

AVALIAÇÃO DA GAMA-GLUTAMILTRANSFERASE NA URINA DE CADELAS COM PIOMETRA*

Marina Greco Magalhaes Guerra de Andrade¹, Fabíola Oliveira Paes Leme², Paulo Ricardo Oliveira Paes³, Valentim Arabicano Gheller³

RESUMO

Cadelas com piometra podem apresentar lesões tubulares provocadas pela deposição de imunocomplexos que favorecem ao desenvolvimento de doença glomerular primária, lesão tubular intersticial, azotemia e redução da capacidade de concentração da urina pelos túbulos renais e da capacidade de filtração glomerular. Considerando a importância da determinação precoce de lesões de túbulo renal em cadelas com infecção uterina, este trabalho tem como objetivo determinar a concentração da GGTu na urina de 23 cadelas com idades entre três e 13 anos e diagnóstico de piometra. Foram determinados os valores séricos da uréia e creatinina e a concentração da enzima GGTu na urina, pelo método colorimétrico e as absorbâncias determinadas através da espectrofotometria em aparelho automático. A densidade urinária e presença de proteinúria foram dosadas com o uso de fita reagente de urina. Foi encontrada densidade urinária média de 1.015 e proteinúria em 65% (15/23) dos animais. Foi observada elevação da uréia em todos os animais e de creatinina em 22% (5/23) dos animais estudados, sendo os valores médios encontrados iguais a 60,39mg/dL e 1,38mg/dL respectivamente. Dentre as cadelas com piometra avaliadas, 43% (10/23) apresentaram aumento de GGTu com média de 180U/L. A elevação de GGTu sem aumento concomitante de creatinina sérica foi observada em 70% (7/10) dos animais, o que indica que a mensuração da atividade da GGTu na urina, é um teste

laboratorial mais adequado à detecção de lesão tubular aguda em cadelas com piometra que as dosagens séricas de uréia e creatinina, quando se pretende detectar precocemente a presença de lesão tubular.

Palavras chave: *Canis familiaris*. Infecção uterina. Enzimúria. Biomarcadores renais

INTRODUÇÃO

Cadelas com piometra podem apresentar comprometimento da função renal, tais como glomerulonefrites e lesões tubulares (STONE et al., 1988) provocadas pela deposição de imunocomplexos que favorecem ao desenvolvimento de doença glomerular primária, azotemia e redução da capacidade de concentração da urina pelos túbulos renais, redução da capacidade de filtração glomerular e lesão tubular intersticial (HARDY & OSBORNE, 1974; STONE et al., 1988, SILVA-MOLANO & LOAIZA-ECHEVERRI, 2007; OLIVEIRA, 2007). Estes antígenos são responsáveis por estimular a migração de células inflamatórias, proliferação endotelial, ativação do sistema complemento e de outros mediadores químicos (HARDY & OSBORNE, 1974; SANDHOLM et al., 1975).

A sedimentação de imunocomplexos nas paredes capilares dos glomérulos é responsável pela doença glomerular primária (SILVA-MOLANO & LOAIZA-ECHEVERRI, 2007) e a severidade da doença renal dependerá da gravidade da lesão

*Artigo recebido em: 23/01/2014

Aceito para publicação em: 08/05/2014

¹ Médica Veterinária, Mestranda do Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Uberlândia. Endereço: Universidade Federal de Uberlândia. Av. Mato Grosso, nº 3289 - Bloco 2 s - Campus Umuarama - Uberlândia/MG - CEP.: 38.405-314 Brasil email: vetmarina@yahoo.com.br

² Médica Veterinária, Doutora., Professora Adjunta, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária

³ Médico Veterinário, Doutor., Professor Adjunto, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária.

ocasionada, ou seja, da quantidade de parênquima renal comprometido e da possibilidade de reversão e restauração do tecido lesado assim como da recuperação da sua funcionalidade (HARDY & OSBORNE, 1974; DIBARTOLA, 2000).

Na rotina clínica, a avaliação da uréia e da creatinina séricas são utilizadas como meio diagnóstico de insuficiência renal aguda (IRA), no entanto, o aumento da uréia e da creatinina plasmática também pode estar relacionado às desordens pré-renais ou pós-renais enquanto a azotemia renal é observada quando uma quantidade considerável de néfrons já se encontra irreversivelmente comprometida (KIRBY, 1989; LABATO, 1992), correspondendo às perdas de 80% a 90% da função de filtração renal (SEGEV, 2012). Desta forma, alterações tubulares podem não ser detectadas com antecedência suficiente para prevenir o desenvolvimento da necrose tubular aguda (GRAUER et al., 1985; UECHI et al., 1994; CLEMO, 1998).

Em contrapartida, a enzima gama-glutamyltransferase (GGTu) que está presente no citoplasma das células do epitélio em escova dos túbulos renais proximais e da alça de Henle, normalmente não é filtrada pelos glomérulos e é detectada na urina poucas horas após uma injúria renal, o que possibilita a intervenção clínica rápida e eficaz (GRAUER et al., 1985; GARRY et al., 1990; VEADO, 2007).

A enzima GGTu está presente no citoplasma de células que apresentam intensa atividade secretora e função de absorção tais como as células epiteliais dos túbulos proximais renais, as células do jejuno, do trato biliar, do plexo coróide, dos folículos da tireóide e dos hepatócitos. Nos rins, a GGTu tem sua concentração máxima nos bordos do epitélio em escova dos túbulos renais proximais e alça de Henle e exercem papel essencial no transporte e manutenção das reservas de aminoácidos das células (GRECO et al., 1985; SCHEPPER et al., 1989), desta forma, a GGTu pode ser quantificada na urina e apresenta-se elevada quando em presença de necrose de células dos túbulos renais proximais (CLEMO, 1998; VEADO, 2007).

Enzimas como a GGTu excretadas

na urina são chamadas de biomarcadores renais, e podem ser utilizadas como marcadores precoces de degeneração tubular aguda. Dentre outras finalidades, a enzimúria pode ser utilizada para determinar a ocorrência de rejeição em transplantes renais, determinar a nefrotoxicidade de algumas drogas (HEIENE et al., 1991) ou mesmo doença renal em pacientes com diabetes tipo II (DE CARVALHO et al., 2012).

Considerando a importância da determinação precoce das lesões de túbulo renal em cadelas com piometra, este trabalho tem como objetivo mensurar a concentração da enzima GGTu na urina de cadelas com infecção uterina para detecção precoce de lesão tubular aguda e correlaciona-la com os níveis séricos de uréia e creatinina. A importância da avaliação da enzimúria nestes animais está relacionada a uma oportunidade de diagnóstico e tratamento entre o início de uma lesão tubular, quando a azotemia e uremia ainda não são observadas, e uma disfunção renal permanente (SEGEV, 2012).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 23 cadelas de diferentes raças, com idades entre três e 13 anos, diagnosticadas com piometra na rotina de atendimento clínico do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais. Todas as cadelas avaliadas foram submetidas à realização de ovariectomia (OSH) e o diagnóstico de piometra foi confirmado pela avaliação macroscópica do útero (aumento de volume e presença de conteúdo purulento no lúmen uterino).

Previamente à cirurgia de OSH foram coletados de cada animal por punção da veia jugular ou da veia cefálica 3,0mL de sangue que foram armazenados em tubo sem anticoagulante e encaminhados para o Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais, e centrifugados¹ a 3.500 RPM por dez minutos. O soro obtido foi armazenado em tubos eppendorfes e refrigerados a -20°C até o processamento das análises. A uréia e a creatinina séricas foram obtidas

¹ Centrifuga Excelsa II 206 BL

utilizando "kits" comerciais², pelo método colorimétrico e as absorvâncias determinadas através da espectrofotometria em aparelho automático³.

Durante o procedimento cirúrgico de OSH, 10 ml de urina foram coletados de cada animal, em seringa plástica descartável, por cistocentese, e posteriormente refrigeradas entre 2 e 8°C por até 6 horas até o processamento das análises. Nas amostras de urina foram determinadas a densidade urinária por refratometria, presença de proteínas com fita reagente de urina⁴, sendo os resultados obtidos em valores qualitativos e quantitativos. A dosagem da enzima urinária GGTu foi realizada a partir de "kits" comerciais² pelo método colorimétrico e as absorvâncias determinadas através da espectrofotometria em aparelho automático³. Foram coletados 3mL de urina por cistocentese de nove animais sadios (grupo controle) com idade entre 3 e 10 anos, e a dosagem da GGTu foi realizada seguindo a mesma metodologia utilizada para as cadelas com piometra. Os valores de GGTu encontrados foram comparados entre as cadelas com piometra e o grupo controle.

Para avaliação dos níveis séricos de uréia, creatinina, densidade e GGTu, foram estabelecidos os testes de hipóteses (teste T de Student) com nível de significância de 5% sobre as médias encontradas para as 23 cadelas estudadas. Foi aplicado o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparação entre os valores de GGTu dos animais doentes e não doentes (grupo controle). O teste de correlação de Spearman foi utilizado para estabelecer as correlações entre cada variável analisada.

RESULTADOS

Os valores médios e desvio padrão encontrados para GGTu, densidade urinária, presença de proteinúria e as dosagens séricas da uréia e creatinina nas 23 cadelas com piometra estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão encontrados para GGTu, densidade urinária e as dosagens séricas da uréia e creatinina nas 23 cadelas com piometra.

	Médias ± Desvio Padrão
GGTu (UI/L)	180,17 ±176,79
Densidade urinária	1.015 ±6,73
Uréia sérica (mg/L)	60,39 ± 55,4
Creatinina sérica (mg/L)	1,38 ± 0,94

Foi observada densidade urinária menor que 1.015 em 61% (14/23) das cadelas com piometra analisadas, sendo que 26% (6/23) das cadelas com piometra apresentaram isostenúria que é definida por uma densidade urinária entre 1.008 e 1.012. Foi considerada proteinúria quando encontrado valor acima de 30mg/dL (+) de proteína na urina, valores estes identificados em 65% (15/23) das cadelas estudadas.

Dentre os animais estudados, todos os animais apresentaram aumento de uréia com média de 60,39 mg/dL e 22% (5/23) apresentaram aumento de creatinina com média de 1,38 mg/dL no soro em relação aos valores médios para espécie considerados normais por Kaneko et al. (2008), respectivamente 10 a 28 mg/dL e 0,5 a 1,5mg/dL.

As concentrações médias de GGTu obtidas dos animais doentes foram consideradas estatisticamente diferentes em relação ao grupo de animais não doentes (p= 0,0021). (Tabela 2).

Tabela 2. Médias obtidas de GGTu, comparadas entre os animais doentes (piometra) e não doentes (grupo controle).

	Médias (UI/L)	Desvio Padrão
Animais doentes	180,17 ^a	264,9
Animais sadios	33,89 ^b	21,5

Letras diferentes dentro da mesma linha apresentam diferença estatística entre si (p<0,05) no teste de Mann-Whitney.

Os valores de GGTu apresentaram-se aumentados (180,17UI/L) em 43% (10/23) das cadelas com piometra estudadas em relação aos valores normais (13 a 92UI/L) considerados por Schepper et al. (1989) sendo que 70% (7/10) dos animais que apresentaram aumento de GGTu não

² Kit GGT, uréia e creatinina cinética - Bioclin

³ Cobas Mira Plus CC- Roche

⁴ Urofitá - Bioclin

apresentaram aumento concomitante de creatinina sérica.

Foi determinada a correlação entre os níveis de uréia e creatinina sérica e a enzímúria e a determinação dos níveis de significância entre as variáveis estudadas. A fraca correlação (0,3055) entre uréia e creatinina sérica ($p=0,0759$) e também a baixa correlação entre a creatinina sérica e a GGTu, ($p=0,2684$) encontrada, indicam que o aumento de uma ou outra variável são independentes entre si. O mesmo foi observado quando foram verificadas as correlações entre a uréia sérica e a GGTu ($p=0,0036$).

DISCUSSÃO

A diminuição da densidade urinária encontrada nas cadelas com piometra está relacionada a redução da capacidade renal de concentrar a urina e ao filtrado glomerular que passa pelos túbulos renais sem sofrer reabsorção, sendo eliminado na mesma concentração que o filtrado glomerular (OSBORNE & POLZIN, 1983). Dibartola (2000) afirma que em praticamente 90% das cadelas com piometra a densidade específica da urina encontra-se com valores inferiores a 1.020, resultando em poliúria e polidipsia compensatória, sinal clínico comum na piometra, porém, no início do processo infeccioso, a densidade urinária pode ser superior a 1.035 devido à retenção de água pelo organismo diante de um processo de desidratação (DIBARTOLA, 2000). Este aumento da densidade urinária específica indica que ainda há número suficiente de néfrons para promover a concentração da urina, em um mecanismo compensatório do organismo que, aumenta a secreção do hormônio antidiurético (ADH) para reduzir a excreção de água e manter o volume e a perfusão sanguínea adequada para a grande circulação (HARDY & OSBORNE, 1974). No entanto, em casos de toxemia e principalmente quando há infecções uterinas causadas por *E. coli*, posteriormente poderá haver redução da densidade urinária (diabetes insípido nefrogênico). Neste caso, os rins reduzem sua capacidade de concentração urinária por inibição do ADH e a deposição de toxinas nos túbulos renais impedem a absorção de sódio e cloretos, o que

aumenta a osmolaridade urinária e a diurese (DIBARTOLA, 2000).

A proteinúria é indicativa de lesão glomerular quando valores elevados de proteína são encontrados em urinas de densidade específica baixa, indicando que há comprometimento da permeabilidade glomerular, com redução da capacidade de concentração urinária e diminuição da função tubular de reabsorção (HARDY & OSBORNE, 1974; DIBARTOLA, 2000; MADDENS et al. 2011b). Quando a proteinúria é observada juntamente com aumento de células leucocitárias e de hemácias na urina, há indícios de doença glomerular, ou pode apenas representar um processo inflamatório no trato urinário inferior (HARDY & OSBORNE, 1974). Os valores encontrados para a proteinúria foram semelhantes aos descritos por Maddens et al. (2011a) que observou proteinúria em 50% das cadelas com piometra.

Embora a azotemia seja demonstrada em menos de um terço das cadelas com piometra, a função renal fica comprometida na maioria dos animais uma vez que há diminuição da perfusão renal devido à hipovolemia (FRANSSON, 2003). Semelhante ao encontrado neste trabalho, Maddens et al. (2011a) observou azotemia em 13% das cadelas com piometra.

O aumento dos níveis GGTu pode ser observado poucas horas após a injúria renal, enquanto que os níveis séricos de uréia e creatinina, que são produtos do metabolismo protéico, elevam-se após um longo período de tempo após a lesão renal inicial (GRECO et al., 1985). Melchert et al. (2007) e Hennemann et al. (1997) induziram glomerulonefrite em cães e observaram azotemia somente após seis e doze dias respectivamente de tratamento com doses nefrotóxicas de gentamicina.

Segundo Greco et al. (1985), cães com IRA experimentalmente induzida pela administração de gentamicina apresentaram aumento da atividade da GGTu três dias antes da detecção do aumento da creatinina sérica, e um dia e meio antes do aparecimento de cilindros no sedimento urinário. A determinação da GGTu é um método seguro e não invasivo, mais sensível para a detecção de lesões tubulares precoces em relação

as dosagens de uréia e creatinina séricas ou urinálise (MELCHERT et al., 2007), podendo inclusive, ser utilizada para o controle clínico em pacientes que estejam recebendo terapia com fármacos nefrotóxicos (GRECO et al., 1985).

A determinação da concentração da GGTu é um indicador seguro de dano renal e pode ajudar no diagnóstico de alterações antes mesmo que a função real esteja significativamente afetada (GRECO et al., 1985; SCHEPPER et al., 1989; HEIENE et al., 1991; HEIENE et al., 2001; UECHI et al., 1994; HENNEMANN et al., 1997; CLEMO, 1998). Segundo Hennemann et al. (1997) e Veado (2007). A GGTu pode ser portanto utilizada como um marcador para a determinação de lesões do parênquima renal, uma vez que de acordo com Palm (2012) somente será observado aumento de creatinina no soro quando houver comprometimento de mais de 75% da função renal.

A GGTu não é filtrada pelos capilares glomerulares intactos devido ao seu alto peso molecular e portanto a presença desta enzima em altas concentrações na urina, é um forte indicativo de lesão ou necrose de túbulos proximais (GRECO et al., 1985; SCHEPPER et al., 1989; HEIENE et al., 1991; HEIENE et al., 2001; UECHI et al., 1994). Contudo, quando há morte celular como no caso de insuficiência renal crônica (IRC), as enzimas urinárias são esgotadas à medida que os túbulos renais são destruídos, causando diminuição da enzimúria (GRECO et al., 1985).

As manifestações clínicas em pacientes com falência renal assim como a elevação dos níveis plasmáticos de uréia e creatinina ocorrem tardiamente e não podem ser usados como alerta à intervenção e reversão da lesão (GRECO et al., 1985). O diagnóstico precoce da lesão renal e a prevenção da evolução para a insuficiência renal são imprescindíveis para a sobrevivência de cadelas com piometra e assim, possibilita uma intervenção terapêutica precoce e melhor resposta ao tratamento clínico.

CONCLUSÕES

A mensuração da atividade de GGTu na urina é um teste laboratorial sensível para a detecção de lesão tubular

aguda em relação as dosagens séricas de uréia e creatinina, quando se pretende detectar precocemente a presença de lesão tubular em cadelas com piometra.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O projeto foi submetido ao Comitê de ética em experimentação animal (CETEA-UFMG) sob protocolo nº 126/2008.

Gama-glutamyltransferase assessment in the urine of female dogs with pyometra

ABSTRACT

Female dogs with pyometra may present tubular injuries caused by deposition of immune complexes that promote the development of primary glomerular disease, interstitial tubular injury, azotemia and reductions in the capacity for urinary concentration in the renal tubules and in the capacity for glomerular filtration. Considering the importance of early detection of renal tubule lesions in dogs with uterine infection, this study aims to determine the concentration of GGTu in the urine of 23 dogs aged between three and 13 years, diagnosed with pyometra. We determined serum levels of urea and creatinine and concentration of the enzyme GGTu in urine, by the colorimetric method, and the absorbance by spectrophotometry in automatic apparatus. The urinary density and presence of urinary protein excretion were measured using a urine reagent strip. Mean urinary density was 1,015 and urinary protein excretion was found in 65% (15/23) of animals. Elevated levels of urea were observed in all animals and of creatinine in 22% (5/23) of the animals studied, with the mean values being equal to 60.39 mg/dL and 1.38 mg/dL, respectively. Among the dogs evaluated with pyometra, 43% (10/23) showed an increase of GGTu, with a mean of 180U/L. Elevated GGTu without concomitant increase in serum creatinine was observed in 70% of animals (7/10), indicating that the measurement of the activity of GGTu in urine is a more appropriate laboratory test for the detection of acute tubular injury in dogs with pyometra than measuring urea and

creatinine in the serum, when trying to detect the presence of tubular injury.

Keywords: *Canis familiaris*. Enzymuria. Uterine infection. Renal biomarkers.

REFERÊNCIAS

- CLEMO, F. A. Urinary enzyme evaluation of nephrotoxicity in the dog. **Toxicologic Pathology**, Thousand Oaks, v. 26, n. 1, p. 29-32, 1998.
- DE CARVALHO, J. A. M.; BOCHI G. V.; SANGOI, M. B.; MORESCO, R. N. Assessment of urinary γ -glutamyltransferase in type 2 diabetic patients with glomerular hyperfiltration. **Clinica Chimica Acta**, v. 413, p. 817-818, 2012.
- DiBARTOLA, S. P. Clinical approach and laboratory evaluation of renal disease. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Ed.). Textbook of veterinary internal medicine. 5th ed. Philadelphia: Saunders, 2000. p. 1600- 1614.
- FRANSSON, B.A. **Sistemic inflammatory response in canine piometra - The response to bacterial infection**. 2003. 48f. Doctoral thesis. Department of Small Animal Clinical Sciences - Swedish University of Agricultural Sciences, Washington State University, Pullman, WA, , USA, 2003.
- GARRY, F.; CHEW, D. J.; HOFFIS, G. F. Urinary indices of renal function in sheep with induced aminoglycoside nephrotoxicosis. **American Journal of Veterinary Research**, Philadelphia, v. 51, n. 3, p. 420-427, 1990.
- GRAUER, G. F.; THOMAS, C. B.; EICKER, S. W. Estimation of quantitative proteinuria in the dog, using the urine protein-to-creatinine ratio from random, voided sample. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 46, n.10, p. 2116 - 2119, 1985.
- GRECO, D. S.; TURNWALD, G. H.; ADAMS, R. Urinary gama-glutamyl-transpeptidase activity in dogs with gentamicin induced nephrotoxicity. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 11, n.46, p. 2.332-2.335, 1994.
- HARDY, R. M.; OSBORNE, C. A. Canine piometra: pathophysiology, diagnosis and treatment of uterine and extra-uterine lesions, **Journal of the American Animal Hospital Association** Lakewood, v. 1, p. 245-268, 1974.
- HEIENE, R.; BIEWWENGA, W.J.; KOEMAN, J.P. Urinary alkaline phosphatase and gama-glutamyl-transferase as indicator of acute renal damage in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 32, p.521-524, 1991.
- HEIENE, R; MOE, L.; MOLMEN, G. Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra. **Research in Veterinary Science**, London, v.70, p. 129- 137, 2001.
- HENNEMANN, C. R. A.; SILVA, C. F.; SCHOENAU, W.; KOMMERS, G. D.; POLYDORO, A. 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**, Santa Maria, v. 27, n. 2, p. 237-244, 1997.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press. 2008.
- KIRBY, R. Acute renal failure as a complication in the critical animal. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v.19, n.6, p. 1189-1208, 1989.
- LABATO, MA. Urologic emergencies. In: Murtaugh, R.; Kaplan, P.M. Veterinary emergency and critical care. Saint Louis: Mosby-year Book, 1992.
- MADDENS, B.; HEIENE, R.; SMETS, P.; SVENSSON, M.; ARESU, L.; VAN DER LUGT, J.; DAMINET, S.; MEYER, E. Gama-glutamyl transpeptidase urinária como indicador de insuficiência renal aguda induzida por gentamicina em cães. **Arquivo de Ciências Veterinárias e**

Zoologia, Umuarama, v. 10, n. 2, p. 111-116, 2011a.

MADDENS, B.; HEIENE, R.; SMETS, P.; SVENSSON, M.; ARESU, L.; VAN DER LUGT, J.; DAMINET, S.; MEYER, E. Evaluation of Kidney Injury in Dogs with Pyometra Based on proteinuria, Renal Histomorphology, and Urinary Biomarkers. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 25, p.1075–1083, 2011b.

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

SILVA-MOLANO, R. F.; LOAIZA-ECHEVERRI, A. M. Piómetra en animales pequeños **Revista Veterinária y Zootecnia de Caldas**, Colômbia, v. 1, n. 2, p. 71-86, 2007.

OLIVEIRA, K. S. Complexo hiperplasia endometrial cística. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 2, n. 35, p.270 - 272, 2007.

PALM, C. A. Application of Novel Biomarkers in Dogs with Experimental Acute Kidney Injury. In: **Advanced Renal Therapies Symposium**. Anais, New York, New York. p. 26-27, 2012.

SANDHOLM, M.; VASENIUS, H.; KIVISTO, A. K. Pathogenesis of canine pyometra. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Lakewood, v.167, n.11, p.1006-1010, 1975.

SCHEPPER, J.; DE COCK, I.; CAPIAU, E. Urinary gama-glutamyl-transpeptidase and degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. **Research in Veterinary Science**, London, v.46, n.396- 400, 1989.

SEGEV, G. Overview of biomarkers in acute kidney injury. In: **Advanced Renal Therapies Symposium 2012**. Anais, New York, New York. p. 12-16, 2012.

STONE, E. A.; LITTMAN, M. P.; ROBERTSON, L. J.; BOVEE, K. C. Renal dysfunction in dogs with pyometra. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Lakewood, v. 193, n. 4, p. 457-464, 1988.

UECHI, M.; NOGAMI, Y.; TERUL, H. et al. Evaluation of urinary enzymes in dogs with early renal disorder. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 56, p. 555-556, 1994.

VEADO, J.C.C. Nefrologia em medicina veterinária: alterações renais e Renoproteção. **Revista Veterinária E Zootecnia Em Minas**, Belo Horizonte, MG: Conselho Regional de Medicina Veterinária de Minas Gerais, v. 27, n. 94, p. 19-23, 2007.