO, E.G. . Avaliação do efeito da clorpromazina sobre a função renal de cães submetidos à isquemia e reperfusão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 2010, vol.30, n.2, p. 108-114.
- MOREIRA, R.H. et al. Hiperadrenocorticismo Iatrogênico em Cão: Relato de Caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária** - ISSN: 1679-7353. Ano VII, número 13, 2009.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Insuficiência renal. In: Medicina interna de pequenos animais. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2001. cap.44. v.2. p. 487-499.
- ORTEGA, T.M.; FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W.; et al. Systemic arterial blood pressure and urine protein/creatinine ratio in dogs with hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Medicine Association**, v.209, n.10, November, 1996. p.1724-1729
- OSBORNE, A., C. et. al. A Clinician's Analysis of Urinalysis. In: OSBORNE, A. C.; FINCO, R. D. Canine and Feline Nephrology and Urology. LEA & FEBIGER BOOK, p. 136 – 205, 1995.
- PLOYNGAM, T.; TOBIAS, A.H.; SMITH, S.A.; TORRES, S.M.F.; ROSS, S.J. Hemodynamic effects of methylprednisolone acetate administration in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v.67, n.4, p. 583-587, 2006.
- RAMBABU, K.; PATTABIRAMAN, T. N. Studies on the properties of the variants of gamma-glutamyltranspeptidase in human urine. **Journal of Bioscience**, v. 4, n. 3, p. 287-294, 1982.
- SANTIN, F.; MOUTINHO, F.Q.; AMARAL, A.S. do; TAKAHIRA, R.K. Acompanhamento laboratorial da função renal de cães saudáveis tratados experimentalmente com doses terapêuticas de anfotericina B. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1816-1823, 2006.

SCHERK, M.A.; CENTER, S.A. Toxic, metabolic, infectious, and neoplastic liver diseases. In: ETTINGER, J.S., FELDMAN, E.C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 6. ed. St. Louis, Elsevier Saunders. p.1464-78, 2005.

SENIOR, D. F. Proteinuria. In: 30th World Small Animal Veterinary Association, México, 2005.

SODRÉ, F. L.; COSTA, J. C. B.; LIMA, J. C. C. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 5, p. 329-337, 2007.

STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. Urinary system. In: Fundamentals of veterinary clinical pathology. Iowa State Press: Iowa, 2002. cap.8. p.279-334.

TRIPATHI, N. K, GREGORY, C. R., LATIMER, K.S. Urinary system. In: LATIMER, K. S. *Duncan & Prasse's Veterinary laboratory medicine: clinical pathology*. 5. ed. Chichester: John Wiley Consumer , 2011. cap.9. p. 259.

WESTHUYZEN, J.; ENDRE, Z. H. ; REECE, G.; REITH, D. M.; SALTISSI, D.; MORGAN, T. J. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 18, p. 543-551, 2003.

YU, C.; KASTIN, A.J.; DING, Y.; PAN, W. Gamma glutamyl transpeptidase is a dynamic indicator of endothelial response to stroke. **Experimental Neurology**, v. 203, p. 116-122, 2007.

ANEXO

TABELA 1 - Média \pm D.P. dos parâmetros hematológicos e plaquetas de ratos hígidos antes de serem submetidos a tratamento com succinato de hidrocortisona (G1), metilprednisolona (G2) e dexametasona (G3), pelo período de sete dias.

Parâmetros	Grupos				Referências*
	G1	G2	G3	p	
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	6,4 \pm 0,4	6,4 \pm 0,5	6,8 \pm 4,7	0,23	3,30 – 8,30
Hb (g/dL)	14 \pm 0,8	14 \pm 0,8	14 \pm 0,9	0,92	7,2 - 16
Ht (%)	48 \pm 2,6	48 \pm 4,0	47 \pm 2,1	0,62	28 - 50
VGM (fL)	75 \pm 2,0	75 \pm 1,0	68 \pm 3,2	0,1	46 - 80
CHGM (%)	28 \pm 1,0	29 \pm 0,9	29 \pm 1,5	0,56	26 - 35
PPT (g/dL)	8 \pm 0,4	8 \pm 0,8	8 \pm 0,5	0,26	6 - 9
Plaquetas ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	116,7 \pm 10	112,7 \pm 9,2	110,2 \pm 7,8	0,3	83,7–145,5
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	6,5 \pm 2,0	6,5 \pm 3,2	7,4 \pm 1,3	0,21	4,0 - 12,0
Bastões (%)	0	0 \pm 0,4	0	0,53	0 - 3
Neutrófilos (%)	34 \pm 12,3	38 \pm 10,9	29 \pm 5,9	0,12	10 - 45
Linfócitos (%)	56 \pm 11,9	53 \pm 9,9	57 \pm 9,9	0,22	40 - 82
Eosinófilos (%)	3 \pm 1,6	6 \pm 1,6	4 \pm 2,6	0,39	0 - 7
Monócitos (%)	5 \pm 2,6	3 \pm 1,2	5 \pm 2,8	0,6	0 - 8
Basófilos (%)	0	0	0	0,91	0 - 1

*Fonte: FIOCRUZ. Centro de Criação de Animais de Laboratório da Fundação Oswaldo Cruz (2005)