

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

ANDREZZA CAVALCANTI DE ANDRADE

**Mensuração de biomarcadores na identificação precoce de lesão renal em cadelas com  
piometra**

Viçosa-AL

2021

ANDREZZA CAVALCANTI DE ANDRADE

**Mensuração de biomarcadores na identificação precoce de lesão renal em cadelas com  
piometra**

Dissertação de mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em Ciência  
Animal da Universidade Federal de Alagoas,  
como requisito para obtenção do título de  
Mestre em Ciência Animal.

**Orientadora: Profa. Dra. Márcia Kikuyo  
Notomi**

Viçosa-AL

2021

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
Bibliotecário: Stefano João dos Santos

A554m     Andrade, Andrezza Cavalcanti de.  
              Mensuração de biomarcadores na identificação precoce de lesão renal em cadelas com piometra / Andrezza Cavalcanti de Andrade. – 2021.  
              58 f. : il.

Orientadora: Márcia Kikuyo Notomi.  
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Inovação e Tecnologia Integrada à Medicina Veterinária para o desenvolvimento Regional. Viçosa, 2021.

Bibliografia: f. 43-49.  
Apêndices: f. 50-56.  
Anexos: f. 57-58.

1. Injúria renal aguda. 2. Afecção reprodutiva. 3. Marcadores renais.  
I. Título.

CDU: 636.39

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, ao meu marido Natan, por me incentivar em mais uma etapa na minha vida. Pelo companheirismo e conselhos, por sempre estar ao meu lado. Amo você!

Aos meus amados pais, José e Elenira, que sempre me apoiaram e por torcer e acreditar no meu crescimento profissional. “Véios”, amo vocês!!!

A minha querida orientadora, Márcia Notomi, que tive o prazer de conhecer, pelos ensinamentos e encorajamento, pelos incentivos, confiança e por me proporcionar amadurecimento profissional, além de ampliar a paixão pela nefrologia. Minha imensa admiração!!! Muito obrigada Professora!!!

A toda equipe do Centro de diagnóstico Veterinário CENTROVET/Arapiraca, a Sandra Trindade, Patrícia Magalhães, em especial, a Patologista Érica Pereira pela parceria e todo o suporte na execução do projeto. Sua assistência foi fundamental para o andamento das análises e êxito no trabalho. Muito obrigada! À Ultrassonografista Joana D’Arc, pelo apoio irrestrito e pela confiança no projeto. À Radiologista Priscila Leal, pela ajuda e disponibilidade. Obrigada moças!!!

Ao Laboratório de Microbiologia da UFAL, a Professora Karla Silva e aos alunos de graduação Heloisa e Guilherme pela parceria.

Ao Hospital Veterinário É o bicho/Arapiraca, os Médicos Veterinários, Fabrícia Omena por permitir o acesso ilimitado aos pacientes e instalações; a querida Fabiana Gama, pela paciência, apoio com os pacientes e todo o suporte nas coletas dos materiais. A Franklin Leão, Elizabeth Simões e Wellington Monteiro por toda ajuda fornecida e disponibilidade em auxiliar o projeto.

Ao Centro Médico Veterinário PetAki/Arapiraca, especialmente, ao Médico Veterinário Daniel Acioli pela compreensão e apoio na realização deste projeto. E a toda equipe médica e demais profissionais.

A Clínica Veterinária Bicho de Patas/Arapiraca, a querida Alexandra Nogueira, por permitir a realização dos acompanhamentos médicos, pela confiança no projeto, pela gentileza e parceria na execução de análises fundamentais da dissertação. Muitíssimo obrigada!!!

Aos Médicos Veterinários Rusley Queiroz, Silmara Santos e Karina Pessoa pelo apoio e disponibilidade para o andamento do projeto.

Ao corpo docente do Programa de Ciência Animal/UFAL, especialmente, aos Professores Diogo Câmara e Thiago Barros, membros da banca de qualificação.

As Professoras Miriam Teixeira e Fabíola Paes Leme, pela participação como membros da banca da dissertação, pela disponibilidade e enriquecimento do trabalho. Muito obrigada!

Aos colegas do Mestrado, ao querido amigo Álvaro Ribeiro, Anne Caroline, Alana Barros, Arlan Nunes, Mik Suellen, Viviane Barros, Caroline Canesin, Vivian Amorim, Márcio Calixto, Lucas Fonseca e Ximenes Marques (*in memoriam*) pelo convívio durante esses dois anos. A graduanda Mayara Lúcio, pela gentileza em abrir as portas da sua casa e por toda ajuda durante o mestrado.

A todos os tutores dos animais envolvidos no estudo, pela compreensão, paciência e por acreditar em nosso propósito científico. E a elas, as estrelas deste projeto, as cadelas Saory, Belinha Oliveira, Lolla, Wendhy, Menininha, Lesse, Lua, Bia, Nina, Bebê, Lupita, Pandora, Belinha e Neguinha.

A CAPES pela concessão da bolsa, fundamental para realização e execução do projeto. Muito obrigada!!!

## RESUMO

A piometra é uma doença reprodutiva comum em cães fêmeas intactas e consiste em infecção uterina, frequentemente acometida por bactérias *Escherichia coli* (*E. coli*), com formação de secreção purulenta, que pode gerar disfunções glomerulares e/ou tubulares, ou ambas, mesmo após a realização do ovário histerectomia (OH). A proteinúria é identificada em aproximadamente metade das cadelas com piometra, geralmente leve e frequentemente transitória. Entretanto, aproximadamente, 8% dos cães com piometra por *E. coli* desenvolvem insuficiência renal pós histerectomia. Em estudos retrospectivos foram relatos injúrias renais em paciente submetidos ao procedimento cirúrgico, em virtude do diagnóstico da piometra como enfermidade primária, porém não há consenso acerca dos níveis de comprometimentos glomerulares. Atualmente, os métodos de diagnósticos utilizados, a concentração de ureia e creatinina séricas, são tardios e as elevações significativas desses bioquímicos somente são identificados quando aproximadamente 75% dos néfrons já estão acometidos. Estudos têm demonstrado que novos marcadores, como a Dimetilarginina simétrica (SDMA) sérica e o Gama Glutamil Transferase urinária (uGGT), podem ser mais precoces na identificação da injúria renal que a creatinina sérica (sCr), o parâmetro rotineiramente utilizado. Assim como, a relação proteína:creatinina urinária (uPC) que são marcadores importantes no dano estrutural dos néfrons. Estudos demonstraram o aumento do SDMA em 25% de redução da filtração glomerular; já o uGGT pode ser identificada na urina em lesões de células tubulares. A uPC, apesar de considerado precoce na identificação danosa, não determina a localização do insulto renal. A antecipação na detecção da lesão renal é essencial para uma rápida adaptação do tratamento, evitando consequências severas e/ou irreversíveis, como a insuficiência renal, e assim, possibilitando o aumento na taxa de sucesso do tratamento.

**Palavras-chave:** Injúria renal aguda; Afecção reprodutiva; Marcadores renais.

## ABSTRACT

Pyometra is a common reproductive disease in intact female dogs and consists of uterine infection, frequently affected by *Escherichia coli* (*E. coli*) bacteria, with formation of purulent secretion, which can generate glomerular and / or tubular dysfunctions, or both, even after performing the hysterectomy (OH) ovary. Proteinuria is identified in approximately half of bitches with pyometra, which is generally mild and often transient. However, approximately 8% of dogs with pyometra by *E. coli* develop renal failure after hysterectomy. In retrospective studies, kidney injuries were reported in a patient undergoing the surgical procedure, due to the diagnosis of pyometra as a primary disease, but there is no consensus about the levels of glomerular involvement. Currently, the diagnostic methods used, the concentration of serum urea and creatinine, are late and the significant elevations of these biochemicals are only identified when approximately 75% of the nephrons are already affected. Studies have shown that new markers, such as serum symmetric Dimethylarginine (SDMA) and the Urinary Glutamyl Transferase (uGGT) range, may be earlier in identifying renal injury than serum creatinine (sCr), the parameter routinely used. As well as the protein: urinary creatinine (uPC) ratio, which are important markers in the structural damage of the nephrons. Studies have shown an increase in SDMA by 25% reduction in glomerular filtration; uGGT can be identified in urine in lesions of tubular cells, since it is an enzyme present inside these cells. The UPC, although considered early in the harmful identification, does not determine the location of the renal insult. Anticipating the detection of kidney injury is essential for a quick adaptation of the treatment, avoiding severe and / or irreversible consequences, such as renal failure, and thus, allowing an increase in the treatment success rate.

**Keywords:** Acute kidney injury; Reproductive disorder; Renal markers.

## LISTA DE TABELA

<b>Tabela 1.</b>	Parâmetros bioquímicos séricos expressas em média, desvio padrão, valor mínimo e máxima e comparadas entre os tempos (T0, T1 e T2) de cadelas com piometra.	29
<b>Tabela 2.</b>	Parâmetros bioquímicos urinários expressas em média, desvio padrão, valor mínimo e máxima e comparadas entre os tempos (T0, T1 e T2) de cadelas com piometra.	30



## LISTA DE FIGURA

- Figura 1.** Região capilar e patogênese da glomerulonefrite membranosa proliferativa associada à infecção com (A) imunocomplexos circulantes contendo endotoxinas e anticorpos em endotélio. (B) Proliferação de células mesangiais e infiltração de leucócitos. MBG: Membrana basal glomerular. 15
- Figura 2.** Alterações patológicas nas células tubulares renais após insulto local. 21

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADH	Hormônio anti-diurético
ADMA	Dimetilarginina assimétrica
DRC	Doença renal crônica
GGT	Gama glutamil transferase
HEC	Hiperplasia endometrial cística
IgA	Imunoglobulina A
IL	Interleucina
IRA	Injúria renal aguda
IRIS	Internacional renal interest society
LVC	Leishmaniose visceral canina
MODS	Síndrome da disfunção de múltiplos órgãos
OH	Ovário histerectomia
ON	Óxido nítrico
sCr	Creatinina sérica
SDMA	Dimetilarginina simétrica
SIRS	Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
TFG	Taxa de filtração glomerular
uCr	Creatinina urinária
uGGT	Gama glutamil transferase urinária
uGGT/sCr	Relação gama glutamil transferase/creatinina urinárias
uPC	Relação proteína/creatinina urinárias

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
2.1 Piometra em cadelas .....	14
2.2 Injúria renal aguda secundária em cadelas com piometra .....	17
2.3 Biomarcadores renais.....	20
2.3.1 Biomarcador sérico .....	21
2.3.1.1 Dimetilarginina simétrica (SDMA) .....	21
2.3.2 Biomarcadores renais urinários.....	23
2.3.2.1 Relação proteína:creatinina urinárias (uPC) .....	23
2.3.2.2 Gama glutamil transferase urinária (uGGT).....	24
<b>3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>26</b>
<b>4. ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>27</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>28</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>50</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>57</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre as afecções reprodutivas, a piometra é a complicação mais comum na clínica de pequenos animais, e trata-se da proliferação de bactérias oportunistas na região uterina, com formação de secreção purulenta em um ambiente considerado estéril (GOPAL et al., 2018). São diagnosticadas, frequentemente, em cadelas e gatas não castradas, sendo relatado que 25% da população das fêmeas caninas reprodutivamente intactas desenvolveram piometra até os 10 anos de idade, podendo chegar a 50% das fêmeas de algumas raças específicas (GOPAL et al., 2018).

Uma importante complicação dessa afecção é a insuficiência renal, provocada pela deposição de imunocomplexos nos glomérulos, decorrente da liberação de endotoxinas (FIGUEIREDO et al., 2017), e a identificação de injúria renal aguda (IRA) precoce é primordial para a instauração do tratamento adequado e sobrevida do paciente, sabendo que 50% dos pacientes acometidos por esta condição podem vir a óbito (YU et al., 2002; SANTOS, 2014).

A ovariectomia (OV) é o tratamento mais seguro e eficiente (HAGMAN, 2018) nessa afecção, no entanto, relato de persistência à poliúria, polidipsia e proteinúria após o procedimento cirúrgico chegaram a 12%, onde 5% (2/41) desses animais foram a óbito devido ao agravamento da doença renal crônica (DRC) no período de 3 anos do tratamento pós-cirúrgico. A DRC atingiu 8% (2/25) das cadelas após piometra com o envolvimento da bactéria *E. coli* (MADDENS et al., 2010).

Atualmente, os parâmetros utilizados no diagnóstico da IRA e DRC incluem as concentrações de creatinina (sCr) e ureia séricas (COBRIN et al., 2013). A mensuração direta da taxa de filtração glomerular (TFG) é considerado o padrão-ouro na medicina humana pela avaliação quantitativa da filtração renal, entretanto, não é utilizado na rotina clínica da medicina veterinária devido a necessidade de obtenção de várias coletas cronometradas de amostras sanguíneas e urina, o que inviabiliza a execução na clínica médica (COBRIN et al., 2013; PRESSLER, 2013). A avaliação da concentração de sCr é uma forma de estimativa indireta da TFG, cujo peso molecular permite a sua reabsorção pelos glomérulos, possibilitando a relação inversa dos parâmetros, onde o nível de sCr aumenta exponencialmente à medida que a TFG diminui (GRAUER, 2016).

Os biomarcadores renais são conhecidos por possibilitar a diferenciação de comprometimentos renais agudos ou crônicos, e permitir a descoberta precoce de danos renais (KOENHEMSI et al., 2016). Nos casos de piometra, o diagnóstico precoce da injúria renal vem

sendo estudado através de bioquímico urinário (gama glutamil transpeptidase urinária (uGGT) e relação proteína:creatinina urinárias (uPC) entre outros com resultados promissores (FIGUEIREDO et al., 2017).

A enzima uGGT auxilia na avaliação da função tubular, por estar presente no interior das células do epitélio do túbulo renal proximal e alça de Henle, e sua presença constatada na urina horas após o dano estrutural (VEADO, 2007). As concentrações dessa enzima tornam-se mais elevadas em situações de necrose das células tubulares (BRUNKER et al., 2009; ANDRADE et al., 2014; BARBOZA et al., 2016).

A avaliação da uPC pode auxiliar a detecção de transtornos importantes nos néfrons, a partir da presença de proteína na urina que pode indicar dano glomerular e/ou tubular, pela falha na taxa de filtração glomerular (TFG) e dificuldade de reabsorção, respectivamente, sem determinar a origem da lesão (MADDENS et al., 2011).

A dimetilarginina simétrica (SDMA) é uma pequena molécula formada pela metilação da arginina e liberada no sangue durante a degradação da proteína. A SDMA é eliminada principalmente por excreção renal e é um promissor marcador endógeno da taxa de filtração glomerular (TFG). Estudos com cães verificou que a SDMA detectou consistentemente a perda inferior 30% da função renal, portanto, aparentemente, melhor na identificação de DRC comparativamente aos 75% de acometimento necessários para elevação da sCr (NABITY et al., 2015).

A mensuração de biomarcadores renais pode evidenciar a IRA e DRC, e viabiliza a precocidade na detecção da lesão renal (DALHEM et al., 2017). Em cães e gatos, a SDMA demonstra eficácia na avaliação do comprometimento da disfunção renal, recomendado pela Internacional Renal Interest Society (IRIS), que estabelece as diretrizes em insultos crônicos (IRIS, 2019).

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o comprometimento renal secundária a piometra em cadelas, utilizando técnicas de identificação de lesão precoce com o intuito de esclarecer acerca da sensibilidade desses biomarcadores renais nesta afecção reprodutiva.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Piometra em cadelas

A piometra é uma doença inflamatória do útero acompanhada de acúmulo de exsudato mucopurulento, provocado por microrganismos invasores (HAGMAN, 2014) sendo a *Escherichia coli* (*E. coli*) o agente mais comumente identificado no lúmen uterino devido a infecção ascendente das bactérias, oriundas da vagina e vestibulo vaginal (HAGMAN, 2005).

As maiores ocorrências de piometra são em cadelas não castradas, e raros casos entre as gatas, devido a menor dependência da progesterona e a ovulação induzida (HAGMAN, 2014), todavia, acredita-se que o desenvolvimento entre as espécies ocorra com as mesmas características (HAGMAN, 2018). A enfermidade possui predileção entre as fêmeas de meia-idade a idosas (JITPEAN et al., 2012; JITPEAN; STROM-HOLST et al., 2014), no entanto há relatos de ocorrência em animais jovens submetidos a hormônios exógenos e em cadelas com irregularidade do ciclo estral (OLIVEIRA, 2015). Desenvolve-se na fase lútea, geralmente após dois a quatro meses do término da fase estral (HAGMAN, 2014; HAGMAN, 2018), e acredita-se que fatores genéticos possam estar envolvidos com a ocorrência da enfermidade (JITPEAN et al., 2012; HAGMAN, 2014).

A afecção pospor-se a Hiperplasia endometrial cística (HEC) que é uma alteração endometrial, em virtude da atuação exacerbada da progesterona com estimulação da atividade das glândulas endometriais (KREKELER, MARENDIA et al., 2012; OLIVEIRA, 2015). O espessamento da mucosa uterina se dá pelo aumento na quantidade de glândulas locais, além da ampliação destas estruturas em formas císticas, promovendo a elevação da secreção fluida no lúmen uterino. O aumento da produção endógena de prostaglandinas (NOAKES, 2001; VERSTEGEN, 2008), como resposta ao processo inflamatório, pode desencadear alterações uterinas e presença de mucometra ou hidrometra, dependendo da viscosidade do fluido (OLIVEIRA, 2015). Porém alguns autores classificam o fator etiológico da HEC - piometra um tema não totalmente elucidado (VEIGA et al., 2017).

O envolvimento bacteriano e a interação hormonal são elementos que contribuem para a instalação da piometra, em consideração a predisposição elevada do indivíduo, assim como, a virulência das bactérias e a ação da progesterona, são de extrema importância para a instalação da afecção (KREKELER; LODGE et al., 2012). A elevação da progesterona favorece a aderência da *E. coli* em receptores específicos do endométrio (SANDHOLM et al., 1975),

promovendo a fixação das bactérias à parede uterina e reduzindo a ação do sistema imunológico do animal (CHAN et al., 2000). A *E. coli* pode ser identificada em infecções concomitantes de vesícula urinária e na região uterina em cadela com piometra, apresentando características de virulência semelhantes em ambos os órgãos, indicando a mesma origem (MATEUS et al., 2013).

A piometra pode ser diferenciada de acordo com a característica da cérvix, podendo apresentar-se aberta ou fechada. A secreção purulenta tende a drenar espontaneamente com a passagem cervical aberta, que denota menor gravidade, entretanto, a presença de cérvix fechada é um fator de complicações mais significativas (JITPEAN et al., 2014).

As manifestações clínicas podem ser anorexia/hiporexia, poliúria, polidipsia, como evolução para êmese, diarreia, depressão, apatia e secreção vaginal mucopurulenta, sanguinolenta ou purulenta com lambadura excessiva da região em cadela com piometra aberta (OLIVEIRA, 2015; HAGMAN, 2018). A hipertermia pode não estar presente, assim como a distensão abdominal, mais frequente em casos de piometra fechada avançada (OLIVEIRA, 2015). Segundo Jitpean, Ström-Holst e colaboradores (2014), a peritonite é uma complicação factível em cadelas com a enfermidade, que pode causar agravamento no quadro clínico e aumentar as chances de morte do indivíduo.

As alterações sistêmicas ocorrem aliados a mudanças hematológicas como a leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda, monocitose e neutrófilos tóxicos, além de anemia normocítica normocrômica devido a diminuição da eritropoese pela toxicidade na medula óssea (OLIVEIRA, 2015; JITPEAN et al., 2017). Pode ocorrer leucopenia em casos mais agravados, assim como alterações bioquímicas séricas de ureia e creatinina (azotemia), associado pela desidratação ou níveis elevados de toxicidade oriundos da infecção uterina (OLIVEIRA, 2015). Em cadela não azotêmicas a filtração glomerular também é afetada, o que sugere que a piometra interfere na perfusão renal. Na azotemia pré-renal, a intervenção com tratamento intensivo de fluidoterapia pode evitar comprometimento na funcionalidade renal, e quando agravado, a associação pode gerar quadros de sepse, choque séptico e óbito do animal (SANT'ANNA et al., 2014; JITPEAN et al., 2017).

O diagnóstico presuntivo é baseado no histórico clínico, sinais clínicos e exames complementares e, normalmente, é considerado simples em casos de piometra aberta pela visualização do corrimento vaginal (HAGMAN, 2018). O exame imagiológico é de extrema importância para determinar o tamanho uterino e avaliar anormalidade existentes no órgão, porém mucometra, hidrometra e hemometra devem ser diferenciadas (KINNIS; NELSON, 2014). Na radiografia abdominal é visualizado o aumento uterino com aspecto radiopaco entre

as regiões hipogástrica e mesogástrica. Em cadelas gestantes de até 45 dias podem apresentar características semelhantes, pela ausência da mineralização fetal (LOPATE, 2018). O diagnóstico diferencial deve ser realizado em fêmea com alguns dos sinais clínicos durante o diestro. Essa fase se estende até 80 dias após o estro, pode ser confirmada a partir da citologia vaginal com a predominância de células intermediárias e neutrófilos (CONCANNON, 2011), e descartar causas de origem vaginal com vaginite, neoplasia e corpo estranho em suspeitas de cérvix aberta (JITPEAN et al., 2017).

A piometra representa uma emergência médica com evolução clínica acelerada, o que potencializa a magnitude da doença, com alterações eletrolíticas e desenvolvimento de choque séptico (BARSANTI, 2012; CONTI-PATARA et al., 2012). A correção dessas desordens são através de fluidoterapia endovenosa estabelecidas no pré-cirúrgico, a fim de manter a perfusão tecidual, melhoria da filtração renal e quadro azotêmico (CONTI-PATARA et al., 2012). A escolha do tratamento da enfermidade consiste na gravidade, condição (aberta ou fechada), estado geral e aptidão reprodutiva da paciente. Em casos de cérvix aberta, o tratamento terapêutico pode ser instituído, desde que em animais jovens e saudáveis reprodutivamente, entando o protocolo medicamentoso deve ser cuidadosamente prescrito, mediante cultura bacteriana e antibiograma, e com acompanhamentos periódicos. A técnica cirúrgica de ovário histerectomia (OH) ainda é considerado o tratamento padrão-ouro na resolução da piometra com a retirada da fonte de infecção (FIENE; TOPIE; GOGNY, 2014; BATISTA; BLANCO; GOBELO, 2015).

Os cuidados pós-cirúrgicos aliados a antibioticoterapia são importantes para minimizar os danos provocados pelas endotoxinas das bactérias gram-negativas (OKANO; TAGAWA; TAKASE, 1998), além do monitoramento das funções renais, devido a possibilidade de complicações do trato urinário (EVANGELISTA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2019) intensificado pelos mediadores inflamatórios exacerbada (citocinas) e manifestações clínicas importantes, desencadeada pela Síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) e evolução para sepse (MEUNIER; BILLE, 2010).

A SIRS é a expressão da resposta inflamatória exercidas a partir de lesão ou infecção sistêmica, com desequilíbrio no controle de mediadores (anti e pró-inflamatórios) que elevam o quadro clínico e evolução do estado geral da paciente (KARLSSON et al., 2012; PIERINI et al., 2019). Segundo Hauptman e colaboradores (1997), as diretrizes estabelecidas para SIRS incluem elevação das frequências cardíaca e respiratória, alteração da temperatura corporal e concentrações de leucócitos. As citocinas mais produzidas nas cascatas inflamatórias a partir de doenças infecciosas são as interleucinas, majoritariamente, promovida pelos macrófagos,



seguido dos neutrófilos e eosinófilos (BRADY; OTTO, 2001). Em cadelas com piometra, algumas interleucinas (IL) podem ser consideradas marcadores séricos para avaliação de SIRS, como a IL-8 (HAAS; KAUP; NEUMANN, 2016) e IL-15 (KARLSSON et al., 2012). As complicações sistêmicas podem gerar potencialização da disfunção orgânica e desenvolvimento de sepse grave e síndrome da disfunção dos múltiplos órgãos (MODS) (BRADY; OTTO, 2001), entretanto, apesar da compreensão das características danosas, as intervenções desses acometimentos são meramente de suporte (ZENI; FREEMAN; NATANSEN, 1997).

A instalação da MODS ocorre em razão do agravamento da SIRS/sepse e pode corresponder ao acréscimo de 50% da mortalidade dos pacientes, porém a escassez de estudos na medicina veterinária dificulta a identificação de características peculiares (RABELO, 2013). As complicações de MODS, geralmente, manifestam-se de forma linear nos indivíduos, entre os sinais inclui a insuficiência hepática e renal através de hiperbilirrubinemia, azotemia e oligúria, respectivamente (BRADY; OTTO, 2001).

As desordens fisiopatológicas da sepse podem direcionar para alterações da IRA, com indicativos hemodinâmicos sistêmicos e locais, que compromete o prognóstico do animal (RABELO, 2013). Além da cascata inflamatória sistêmica, a ativação do mecanismo intrínseco, liberação de estresse oxidativo e hipóxia/apoptose tecidual renal favorecem no estabelecimento da perturbação aguda (VIEIRA JÚNIOR, 2014), que secundariamente, tem impacto elementar nas consequências da piometra, assim como a gravidade e letalidade das pacientes (SANT'ANNA et al., 2014).

## **2.2 Injúria renal aguda secundária em cadelas com piometra**

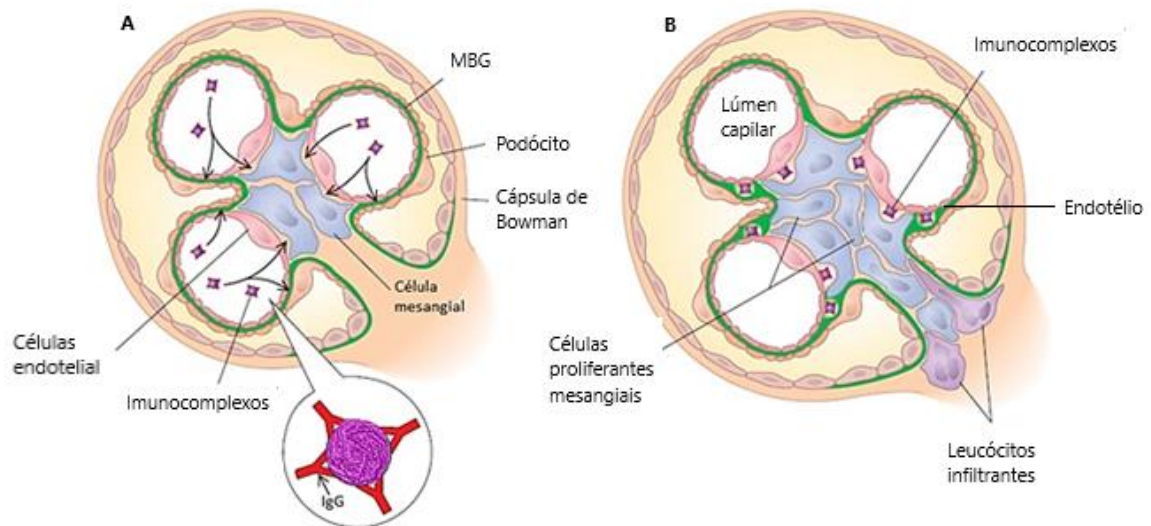
O principal agente envolvido na piometra o *E. coli*, é uma bactéria gram-negativa pertencente a microbiota vaginal, que possui interação pela mucosa uterina e, oportunamente, invade o lúmen no momento da abertura cervical (KALENSKI et al., 2012). Esse grupo de microrganismos apresentam elementos na parede celular caracterizadas por variações biológicas, que promovem ação pirogênica nos animais como indução ao choque, estimulando a liberação do sistema complemento e a produção de citocinas. Esses elementos são denominados de endotoxinas, que induz o surgimento de sinais clínicos e importantes alterações sistêmicas, e são liberados durante o crescimento ou após a morte bacteriana a partir da desintegração da mesma (OKANO; TAGAWA; TAKASE, 1998; HAGMAN et al., 2006). A

utilização de antibióticos bactericidas pode potencializar essa ação e estimular negativamente a eliminação desses elementos (FELDMAN; NELSON, 2004).

Segundo Okano, Tagawa e Takase (1998), as concentrações de endotoxinas em cadela com piometra estão ligados com a evolução da afecção e quantidade de conteúdo purulento no útero; o que são condições favoráveis ao surgimento de alterações renais nesses indivíduos, tanto quanto a deposição de imunocomplexos nos glomérulos, desencadeando a glomerulonefrite (figura 1). Entretanto, trabalhos posteriores contestam o envolvimento dessas estruturas, devido à similaridade histopatológica do parênquima renal em indivíduos hígidos e portadores da piometra, associando os danos aos padrões de senilidade (HEIENE, et al., 2007; MADDENS et al., 2010; MADDENS et al., 2011).

O comprometimento da função renal na piometra pode depender do tratamento instituído ou do avanço da doença, tornando a lesão reversível ou irreversível, IRA ou doença renal crônica (DRC), respectivamente (OLIVEIRA, 2007; FOSSUM, 2008). Estudos demonstram que a OH pode reduzir significativamente a taxa de concentração de endotoxinas após 24 horas (OKANO; TAGAWA; TAKASE, 1998), entretanto divergem de outras pesquisas que não apontam esse declínio (HAGMAN, 2004), o que pode ser justificado pela presença de bactéria Gram-positivas nos estudos (OKANO; TAGAWA; TAKASE, 1998; FIGUEREIDO et al., 2013). Todavia, para Sant'anna e colaboradores (2017), a piometra causada por infecção Gram-positiva também pode causar danos aos tecidos e levar à morte induzindo SIRS, lesão renal e choque, sendo necessário uma melhor avaliação da fisiopatologia da SIRS em cadela com infecção uterina oriundo dessas bactérias. Os agentes estafilococos e estreptococos são as bactérias Gram-positivas mais encontradas na secreção uterina de cadelas com piometra (VERSTEGEN et al., 2008; SANT'ANNA et al., 2017), porém são escassas as informações na literatura veterinária acerca dos mecanismos envolvidos na sepse a partir desses microrganismos (SPECHT et al., 2002).

**Figura 1:** Região capilar e a patogênese da glomerulonefrite membranosa proliferativa associada à infecção com (A) imunocomplexos circulantes contendo endotoxinas e anticorpos em endotélio. (B) Proliferação de células mesangiais e infiltração de leucócitos. MBG: Membrana basal glomerular.



Fonte: Adaptado de Bonegio e Salant (2011)

A prevalência de piometra ocasionado por *E. coli* se dá através da capacidade de adesão dos microrganismos aos receptores endometriais estimulados pela progesterona mediante à liberação das endotoxinas, que interfere na ação do hormônio antidiurético (ADH) prejudicando os rins na concentração de urina (VERSTEGEN et al., 2008). O bloqueio da reabsorção de sódio e cloreto pela alça de Henle, e consequentemente, falha na reabsorção de água nos túbulos coletores, são refletidos por sinais clínicos de poliúria e polidipsia compensatória (VERSTEGEN et al., 2008; DiBARTOLA, 2012). As alterações renais secundárias a piometra causadas por doenças tubulares e perda da capacidade de concentração urinária (GORI et al., 2019) são agressões localizadas em regiões distintas dos rins, o que destingem os níveis de gravidade funcional, com evolução ascendente e promissor da insuficiência renal (FIGUEREIDO et al., 2017).

A IRA é um complicador mais frequente entre as cadelas com piometra (SANT'ANNA et al., 2014), que interfere diretamente no prognóstico da paciente, tal como a endotoxemia e sepse, ampliando as taxas de mortalidade em 50% (SANTOS, 2014) até 76% (FERREIRA, 2006). Segundo Cowgill (2016), é definida pela disfunção estrutural dos rins de caráter agudo, que abrange lesões leves aos órgãos insuficientes. Pode ser acometido por causa primária ou secundária, e muitas vezes camuflados por enfermidades concomitantes, o que inviabiliza o diagnóstico prévio da desordem renal (THOEN; KERL, 2011), que são monitorados a partir da

alteração da concentração sérica de compostos nitrogenados não proteicos. Todavia, a ausência de azotemia (aumento sérico da ureia, creatinina ou ambos) não exclui a ocorrência de nefropatia, visto que são considerados marcadores tardios, e suas mensurações podem variar por estímulos não renais (SANTOS, 2013). Ainda assim, a utilização da dosagem de creatinina sérica segue como parâmetro para avaliação renal, embora a sua ascensão dar-se apenas com 25% do funcionamento renal (CHEW et al., 2011). Na piometra, os níveis azotêmicos ocorrem pela atuação no decréscimo na perfusão renal, devido aos danos cardiovasculares e hipovolemia que podem ser intensificados pela desidratação ocorrente a êmese, que caracteriza a desordem de causa pré-renal (OLIVEIRA, 2007; FOSSUM, 2008).

A azotemia refere-se à alteração laboratorial que necessita de investigação clínica e avaliação de exames complementares do paciente. Pode variar de pré-renal, renal ou pós-renal, como interferência ascendente, focal ou descendente aos rins, respectivamente. Podem ou não acompanhar as mudanças do funcionamento renal (CARVALHO, 2015), sendo a azotemia renal componente das diretrizes para a classificação de IRA e estadiamento da DRC pela IRIS (2019). A identificação dos tipos azotêmicos podem ser complexos quando associados a desidratação, e o restabelecimento hidroeletrólítico do paciente após reposição é um indicador na diferenciação entre causas pré-renal e renal, uma vez que, a fluidoterapia pode ser uma solução em azotemia pré-renal, porém, incomumente em transtorno renal intrínseco (GRAUER, 2007).

### **2.3 Biomarcadores renais**

Os marcadores são definidos como indicadores funcionais ou bioquímicos através de características fisiológicas ou patológicas para fins de diagnósticos, que possuam confiabilidade na mensuração dos valores biológicos (KONVALINKA et al., 2012). Em achados na disfunção renal, a TFG é o indicativo ideal para acompanhar o funcionamento, porém sua mensuração direta não é um método facilmente executável (YERRAMILI et al., 2016), ainda que, esteja relacionado com a integridade renal e sua avaliação representa de forma segura o desempenho dos rins (VON HENDY-WILLSON; PRESSLER, 2011). Indiretamente, pode ser acompanhado através da depuração plasmática e urinária de marcadores apropriados, como iohexol (SCHWEDHELM; BÖGER, 2011), creatinina e inulina, que são substâncias exógenas. No entanto, devem ser analisados a partir de várias amostras biológicas, o que requer manipulação constante da paciente e retardo no resultado (KIELSTEIN et al., 2006;

TATEMATSU et al., 2007), e sua execução é inviável na rotina clínica de medicina veterinária (HEINE, et al., 1999).

Na medicina humana, essas avaliações são baseadas em estimativas a partir de fórmulas, levando em consideração as características do indivíduo (RELFORD et al., 2016). Todavia, a variabilidade racial e particularidade entre os gêneros e espécies, torna-se impraticável na medicina veterinária (LEFEBVRE; CRAIG; BRAUN, 2006).

Alguns dos marcadores endógenos atuais são considerados avaliações indiretas da TFG, como a sCr, considerado um indicador de função renal de eleição há aproximadamente 100 anos (PERRONE et al., 1992; YERRAMILLI et al., 2016). Essa substância é oriunda do metabolismo muscular, e sua mensuração pode ser influenciada a partir do escore corporal do paciente, o que compromete a sensibilidade do biomarcador em indivíduos magros, caquéticos (DALTON, 2010), jovens, geriátricos e algumas raças de pequeno porte (HOKAMP; NABITY, 2016). Outras interferências podem afetar as concentrações de sCr, como a desidratação e corticoides, que pode desencadear alterações errôneas (falso-negativo ou falso-positivo) (ANDREEV et al., 1999), além de ingestão de alimento (carne), que em cães pode influenciar no aumento médio de 0,4 mg/dL com elevações relevantes por várias horas após a alimentação do animal (YERRAMILLI et al., 2016).

Os indicadores precoces de alterações renais são relevantes na identificação de danos estruturais e funcionais, e possibilita a antecipação da introdução da terapia e estabelecer o melhor prognóstico aos pacientes (YERRAMILLI et al., 2016). A busca por biomarcadores ideais são etapas de longo prazo e requer critérios apropriado para validação clínica (ROLLINGS, 2012), em contrapartida alguns indicadores renais em estudos são categorizados pela superioridade na detecção de transtornos a TFG (LEE et al., 2012; STEINBACH et al., 2014).

### **2.3.1 Biomarcador sérico**

#### **2.3.1.1 Dimetilarginina simétrica (SDMA)**

Atualmente, o marcador endógeno mais estudado na medicina veterinária é a dimetilarginina simétrica (SDMA), oriunda da L-arginina, é um aminoácido precursor da arginina (KIELSTEIN et al., 2006; KOPHE et al., 2018). Através das modificações nas estruturas das proteínas arginina metiltransferase, exercidas nas mitocôndrias, ocorre a formação de dimetilarginina assimétrica (ADMA) e SDMA, sendo o primeiro relacionado com

a disfunção cardiovascular e associado as complicações renais através da inibição na síntese do óxido nítrico (ON). A SDMA por sua vez, exerce essa função de forma indireta através da competição pelos receptores de membrana com a arginina, e consequentemente, reduz a disponibilidade da substância e a síntese de ON (VALLANCE et al., 1992).

A SDMA tornou-se um marcador apropriado por ser excretada preferencialmente via renal, podendo chegar há cerca de 90%, e além de não ser reabsorvido ou secretado via túbulos renais (GRAUER, 2016). Em vários estudos, a SDMA é retratada como indicador favorável as alterações da TFG em cães e gatos (NABITY et al., 2015), principalmente, quando comparada a performance da sCr, e pode manifestar-se em redução a partir de 25% na filtração glomerular (HALL et al., 2016).

Em estudos retrospectivos, demonstraram que as concentrações de SDMA não possuem interferência com a massa corporal, e que em pacientes com distintos escore muscular acometidos por doença renal, podem ser beneficiados pela ampla sensibilidade do marcador (NABITY et al., 2015; RELFORD et al., 2016), o que estabelece relevância acerca da comparação entre a sCr (LE SUER, et al., 2019). Há aproximadamente 5 anos, foi incorporado às diretrizes da IRIS no diagnóstico de DRC como complemento ao biomarcador renal convencional (sCr), mantendo o ponto de corte da SDMA em 14 µg/dL e sCr 1,4 e 1,6 mg/dL em cães e gatos, respectivamente (IRIS, 2019).

Recentemente, foi sugerido uma adaptação do valor de referência da SDMA para 1,8 µg/dL, segundo os autores, esse reajuste implica numa melhor especificidade, sem comprometer a sensibilidade na TFG de cães não azotêmicos (McKENNA et al., 2020). Segundo Dahlem e colaboradores (2017), a SDMA pode ser detectada em situações de insultos renais agudos ou crônicos, porém na segunda opção, os resultados de precocidade são mais robustos e na fase inicial da IRA não foram incorporados ao estudo, além de não possibilitar a diferenciação do IRA e DRC em cães.

Diante da particularidade do analito, a SDMA tornou-se o biomarcador mais estudado na atualidade, principalmente, entre as afecções com complicações secundárias com danos renais (RELFORD et al., 2016). Nas doenças parasitárias mais relevantes em pequenos animais, como Leishmaniose visceral canina (LVC), onde estudos retratam o auxílio do marcador com sCr e proteína:creatinina urinárias (uPC) acerca do retardo da progressão da DRC (GIAPITZOGLU et al., 2020) e nas fases iniciais da LVC (PARDO-MARIN et al., 2017; 2020). Em Dirofilariose, pode contribuir na redução de filtração glomerular em curso, que antecede a proteinúria renal nos animais acometidos (CARRÉTON et al., 2020).

Na Piometra, considerada a afecção reprodutiva mais comumente em cães e gatos, e as investigações dos comprometimentos renais são estudadas há décadas (DE SCHEPPER et al., 1989; HEIENE et al., 2001), porém a avaliação a partir da SDMA dispõe de poucos estudos e requer mais detalhes acerca da atuação do marcador em diversas complicações renais em cães (MARTINS, 2019).

### **2.3.2 Biomarcadores renais urinários**

#### **2.3.2.1 Relação proteína:creatinina urinárias (uPC)**

As proteínas são consideradas marcadores urinários importantes, devido ao peso molecular e a carga elétrica dificultam a passagem através da filtração glomerular. A albumina, possui um tamanho intermediário (69 kDa), e normalmente, não é localizada no ultrafiltrado, e em quantidades elevadas são reabsorvidos pelos túbulos proximais (GRAUER, 2011), assim como as demais proteínas. A proteinúria pode indicar lesão de origem glomerular como tubular, ou até mesmo possuir caráter pré ou pós-renal (HEIENE et al., 2001).

O método adequado para mensuração de perda de proteína plasmática através da urina, são por avaliações diárias (em 24 horas), no entanto, a execução é considerada problemática em pequenos animais (LESS et al., 2005). De forma alternativa, a avaliação pontual da relação proteína:creatinina urinárias (uPC) atua como um indicador importante de perdas proteicas, e pode determinar complicações renais anteriormente aos marcadores convencionais de função renal (MADDENS et al., 2011).

Segundo Less e colaboradores (2005), os valores normalizados de uPC é  $\leq 0,2$ , e entre 0,2 a 0,5 em cães e 0,2 a 0,4 em gatos, são considerados níveis limítrofes, ou seja, devem ser monitorados. Porém, a persistência de valores de uPC  $\geq 0,5$  e  $\geq 0,4$ , cães e gatos, respectivamente, são indicados de lesão glomerular relevante ou tubulointersticial crônica.

As tiras ou fitas reagentes são determinadas como testes de triagem para proteinúria, são semiquantitativos que são combinações a partir de corantes indicadores com alteração de coloração da tira (OLIVEIRA, 2015). Possui maior sensibilidade com albumina, todavia, pode ser alterado com presença de hematuria e/ou piúria, além da limitação no alcance de albumina acima de 30 mg/dL. A aferição da microalbuminúria possibilita a mensuração de valores entre 1 a 30 mg/dL de albumina urinária, porém a técnica é pouco acessível (GRAUER, 2011). Por outro lado, a uPC não é específica à albumina e pode não ser efetivo na presença dessa “variação” de albuminúria (DE LOOR et al., 2013).

Em estudos prospectivos, descreve a proteinúria como achado de lesão renal glomerular e/ou tubular, agudo ou crônico, e pode ser alterado ainda que a TFG permaneça intacta (GRAUER, 2011), e consequentemente, os valores de ureia e sCr estejam normais (azotemia). O que torna a descoberta de proteinúria um indicador relevante dos danos renais precoces (FIGUEIREDO et al., 2017; SANT'ANNA et al., 2019). Entretanto, a uPC não diferencia a origem da lesão renal (GRAUER 2011), que pode ocorrer pela falha na filtração e/ou erro de reabsorção, glomerular e tubular (ZARAGOVA et al., 2004; MADDENS et al., 2010).

Na Piometra canina, as complicações renais são comuns e com maior expressão em casos de cérvix fechada (HAGMAN, 2018), com descrição de glomerulonefrite, porém achados histopatológicos relatados em estudos, mostram alterações compatíveis com glomeruloesclerose, que pode estar relacionado a idade avançada dos animais (HEIENE et al., 2007; MADDENS et al., 2011). Para De Loor (2013) e colaboradores, as cadelas com uPC entre 0,5 a 1 apresentaram alterações histopatológicas com indícios de nefrite tubulointersticial, e uPC >1 com indicativo de glomeruloesclerose, ou seja, os indivíduos com proteinúria discreta são sugestivos de falha tubular e proteinúria moderada com comprometimento glomerular.

Segundo Zaragoza e colaboradores (2004), a presença de proteínas de alto peso molecular, Imunoglobulina A (IgA) em amostras urinárias em cadelas com piometra, ainda que, em baixo número amostral, demonstra a presença de lesões glomerulares.

### **2.3.2.2 Gama glutamil transferase urinária (uGGT)**

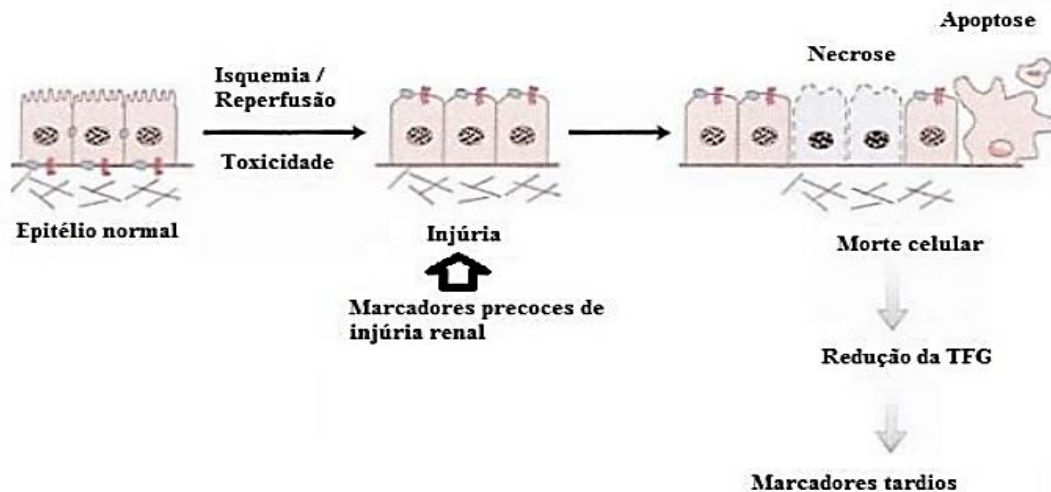
A enzima gama glutamil transferase urinário (uGGT) localiza-se em células na borda de escova das células tubulares proximais, normalmente, a enzima sérica não apresenta filtração glomerular (CLEMO, 1998). Lesão tubular de várias causas pode resultar em dano celular e liberação de uGGT no lúmen tubular e consequente detecção na urina (ILCHYSHYN et al, 2019), sendo associado à lesão ou necrose epitelial tubular (figura 2). Os valores elevados em duas a três vezes do referenciado a espécie representa lesão no epitélio tubular importante (CASTRO et al., 2016).

Segundo Greco e colaboradores (1985), a detecção de uGGT ocorre com poucas horas a dias após os danos renais, é considerado um método seguro e não invasivo na avaliação dos túbulos renais. Ainda que, o exame padrão-ouro para avaliar diretamente os locais das lesões estruturais dos néfrons são através das biópsias renais, porém são invasivos e com execução extremamente limitada (LESS et al., 2005). Os métodos utilizados na mensuração do uGGT dar-se através da correção a partir da densidade urinária (1,025) para minimizar a interação com



a concentração de uma amostra (GUIMARÃES, 2000), e através da correlação da atividade enzimática pela uGGT:creatinina urinária (uGGT/sCr) na inviabilidade clínica da mensuração em 24 horas (RIVERS et al., 1986).

**Figura 2:** Alterações patológicas nas células tubulares renais após insulto local.



**Fonte:** Adaptado de Bonventre (2008)

Em estudos retrospectivos, foram relatados significância do biomarcador urinário uGGT em nefrotoxicidade a partir de gentamicina, e este antecedeu o surgimento de azotemia (VEADO et al., 2010), além de proteinúria e glicosúria (HENNEMANN et al., 1997). Em casos LVC, o uGGT/sCr foram favoráveis a detecção precoce das lesões tubulares (IBBA et al., 2016; FRAZILIO et al., 2018), e em estudo com piometra canina, determinou relevância em achados histopatológicos graves em região tubular sem alteração na TFG e com regressão após a OH (HEIENE et al., 2001). Para De Schepper e colaboradores (1989), a lesão glomerular precede o dano tubular em cadelas com piometra, devido aos achados de proteinúricos com níveis inalterados de uGGT/sCr, porém detectado em um número pequeno de indivíduos.

Segundo Perondi e colaboradores (2019), nos animais em situação de internação oriundos de procedimentos cirúrgicos ou não, sem azotemia, o uGGT e uPC foram considerados biomarcadores precoces da IRA, e eficazes na avaliação de nefrotoxicidade em indivíduos submetidos a processos anestésicos, e em cadelas com piometra, quando comparados com pacientes azotêmicos e não azotêmicos (FIGUEREIDO et al., 2017; RIBEIRO, 2019; SANT'ANNA et al., 2019).

### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A identificação precoce de agravos renais agudos associado a afecção primária (piometra), contribui positivamente com o prognóstico do paciente. As intervenções iniciais a partir das mensurações de biomarcadores renais específicos, urinários e/ou séricos, auxilia no controle evolutivo do quadro clínico e atenua a possibilidade de instalação de insulto renal crônico.

#### **4. ARTIGO CIENTÍFICO**

##### **Avaliação de lesão renal através de marcadores precoce em piometra canina**

(Submissão para Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, QUALIS/CAPES A2)

## **Avaliação de lesão renal através de marcadores precoce em piometra canina**

*[Evaluation of kidney injury through early markers in canine pyometra]*

\*A. C. Andrade<sup>1</sup>, E. P. Silva<sup>2</sup>, J. D. Santos<sup>2</sup>, K. P. Oliveira<sup>3</sup>, K. P. C. Silva<sup>4</sup>, M. K. Notomi<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mestranda em Ciência Animal pela Universidade Federal de Alagoas – UFAL

<sup>2</sup>Médica Veterinária do Centro de diagnóstico Veterinário - CENTROVET, AL

<sup>3</sup>Médica Veterinária do Hospital Veterinário Universitário –HOVET/UFAL

<sup>4</sup>Docente adjunto da Universidade Federal de Alagoas - UFAL

[andrezza.andrade@hotmail.com.br](mailto:andrezza.andrade@hotmail.com.br)

### **RESUMO**

Foram estudadas catorze cadelas com diagnóstico de piometra, em três tempos distintos, no momento do diagnóstico (T0), 24 horas (T1) e 10 a 15 dias (T2) após a ovário histerectomia (OH). O objetivo foi avaliar o uso de diferentes biomarcadores renais em cadelas com piometra e estimar suas precocidades diante do agravo. As médias variaram em dimetilarginina simétrica (SDMA) (17,71 a 26,54µg/dL), e relação gama glutamil transferase e creatinina urinária (uGGT/uCr) (1,06 a 2,62 U/mg) apresentaram aumentados em todos os momentos, já a elevação do gama glutamil transferase (uGGT) (56,61 a 128,12 U/L) e da relação proteína e creatinina urinária (uPC) (0,26 a 1,24) foram evidenciados nos dois primeiros tempos. Uma redução na média do uPC, uGGT e uGGT/uCr foi observada após 10-15 dias após a implantação do tratamento (OH). Apesar da elevação desses marcadores, a concentração de creatinina (1,11 a 1,40 mg/dL), ureia (40,07 a 67,16 mg/dL) e densidade urinárias (1,027 a 1,028) sofreram poucas variações. Em piometra canina, as complicações renais agudas secundárias podem estar presentes, ainda que, leve e transitória nos animais tratados. Os analitos bioquímicos urinários foram considerados marcadores precoces na injúria renal aguda (uGGT e uGGT/sCr), além disso, a SDMA antecedeu as alterações de creatinina em todos os tempos analisados.

Palavras-chave: dimetilarginina simétrica, gama glutamil transferase urinária, injúria renal aguda, afecção reprodutiva.

### **ABSTRACT**

*Fourteen female dogs diagnosed with pyometra were studied, at three different times, at the time of diagnosis (T0), 24 hours (T1) and 10 to 15 days (T2) after ovariohysterectomy (OH).*

The objective was to evaluate the use of different renal biomarkers in bitches with pyometra and estimate their precociousness in the face of the disease. The means varied in symmetric dimethylarginine (SDMA) (17.71 to 26.54 µg/dL), and the gamma glutamyl transferase ratio and urinary creatinine uGGT / uCr) (1.06 to 2.62 U/mg) increased over time, the elevation of the gamma glutamyl transferase (uGGT) (56.61 to 128.12 U/L) and the urinary protein and creatinine ratio (uPC) (0.26 to 1.24) were evidenced in the first two times. A reduction in the mean of the uPC, uGGT and uGGT/uCr was observed after 10-15 days after the implantation of the treatment (OH). Despite the increase in these markers, the concentration of creatinine (1.11 to 1.40 mg/dL), urea (40.07 to 67.16 mg/dL) and urinary density (1.027 to 1.028) suffered little variation. In canine pyometra, secondary acute renal complications may be present, although mild and transient in the treated animals. Urinary biochemical analytes were considered early markers in acute kidney injury (uGGT and uGGT/sCr), in addition, SDMA preceded creatinine changes at analyzed times.

**Keywords:** symmetric dimethylarginine, urinary glutamyl transferase, acute kidney injury, reproductive disorder.

## INTRODUÇÃO

A piometra é a afecção reprodutiva mais comumente encontrada em cadelas, apresentando uma característica exsudativa purulenta em virtude da proliferação de bactérias na mucosa uterina (Hagman, 2018). Como consequência do processo infeccioso, uma variedade de manifestações clínicas e patológicas são observadas, local e sistemicamente, tendo como um importante complicador o acometimento renal, provocado pela deposição de imunocomplexos nos glomérulos, sugestivo de glomerulonefrite decorrente da liberação de endotoxinas (Hagman, 2014).

Apesar disso, estudo prévio relata controvérsia nessa afirmação, devido à ausência de indícios histopatológico relacionado à glomerulonefrite nas cadelas avaliadas, cujo danos foram compatíveis com glomeruloesclerose associado a faixa etária (Maddens *et al.*, 2011). Todavia, as alterações renais focais em compartimentos glomerular e tubular são evidentes na piometra, porém não amplamente elucidadas (Heiene *et al.*, 2007; Maddens *et al.*, 2010).

A afecção renal apresenta evolução silenciosa, sem evidência de sinais clínicos ou nos exames laboratoriais de rotina (creatinina sérica (sCr)) até o acometimento de aproximadamente 75% dos néfrons funcionais (Dibartola, 2000). Como agravante, alterações na massa muscular dos animais podem interferir na mensuração da sCr, comprometendo a avaliação renal. Por

estes motivos, estudos vêm sendo desenvolvidos com diferentes biomarcadores, principalmente, proteínas de baixo peso molecular, intratubular ou de origem inflamatória (Cobrin *et al.*, 2013; De Loor *et al.*, 2013).

Os biomarcadores precoces são conhecidos por possibilitar a diferenciação de comprometimentos renais agudos ou crônicos, e permitir a descoberta prévia dos danos renais (Cobrin *et al.*, 2013). Estudos com cães verificaram que a dimetilarginina simétrica (SDMA) pode ser detectada consistentemente em reduções de 30% da função renal, portanto, melhor na identificação de injúria renal aguda (IRA) em comparação à sCr (Nabity *et al.*, 2015; Hall *et al.*, 2016). A proteinúria é considerado um indicador importante nas alterações em região glomerular e/ou tubular, e deve ser determinado pela avaliação da relação proteína:creatinina urinária (uPC) (Hokamp e Nabity, 2016). A gama glutamil transferase urinária (uGGT) é utilizada como um indicador do dano renal, usualmente associada à lesão epitelial tubular ou necrose (Paltrinieri *et al.*, 2018; Perondi *et al.*, 2019), considerada um biomarcador precoce e consistente na tubulopatia, embora a enzima urinária não estabeleça mensuração diária (em 24 horas) (Gori *et al.*, 2019), tornando a razão uGGT e creatinina urinária (uCr) uma técnica viável nessa correlação da atividade enzimática (Lippi, *et al.*, 2018).

Elevações nas concentrações de enzimas urinárias foram identificadas refletindo extensas lesões tubulares proximais em cães com piometra (Heiene *et al.*, 2001; Maddens *et al.*, 2011). No entanto, novos trabalhos são necessários para definir a especificidade dos biomarcadores urinários para localização de lesão renal em cães com piometra (Heiene *et al.*, 2001).

Diante disso, este estudo objetivou comparar bioquímicos séricos e urinários para mensuração indireta de filtração glomerular e presença de dano tubular, com o intuito de promover uma avaliação precoce do comprometimento renal em cadelas com piometra, identificando biomarcadores para o diagnóstico de injúria renal.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Alagoas - UFAL sob o protocolo 078/18.

Foram selecionados para o estudo catorze cadelas (*Canis lupus familiares*), com o diagnóstico clínico, laboratorial e ultrassonográfico de piometra. Não foram incluídas as cadelas suspeitas ou diagnosticadas com hemoparasitose ou doenças preexistentes, bem como as que apresentavam valor de sCr acima de 1,5mg/dL. Também foi realizado, um exame clínico com anamnese que incluía um questionário do sistema reprodutivo, urinário e exame físico. O

procedimento cirúrgico, ovário histerectomia (OH), e protocolo terapêutico complementar foram implantados até 24 horas após o diagnóstico.

As pacientes foram avaliadas em três diferentes tempos, no momento do diagnóstico (T0), 24 horas (T1) e 10 a 15 dias (T2) após o procedimento cirúrgico. Em cada tempo, amostras de urina e sangue foram coletadas, respeitando o jejum alimentar de aproximadamente 10 horas, para a realização de hemograma e bioquímicos séricos.

As coletas sanguíneas foram realizadas com seringas estéreis (5 ou 10mL) através da veia jugular externa (8mL), e depositadas em tubos com anticoagulante (etilenodiamino tetra-acético - EDTA) (2mL) para avaliação do hemograma. Os exames hematológicos foram avaliados pela BC-2800 Vet Mindray e HumaCount 30 TS, com diferenciação leucocitária e morfologia eritrocitária através da avaliação direta em microscópio convencional.

As mensurações dos analitos bioquímicos séricos foram através 6 mL de sangue armazenados em tubo com ativador de coágulo para realização de ureia, sCr, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), proteína total (PT) e SDMA. As análises foram realizadas no equipamento semi-automático HumaLyzer Primus, e com reagentes Bioclin. A SDMA foi mensurada pela técnica de imunoensaio de alto rendimento através do equipamento Teste IDEXX Catalyst SDMA One (IDEXX®).

As amostras de urina foram coletas (5 a 10mL) por cistocentese guiada por ultrassonografia, sondagem uretral (tamanho proporcional ao paciente) ou micção espontânea, sendo que em T0, todas as coletas foram, exclusivamente, através de cistocentese guiada por ultrassonografia. Após a coleta, as amostras foram depositadas em tubo coletor estéril, para a realização de urinálise e aferição da proteína (técnica de vermelho de pirogalol e leitura em espectrofotômetro), creatinina urinária (uCr) pelo método de Jaffe modificado e uGGT (método de Szazs/Persijn), para o cálculo do uGGT corrigido (DU:1,025), relação proteína:creatinina urinárias (uPC) e relação uGGT/uCr. Foi realizado o exame físico, químico por meio de leitura automatizada (Uri-color check (Wama®) e do sedimento da urina em microscopia óptica. O sobrenadante foi utilizado para aferição bioquímica da proteína urinária, a uCr e o uGGT (Bio Plus Bio 2000).

A identificação do agente infeccioso uterino foi realizada através da cultura bacteriana após a remoção uterina (OH), a partir da coleta por punção direta (1mL) com auxílio de seringa estéril (3mL) e com prévia antissepsia do local. As amostras foram armazenadas em tubo com meio Stuart, e semeadas em até 48 horas nos meios MacConkey e ágar sangue (ovino) para identificação dos microrganismos.

Os métodos estatísticos descritivos dos dados quantitativos foram analisados no software Action Stat Pro 3.7. A análise de variância entre os tempos, a partir do teste de normalidade Shapiro-Wilk, e determinado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. A avaliação da correlação linear de Pearson entre biomarcadores séricos e urinários nos tempos (T0, T1 e T2), com intervalo de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

As catorze cadelas participantes do estudo possuíam em média de 7,1 anos de idade (11 meses a 12 anos), eram de diferentes raças, sem relato de pseudociese ou histórico de neoplasia mamária. Os sinais clínicos mais comuns foram apatia (85,7%, 12/14), inapetência (78,6%, 11/14), prostração (71,4%, 10/14), vômito (57,1%, 8/14), febre (42,9%, 6/14), poliúria/polidipsia (28,6%, 4/14), além da secreção vaginal (57,1%, 8/14) e, aumento abdominal (42,9%, 6/14) evidenciados no exame físico.

No exame imaginológico das pacientes, além dos sinais característicos de piometra, foram observados ovários policísticos, uni ( $n=1$ ) e bilateralmente ( $n=2$ ) e dois casos sugestivos de cistite discreta, não sendo observadas outras alterações morfológicas intra-abdominais. Com relação ao conteúdo uterino, foi predominante de Gram-negativas, em destaque a *E. coli* com 35,7% (5/14), seguido de *Pseudomonas aeruginosa* e a Gram-positiva *Streptococcus* spp. com 7,1% (1/14), respectivamente. Entretanto, em 28,6% (4/14) das amostras não houve crescimento bacteriano, e 21,4% (3/14) das amostras foram descartadas por exceder 48 horas para o processamento.

Por se tratar de um estudo sobre a piometra de ocorrência espontânea, embora as informações referentes ao T0 e T1 estejam completas, cinco pacientes não retornaram para a última coleta (T2), 10-15 dias após o procedimento cirúrgico, e uma paciente evoluiu a óbito por complicações do quadro clínico, aproximadamente três semanas após o diagnóstico de piometra.

No hemograma realizado no momento do diagnóstico (T0), foi observada uma discreta anemia em 57,1% (8/14), sendo 42,9% (6/14) do tipo normocítica normocrômica e 14,3% (2/14) normocítica hipocrômica. Uma leucocitose por neutrofilia com desvio a esquerda foi evidenciada em 85,7% (12/14) das cadelas, sendo 66,7% (8/12) do tipo regenerativo e 33,3% (4/12) degenerativo, em 14,3% (2/14) com desvio a direita; com redução na contagem de linfócitos em 14,3% (2/14) e aumento de monócitos em 71,4% (10/14), porém sem alterações em plaquetas e demais componentes celulares.



Nas análises bioquímicas séricas, as atividades médias da ALT se mantiveram dentro dos intervalos de referência para a espécie em T0 e T1, no entanto, ambos com diferença significativa para T2 ( $p=0,0037$ ;  $p=0,0025$ , respectivamente). Com relação a FA, verificou-se atividades dentro do intervalo de referência a espécie em T0, porém com elevação nos demais tempos, e com diferença significativa entre T0 e T2 ( $p=0,0178$ ) (tab.1). Uma hiperproteinemia progressiva foi observada somente em uma paciente, atingindo 13,17 g/dL no momento T2. Ademais, as concentrações médias de PT permaneceram dentro do intervalo.

**Tabela 1:** Parâmetros bioquímicos séricos expressas em média, desvio padrão, valor mínimo e máxima e comparadas entre os tempos (T0, T1 e T2) de cadelas com piometra.

PARÂMETROS (valores de referências)	TEMPO	MÉDIA/DESPD	MÍNIMO	MÁXIMO
<b>sCr (0,5-1,5 mg/dL)</b> Cowgill, 2016	T0	1.11 $\pm$ 0.29	0.60	1.50
	T1	1.40 $\pm$ 0.92	0.23	3.47
	T2	1.39 $\pm$ 1.45	0.22	5.17
<b>Ureia (21,4-60 mg/dL)</b> Stockham e Scott, 2011	T0	40.07 $\pm$ 37.64	8.00	147.90
	T1	59.07 $\pm$ 65.12	17.00	275.00
	T2	67.16 $\pm$ 48.69	15.00	183.80
<b>SDMA (&lt; 14 <math>\mu</math>g/dL)</b> IRIS, 2019	T0	17.71 $\pm$ 11.13	6.00	44.00
	T1	26.54 $\pm$ 24.30	8.00	84.50
	T2	21.89 $\pm$ 21.46	10.00	78.00
<b>ALT (21-86 UI/L)</b> Stockham e Scott, 2011	T0	33.51 <sup>a</sup> $\pm$ 16.53	18.10	73.00
	T1	33.79 <sup>a</sup> $\pm$ 13.20	14.55	56.70
	T2	166.73 <sup>b</sup> $\pm$ 142.93	32.00	353.86
<b>FA (20-156 UI/L)</b> Stockham e Scott, 2011	T0	100.26 <sup>a</sup> $\pm$ 62.24	36.10	246.00
	T1	179.03 $\pm$ 178.62	25.60	711.00
	T2	286.47 <sup>b</sup> $\pm$ 179.25	54.50	524.00
<b>PT (5,4-7,8 g/dL)</b> Stockham e Scott, 2011	T0	5.78 $\pm$ 2.33	1.00	9.73
	T1	4.87 $\pm$ 2.79	1.20	9.52
	T2	6.81 $\pm$ 3.48	2.20	13.17

Creatinina sérica (sCr), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), proteína total sérica (PT), dimetilarginina simétrica (SDMA). T0: No momento do diagnóstico (pré-cirúrgico); T1: 24 horas após o procedimento cirúrgico; T2: 10 a 15 dias após o procedimento cirúrgico.

\*Letras diferentes entre as linhas destacam a diferença significativa.

Apesar do aumento gradativo das médias das concentrações de sCr nos tempos, elas permaneceram dentro dos valores de referência para a espécie, sem alteração significativa na comparação entre os tempos. Uma discreta elevação da média da ureia sérica foi verificada em T2, entretanto sem acarretar diferença estatística na comparação dos tempos (tab.1).

A concentração média da SDMA foi superior a referência nos três tempos, porém sem diferença estatística ( $p>0,05$ ) na comparação entre aos mesmos (tab.1). O aumento foi observado em 57,1% (8/14) dos animais em T0 e T1 e em 55,6% (5/9) em T2, e

concomitantemente entre os animais com alteração de sCr, isto é, 28,6% (4/14) em T1 e 11,1% (1/9) em T2.

Na urinálise, a densidade urinária (DU) média mostrou-se dentro dos limites padrões para a espécie, sem diferença significativa entre os tempos (tab.2). Porém, 14,3% (2/14) das urinas apresentavam isostenúria, e 35,7% (5/14) das pacientes apresentavam a urina moderadamente concentrada (1,013-1,029) em T0; 14,3% (2/14) isostenúria e 50% (7/14) moderadamente concentrada em T1; e 11,1% (1/9) isostenúria e 44,4% (4/9) moderadamente concentrada em T2. Em relação a presença de cilindros granulosos e epiteliais, foi observada em 42,9% (6/14) dos animais, com a ocorrência de 28,6% (4/14) em T0, 35,7% (5/14) em T1 e 22,2% (2/9) em T2. Destes animais, três apresentaram cilindrúria persistente, um animal até T1 e os outros dois, nos três tempos estudados.

**Tabela 2:** Parâmetros bioquímicos urinários expressas em média, desvio padrão, valor mínimo e máxima e comparadas entre os tempos (T0, T1 e T2) de cadelas com piometra.

PARÂMETROS (valores de referências)	TEMPOS	MÉDIA/DESD	MÍNIMO	MÁXIMO
<b>DU (1,015-1,045)</b> Stockham e Scott, 2011	T0	1028.71 ± 12.47	1012.00	1052.00
	T1	1027.57 ± 15.03	1012.00	1050.00
	T2	1027.33 ± 12.96	1010.00	1050.00
<b>uGGT (13 a 92 U/L)</b> De Schepper et al., 1989	T0	128.12 ± 130.79	17.50	477.20
	T1	125.33 ± 110.80	25.00	372.73
	T2	56.61 ± 38.34	13.55	118.39
<b>uPC (&lt; 0,5)</b> Cowgill, 2019	T0	1.03 ± 1.06	0.04	3.20
	T1	1.24 <sup>a</sup> ± 1.08	0.20	3.20
	T2	0.26 <sup>b</sup> ± 0.21	0.06	0.60
<b>uGGT/uCr (&lt; 0,42 U/mg)</b> De Schepper et al., 1989	T0	1.86 ± 1.82	0.21	6.18
	T1	2.62 ± 3.34	0.32	13.12
	T2	1.06 ± 0.77	0.11	2.04

Densidade urinária (DU), gama glutamil transferase corrigido (uGGT) pela DU (1,025), relação proteína:creatinina urinária (uPC), gama glutamil transferase (uGGT/uCr). T0: No momento do diagnóstico (pré-cirúrgico); T1: 24 horas após o procedimento cirúrgico; T2: 10 a 15 dias após o procedimento cirúrgico.

\*Letras diferentes entre as linhas destacam a diferença significativa.

A proteinúria foi identificada nos animais, em 57,1% (8/14) em T0, e 85,7% (12/14) em T1, sem diferença na comparação entre os grupos. Após 10 a 15 dias do procedimento cirúrgico (T2), houve uma diferença significativa ( $p=0,0098$ ) na comparação com T1 e T2, onde apenas 22,2% (2/9) das cadelas apresentavam uma proteinúria discreta.

Na avaliação de bioquímico urinário foi observada uma elevação na média da relação uGGT/uCr nos três tempos, identificada em 85,7% (12/14) das cadelas em T0, elevando para 92,9% (13/14) em T1 e 66,7% (6/9) em T2. Ademais, das 57,1% (8/14) cadelas proteinúricas em T0, 21,4% (3/14) não apresentaram alterações em uGGT, mas com aumentos expressivos

em uGGT/uCr. Na uPC, não foi observada diferença estatística na concentração do uGGT e na relação uGGT/uCr, apesar disso a uGGT/uCr apresentou uma redução de mais de 65% entre T1 e T2, comportamento observado no uGGT e na uPC que se apresentaram elevados nos dois primeiros tempos, e reduziram 54,8% e 79,3% em T2, respectivamente.

No tempo inicial do estudo, a SDMA correlacionou-se moderadamente com a uGGT ( $r=0,751$ ,  $p=0,001$ ) e a uGGT/uCr ( $r=0,769$ ,  $p=0,001$ ), porém com o passar do tempo essa correlação foi reduzindo gradativamente. Por outro lado, a correção da SDMA com a ureia e sCr foi ausente em T0, apresentando uma correlação moderada em T1 e uma forte correlação em T2 tanto com a sCr ( $r=0,919$ ,  $p=0,0004$ ), como com a ureia ( $r=0,872$ ,  $p=0,003$ ).

## DISCUSSÃO

A piometra é enfermidade frequente em cadelas intactas e adultas como média em 7 anos de idade (Maddens *et al.*, 2011), o que foi reiterado no presente estudo, através da média 7,1 anos. Nos sinais clínicos, a apatia demonstrou-se frequente (85,5%, 12/14) nas cadelas, o que se aproxima com o descrito anteriormente (87%), e acredita-se que provocado pela endotoxina liberada pelos microrganismos invasores (Hagman, 2018). As bactérias isoladas mais comumente em casos de piometra são Gram-negativa com predominância de *E. coli* (Hagman, 2014), o que foi corroborado neste estudo.

A presença de cistite foi observada concomitante a piometra, e pode ser provocado pelo mesmo agente etiológico (Trautwein *et al.*, 2017). Apesar de não ter sido realizada a urocultura, a infecção urinária foi identificada em 14,3% (2/14) das cadelas através de discretas alterações ultrassonográficas sugestivas e a presença discreta de leucócitos e bactérias no sedimento urinário, o que pode ter influenciado, minimamente, na mensuração da proteinúria de origem renal destes pacientes (Grauer, 2016), já que são necessários números relevantes de leucócitos e eritrócitos na urina para comprometer a análise da proteinúria intrínseca (Harley e Langston, 2012). Ademais, as cadelas não apresentaram históricos/sinais clínicos de complicações nos tratos urinários anteriormente a piometra, porém a intervenção clínica nestas pacientes ocorreu em estágios avançados da afecção reprodutiva.

Na cultura da secreção uterina, a ausência de crescimento bacteriano verificada em 21,3% (4/14), também foram relatados em estudos anteriores, onde aproximadamente 20 a 27% das cadelas não apresentaram isolados bacterianos (Trautwein *et al.*, 2017). A etiologia da piometra estéril é desconhecida, no entanto, acredita-se que o mecanismo de defesa uterina do animal possa eliminar os microrganismos (Yoon *et al.*, 2017), além dos métodos inadequados de coleta amostral que impede o crescimento de colônias. Embora, o meio Stuart possua eficácia no

transporte de amostras, a permanência nessa substância por 48 horas pode ter inviabilizado a manutenção das bactérias (Trautwein *et al.*, 2017), o que levou a descartar 21,4% (3/14) das amostras por exceder o tempo indicado.

Com relação as enzimas hepáticas, neste estudo as alterações foram mais consideráveis em T2, com diferença significativa de ALT e FA entre os demais tempos, corroborando com estudo anterior (Figueiredo *et al.*, 2017). Tais alterações são sugestivos de danos hepáticos tardios a partir da piometra, que pode ser justificado pelas lesões hepatocelulares através da toxemia (sepsis) pela ação da resposta antinflamatória à hipotensão arterial e/ou intensificado pela hipóxia celular em decorrência da desidratação e anemia da paciente. Em contrapartida, os distúrbios hepáticos são menos frequentes do que os insultos renais, e pode estar relacionado com danos leves dos hepatócitos oriundos de causa intra-hepática (colestase) (Plavec *et al.*, 2006).

Entre os biomarcadores séricos, a ausência de correlação entre o SDMA x sCr e SDMA x ureia, era esperada, uma vez que no início da injúria renal, a SDMA é muito mais sensível e se eleva quando há aproximadamente 25 a 40% de danos funcionais, enquanto a elevação da sCr e ureia é esperada mais tardiamente (Yerramilli *et al.*, 2016). Com a evolução do insulto, aumenta a sensibilidade da ureia e a sCr verificada pela correlação com o SDMA, moderada em T1 e forte em T2, corroborando com a presença de redução na taxa de filtração (TFG) (Hall *et al.*, 2016; Hokamp e Nabity, 2016; McKenna *et al.*, 2020), podendo indicar uma maior sensibilidade da SDMA na detecção precoce da lesão renal.

Segundo Cowgill (2016), as diretrizes da IRIS para classificação de insulto agudo são baseadas em valores de sCr com aumentos progressivos de 0,3 mg/dL em animais não azotêmicos com intervalo de 48 horas, e neste presente estudo, 42,9% (6/14) apresentaram crescimentos compatíveis em 24 horas (T1), o que pode sugerir enquadramento dos indivíduos nos estádios da IRA. As alterações laboratoriais de biomarcadores urinários e/ou sérico (SDMA) são indicativos de variação clínica, mas não compõem os critérios diretos de classificação para o estadiamento da injúria aguda (Cowgill, 2016).

As alterações na DU são esperadas em paciente com piometra, decorrentes da inibição do hormônio antidiurético (ADH) pela atuação das endotoxinas bacterianas (Dibartola, 2012), especialmente o *E. coli*, promovendo um quadro de diabetes insípido nefrogênica pela competição dos receptores celulares renais (Oliveira, 2015). Esse quadro, pode ser agravado pela capacidade reduzida na concentração da urina, oriundo dos danos tubulares provocados pela inadequada reabsorção local e surgimento da poliúria e polidipsia compensatória (Dibartola, 2000). Porém a DU dos animais neste estudo não apresentou reduções significativas,

mantendo a capacidade de concentração urinária, diferenciando de estudos que observaram média de 1,016 em cadelas com piometra (Heiene *et al.*, 2007; Maddens *et al.*, 2011). Entretanto, os autores admitiram cadelas em diferentes estádios da doença, inclusive azotêmicas, alteração ausente nas cadelas estudadas, sugerindo que a redução da DU observada na piometra ocorra quando o diagnóstico é realizado em estádios mais avançados da doença.

Uma única paciente desenvolveu azotemia progressiva com acentuada redução na DU entre T1 e T2 (T0=1,040; T1 e T2=1,016), porém somente com discretos aumentos do uGGT em T0 e da uGGT/uCr, com variações entres os tempos, na ausência de proteinúria. Por outro lado, a SDMA apresentou uma elevação progressiva, e a presença de cilindros granulosos foi evidenciada em todos os tempos, demonstrando serem bons marcadores funcional e de lesões glomerulares, respectivamente. Essa paciente, provavelmente, evoluiu para estágio mais avançado da IRA, onde a excreção de enzimas e proteínas pode estar reduzida pelo dano tubular progressivo e presença de microalbuminúria, respectivamente. E dessa forma, a uPC pode indicar valores dentro do referenciado para a espécie (Grauer, 2016), e a tubulopatia pode ser reforçada pela incapacidade de concentração urinária entre os tempos (Gori *et al.*, 2019). Além das alterações hepáticas com aumento em ALT (T0=19,9; T1=20,37; T2=283,43 U/L) e FA (T0=63; T1=218; T2=481 U/L) que foram sucessivas na paciente, o que pode indicar o agravamento da sepse mediante a perfusão local inadequada e lesões relevantes em hepatócitos pela presença da endotoxemia (Plavec *et al.*, 2006).

A evolução da piometra associada ao retardo na intervenção clínica pode ter acelerado o quadro de IRA, apesar da ausência de indícios ultrassonográficos, os valores elevados e progressivos (a partir de T0) dos biomarcadores séricos podem justificar essa alegação. As complicações renais, hepáticas e sinais de sepse grave foram decisivas para o óbito dessa paciente, que ocorreu aproximadamente 25 dias após o diagnóstico clínico de piometra (T0). O que afirma a necessidade de acompanhamento regular a fim de investigar persistência do insulto aguda ou instalação de danos crônicos, que segundo autores, os marcadores urinários podem ser detectados com valores elevados após 60 dias do procedimento cirúrgico (OH) (Figueiredo *et al.*, 2017).

Na piometra, as cadelas apresentam uma diminuição da filtração glomerular, o que presume perda da perfusão renal. A proteinúria renal pode ter diferentes origens, estudos histopatológicos renais constataram uma extensão variável da lesão tubulointersticial associada à piometra (Heiene *et al.*, 2007; Maddens *et al.*, 2010; De Loor *et al.*, 2013). Os danos de origem tubular são significativos, devido à sua disposição em região cortical com 90% da irrigação

sanguínea, e consequentemente, maior vulnerabilidade à ação de toxinas e isquemia celular, sendo os marcadores tubulares mais eficientes em danos renais agudos (De Loor *et al.*, 2013).

A persistência da proteinúria foi identificada até T1, porém houve uma redução expressiva em T2 na fase pós-operatório, uma remissão, geralmente observada após o tratamento da piometra, mas em caso de proteinúria grave persistente pode indicar doença renal (Hagman, 2014), sendo indicado o monitoramento de cães proteinúricos após cirurgia de piometra para otimizar seu atendimento (Maddens *et al.*, 2011). Animais com três mensurações sequenciais de uPC  $\geq 0,5$  com intervalos de duas semanas, sem reconhecimento de proteinúria de origem não renal, é indicativo de lesão glomerular ou tubulointersticial crônico (Less *et al.*, 2005).

A SDMA não demonstrou diferença significativa entre os tempos, embora pelo menos 21,4% (3/14) dos animais apresentaram elevações do parâmetro a partir de T0 associado ao aumento de uGGT e uGGT/sCr. Entretanto, a elevação dos valores individuais de SDMA em todos os tempos antecederam a sCr e ureia, além de estabelecer elevação paralela em T0 com uPC, uGGT e uGGT/sCr que são considerados biomarcadores urinários efetivos no dano renal antes do desenvolvimento da azotemia (Lippi *et al.*, 2018; Sant'Anna *et al.*, 2019).

A avaliação do uGGT/uCr teve um comportamento semelhante ao da SDMA, permanecendo elevado durante todo o estudo, corroborando uma possível injúria renal e indicando ser um marcador precoce sensível de lesão tubular (Perondi *et al.*, 2019), com relatos de elevações que antecederam os aumentos na concentração de sCr, diminuições da TFG ou da DU, ou mesmo o aparecimento de cilindros no sedimento de urina, corroborado com os achados de Pressler (2015).

Entre T1 e T2 foi observada uma acentuada redução na concentração de uGGT, com retorno a concentração normal, e na relação uGGT/uCr, semelhante ao descrito na literatura que informou uma queda gradual após 12 dias do procedimento cirúrgico (De Loor *et al.*, 2013), considerando as alterações anestésicas proveniente da hipotensão seguida de isquemia e hipóxia renal (Sear, 2005). Portanto, os danos nas células tubulares são atenuados com a implantação de tratamento, o que sugere uma interação entre os marcadores urinários e a redução do insulto local, de caráter agudo, associado a piometra (Heiene *et al.*, 2007).

Dessa forma, a persistência de uGGT/uCr e a regressão da uPC, intensifica a continuidade da lesão tubular e leve dano glomerular, respectivamente, em cadelas com piometra após duas semanas da cirurgia, ainda que, ambos os insultos considerados temporários (De Loor *et al.*, 2013). Os valores de uGGT/uCr são associados com a gravidade da lesão dos túbulos proximais em cadelas com piometra (Heiene *et al.*, 2001). A redução da proteinúria, uGGT e da relação uGGT/uCr foi concomitante a diminuição da cilindrúria, identificada no paciente positivo em

T0 e T1, contribuindo para os achados de insultos renais, uma vez que a presença de cilindros granulares que são comuns em danos tubulares e seu aumento ressalta a magnitude da lesão (Figueiredo *et al.*, 2017).

## CONCLUSÃO

Os biomarcadores renais tubulares foram predominantes na identificação de lesões tubulares com sugestivos danos discretos e transitórios em cadelas com piometra. Em avaliação funcional, a DU não apresentou um bom desempenho como marcador precoce; a SDMA, por sua vez, demonstrou-se apropriada na detecção inicial na redução da TFG, podendo ser incluída entre os exames solicitados para avaliação da piometra em detrimento renal. Assim como, o uGGT e uGGT/sCr, que também podem ser monitorados com 15 dias da intervenção cirúrgica (OH), para acompanhamento da persistência de insultos tubulares após o tratamento da piometra. Novos estudos deverão ser estabelecidos para definir a atuação da SDMA como biomarcador renal precoce entre os diversos estágios da IRA associada à piometra canina.

## REFERÊNCIAS

- COBRIN, A.R.; BLOIS, S.L.; KRUTH, S.A. et al. Biomarkers in the assessment of acute and chronic kidney diseases in the dog and cat. *Journal of Small Animal Practice*, v. 54, n. 12, p. 647-655, 2013.
- COWGILL, R. Internacional Renal Interest Society. Grading of acute kidney injury. Internacional Renal Interest Society. p. 1-9. 2016. Disponível em: < [http://www.iris-kidney.com/pdf/4\\_ldc-revised-grading-of-acute-kidney-injury.pdf](http://www.iris-kidney.com/pdf/4_ldc-revised-grading-of-acute-kidney-injury.pdf). Acesso em: 3 jun 2018.
- DE LOOR, J.; DAMINET, S.; SMETS, P. et al. Urinary biomarkers for acute kidney injury in dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, v. 27, n.5, p. 998-1010, 2013.
- DE SCHEPPER, J.; DE COCK, I.; CAPIAU, E. Urinary  $\gamma$ -glutamyl transferase and the degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. *Research in veterinary science*, v. 46, n. 3, p. 396-400, 1989.
- DIBARTOLA, S.P. Autosomal dominant polycystic kidney disease. In: *Proceedings 18th Annual Veterinary Medical Forum of the American College of Veterinary Internal Medicine*. 438-440, 2000.
- FIGUEIREDO, M.D.S.; MALM, C.; MAMÃO, L.D. et al. Renal injury in female dogs with pyometra. *Ciência Rural*, v. 47, n. 5, 2017.

- GORI, E.; PIERINI, A.; LIPPI, I. et al. Urinalysis and Urinary GGT-to-Urinary Creatinine Ratio in Dogs with Acute Pancreatitis. *Veterinary sciences*, v. 6, n. 1, p. 27, 2019.
- GRAUER, G.F. Internacional Renal Interest Society, IRIS Measurement and interpretation of proteinuria and albuminuria. 2016. Disponível em: <  
<http://www.iriskidney.com/education/proteinuria.html>. Acessado em: 12 out 2019.
- HAGMAN, R. Diagnostic and prognostic markers for uterine diseases in dogs. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 49, p. 16-20, 2014.
- HAGMAN, R. Pyometra in small animals. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 48, n. 4, p. 639-661, 2018.
- HALL, J. A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E. et al. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 30, n. 3, p. 794-802, 2016.
- HARLEY, L.; LANGSTON, C. Proteinuria in dogs and cats. *The Canadian veterinary journal*, v. 53, n. 6, p. 631, 2012.
- HEIENE, R.; KRISTIANSEN, V.; TEIGE, J.; JANSEN, J. H. Renal histomorphology in dogs with pyometra and control dogs, and long term clinical outcome with respect to signs of kidney disease. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 49, n. 1, p. 13, 2007.
- HEIENE, R.; MOE, L.; MOLMEN, G. Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra. *Research in veterinary science*, v. 70, n. 2, p. 129-137, 2001.
- HOKAMP, J.A.; NABITY, M.B. Renal biomarkers in domestic species. *Veterinary clinical pathology*, v. 45, n. 1, p. 28-56, 2016.
- LEES, G. E.; BROWN, S.A.; ELLIOTT, J. et al. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (small animal). *Journal of veterinary internal medicine*, v. 19, n. 3, p. 377-385, 2005.
- LIPPI, I.; PERONDI, F.; MEUCCI, V. et al. Clinical utility of urine kidney injury molecule-1 (KIM-1) and gamma-glutamyl transferase (GGT) in the diagnosis of canine acute kidney injury. *Veterinary research communications*, v. 42, n. 2, p. 95-100, 2018.
- MADDENS, B.; DAMINET, S.; SMETS, P.; MEYER, E. *Escherichia coli* pyometra induces transient glomerular and tubular dysfunction in dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, v. 24, n. 6, p. 1263-1270, 2010.



- 401 MADDENS, B.; HEIENE, R.; SMETS, P. et al. Evaluation of kidney injury in dogs with  
 402 pyometra based on proteinuria, renal histomorphology, and urinary biomarkers. *Journal of*  
 403 *Veterinary Internal Medicine*, v. 25, n. 5, p. 1075-1083, 2011.
- 404 MCKENNA, M.; PELLIGAND, L.; ELLIOTT, J. et al. Relationship between serum iohexol  
 405 clearance, serum SDMA concentration, and serum creatinine concentration in non-azotemic  
 406 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(1), 186-194, 2020.
- 407 NABITY, M.B.; LEES, G.E.; BOGGESE, M.M. et al. Symmetric dimethylarginine assay  
 408 validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease  
 409 in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 29, n. 4, p. 1036-1044, 2015.
- 410 PALTRINIERI, S. MANGIAGALLI, G.; IBBA, F. Use of urinary  $\gamma$ -glutamyl transferase  
 411 (GGT) to monitor the pattern of proteinuria in dogs with leishmaniasis treated with N-  
 412 methylglucamine antimoniate. *Research in veterinary science*, v. 119, p. 52-55, 2018.
- 413 PERONDI, F.; LIPPI, I.; CECCHERINI, G. et al. Evaluation of urinary  $\gamma$ -glutamyl transferase  
 414 and serum creatinine in non-azotaemic hospitalised dogs. *Veterinary Record*, p. vetrec-2017-  
 415 104439, 2019.
- 416 PLAVEC, T. CELINŠEK, B.; DOLINAR, K. et al. Haemostasis impairment in bitches with  
 417 pyometra. *Acta veterinaria*, v. 56, n. 5-6, p. 529-540, 2006.
- 418 PRESSLER, B.M. Clinical approach to advanced renal function testing in dogs and cats. *Clinics*  
 419 *in Laboratory Medicine*, v. 35, n. 3, p. 487-502, 2015
- 420 SANT'ANNA, M.C.; MARTINS, G.F.; FLAIBAN, K.K. et al. Protein-to-creatinine urinary in  
 421 the early diagnosis of renal injury in canine pyometra. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 39,  
 422 n. 3, p. 186-191, 2019.
- 423 SEAR, J. W. Kidney dysfunction in the postoperative period. *British Journal of Anaesthesia*,  
 424 v. 95, n. 1, p. 20–32, 2005.
- 425 STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. *Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária*. 2.ed.  
 426 Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2011.744p.
- 427 TRAUTWEIN, L. G. C.; SANT'ANNA, M.C.; JUSTINO, R.C. et al. Piometras em cadelas:  
 428 relação entre o prognóstico clínico e o diagnóstico laboratorial. *Ciência Animal Brasileira*, v.  
 429 18, 2017.
- 430 YERRAMILI, M.; FARACE, G.; QUINN, J. et al. Kidney disease and the nexus of chronic  
 431 kidney disease and acute kidney injury: the role of novel biomarkers as early and accurate  
 432 diagnostics. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 46, n. 6, p. 961-993, 2016.

- 433 YOON, H.Y.; BYUN, J.Y.; PARK, K.H. et al. Sterile Pyometra in Two Dogs. *Immune network*,  
434 v. 17, n. 2, p. 128-131, 2017.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, M. G. et al. Avaliação da Gama-glutamyltransferase na Urina de Cadelas com Piometra. **Veterinária Notícias**, v. 20, n. 1, 2014.
- ANDREEV, E.; KOOPMAN, M.; ARISZ, L. A rise in plasma creatinine that is not a sign of renal failure: which drugs can be responsible? **Journal of internal medicine**, v. 246, n. 3, p. 247-252, 1999.
- BARBOZA, S. R. et al. Determinação da GGT urinária e ultrassonografia Doppler na avaliação renal de cães anêmicos. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 38, n. 2, p. 137-142, 2016.
- BARSANTI, J. A. Genitourinary infections. In: GREENE, C. E., editor. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4th ed. Georgia: Elsevier; p. 1376, 2012.
- BONEGIO, R. G. B.; SALANT, D. J. Glomerular Diseases. **ACP Medicine**. Hamilton, Ontario, Canada, p. 1-27. 2011.
- BONVENTRE, J. V. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a specific and sensitive biomarker of kidney injury. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 68, n. sup241, p. 78-83, 2008.
- BRADY, C. A.; OTTO, C. M. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and multiple organ dysfunction. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 31, n. 6, p. 1147-1162, 2001.
- CARRETÓN, E. et al. Evaluation of serum biomarkers and proteinuria for the early detection of renal damage in dogs with heartworm (*Dirofilaria immitis*). **Veterinary Parasitology**, v. 283, p. 109144, 2020.
- CARVALHO, M. B. Insuficiência renal aguda. JERICÓ, M. M.; KOGIKA, M. M.; ANDRADE NETO, J. P. In: **Tratado de Medicina Interna de cães e gatos**. 1ª ed., v. 2, pag.1364-1393, 2015.
- CHAN, L.Y. et al. Spontaneous uterine perforation of pyometra. A report of three cases. **J. Reprod. Med.**, V. 45, n. 10, p.857-60, 2000.
- CLEMO, F. A. S. Urinary enzyme evaluation of nephrotoxicity in the dog. **Toxicologic pathology**, v. 26, n. 1, p. 29-32, 1998.
- COBRIN, A. R. et al. Biomarkers in the assessment of acute and chronic kidney diseases in the dog and cat. **Journal of Small Animal Practice**, v. 54, n. 12, p. 647-655, 2013.
- CONCANNON, Patrick W. Reproductive cycles of the domestic bitch. **Animal reproduction science**, v. 124, n. 3-4, p. 200-210, 2011.
- CONTI-PATARA, A. et al. Changes in tissue perfusion parameters in dogs with severe sepsis/septic shock in response to goal-directed hemodynamic optimization at admission to ICU and the relation to outcome. **Journal of veterinary emergency and critical care**, v. 22, n. 4, p. 409-418, 2012.
- COWGILL, J. **International Renal Interest Society**. Grading of acute kidney injury. International Renal Interest Society.1-9. 2016.

DAHLEM, D. P. et al. Plasma symmetric dimethylarginine concentration in dogs with acute kidney injury and chronic kidney disease. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 31, n. 3, p. 799-804, 2017.

DALTON, R. N. Serum creatinine and glomerular filtration rate: perception and reality. **Clinical Chemistry**, v. 56, n. 5, p. 687-89, 2010.

DE LOOR, J. et al. Urinary biomarkers for acute kidney injury in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 27, n. 5, p. 998-1010, 2013.

DE SCHEPPER, J. et al. Urinary  $\gamma$ -glutamyl transferase and the degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. **Res Vet Sci**, v.46, p.396-400, 1989.

DEITCH, E. A.; GOODMAN, E. R. Prevention of multiple organ failure. **Surg Clin North Am** 79:1471-1488, 1999.

DIBARTOLA, S. P. Disorders of Sodium and Water: Hypernatremia and Hyponatremia. In: DIBARTOLA, S. P. Fluid, Electrolyte, and Acid-Base **Disorders in Small Animal Practice**. 4ed. St. Louis: Elsevier Saunders, Cap. 3, p. 45-79, 2012.

EGENVALL, A. et al. Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 15, n. 6, p. 530-538, 2001.

EVANGELISTA, Luanna et al. Função renal em cadelas com piometra antes e após ovariossalpingohisterectomia. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 3, p. 153-161, 2010.

FERREIRA, P. C. C. **Avaliação da hemodiafiltração no período peri-operatório da ovariossalpingo-histerectomia, em cadelas com piometra e refratárias ao tratamento conservador da insuficiência renal aguda**. 2006. 176f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

FIENI, F.; TOPIE, E.; GOGNY, A. Medical treatment for pyometra in dogs. **Reproduction in domestic animals**, v. 49, p. 28-32, 2014.

FIGUEIREDO, M. S. et al. Renal injury in female dogs with pyometra. **Ciência rural**, v. 47, n. 5, p. 21, 2017.

FOSSUM, T.W. Cirurgia dos sistemas reprodutivo e genital. In: **Cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. 2008. Rio de Janeiro: Elsevier. p.702-774.

FRAZILIO, F. O. et al. Biomarkers and renal arterial resistive index in dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. **Parasitology research**, v. 117, n. 11, p. 3399-3405, 2018.

GIAPITZOGLOU, S. et al. Evaluation of serum symmetric dimethylarginine as a biomarker of kidney disease in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, v. 277, p. 109015, 2020.

GOPAL, S. et al. Ultrasonographic and Haemato-biochemical Evaluation of Bitches Affected with Cystic Endometrial Hyperplasia-Pyometra Complex. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci**, v. 7, n. 6, p. 2327-2338, 2018.

GRAUER, G. F. Measurement, interpretation, and implications of proteinuria and albuminuria. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 37, n. 2, p. 283-295, 2007.

GUIMARÃES, F. V. **Avaliação da atividade da gama glutamil transpeptidase urinária em cães que receberam gentamicina em dose terapêutica**. 2000. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Paraná, 2000.

HAAS, M.; KAUP, F.; NEUMANN, S. Canine pyometra: a model for the analysis of serum CXCL8 in inflammation. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 78, n. 3, p. 375-381, 2016.

HAGMAN R, RÖNNBERG E. Canine induces the positive regulation of genes related to proteolysis and the negative regulation of homeobox factors and zinc fingers. **Plos One**; 4 : 1–14, 2009.

HAGMAN, R. Pyometra in small animals. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 48, n. 4, p. 639-661, 2018.

HAGMAN, R.; GRECO, C. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from bitches with pyometra and from urine samples from other dogs. **Veterinary record**, v. 157, n. 7, p. 193-197, 2005.

HAGMAN, R.; STROM HOLST B.; MOLLER L. et al. Incidence of pyometra in Swedish insured cats. **Theriogenology**, 82:114–20, 2014.

HALL, J. A. et al. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 3, p. 794-802, 2016.

HAUPTMAN, J. G.; WALSHAW, R.; OLIVIER, N. B. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. **Veterinary surgery**, v. 26, n. 5, p. 393-397, 1997.

HEIENE, R. et al. Renal histomorphology in dogs with pyometra and control dogs, and long term clinical outcome with respect to signs of kidney disease. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 49, n. 1, p. 13, 2007.

HEIENE, R.; MOE, L.; MØLMEN, G. Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra. **Research in veterinary science**, v. 70, n. 2, p. 129-137, 2001.

HEIENE, Reidun; MOE, Lars. The relationship between some plasma clearance methods for estimation of glomerular filtration rate in dogs with pyometra. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 13, n. 6, p. 587-596, 1999.

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.

IBBA, F.; MANGIAGALLI, G.; PALTRINIERI, S. Urinary gamma-glutamyl transferase (GGT) as a marker of tubular proteinuria in dogs with canine leishmaniasis, using sodium dodecylsulphate (SDS) electrophoresis as a reference method. **The Veterinary Journal**, v. 210, p. 89-91, 2016.

IRIS, Internacional Renal Interest Society. IRIS staging of CKD. 2019. Disponível e: [http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS\\_Staging\\_of\\_CKD\\_modified\\_2019.pdf](http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_Staging_of_CKD_modified_2019.pdf). Acessado em: 12 jan 2020.

JITPEAN, S. et al. Breed variations in the incidence of pyometra and mammary tumours in Swedish dogs. **Reproduction in domestic animals**, v. 47, p. 347-350, 2012.

JITPEAN, S. et al. Outcome of pyometra in female dogs and predictors of peritonitis and prolonged postoperative hospitalization in surgically treated cases. **BMC veterinary research**, v. 10, n. 1, p. 6, 2014.

KALENSKI, T. A. et al. Identification of the microorganisms involved in severe sepsis caused by pyometra in bitches undergoing ovariohysterectomy. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 49, n. 2, p. 130-138, 2012.

KARLSSON, I. et al. Cytokines as immunological markers for systemic inflammation in dogs with pyometra. **Reproduction in domestic animals**, v. 47, p. 337-341, 2012.

KIELSTEIN, J. T. et al. Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function a meta-analysis. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 21, n. 9, p. 2446-2451, 2006.

KINNIS, J.; NELSON, N. Ovários, úteros e vagina. THRALL, D. E. In: **Diagnóstico de radiologia veterinária**. 2014, 6 ed. - Rio de Janeiro, Elsevier, p. 1627-1653.

KOENHEMSI, L. et al. Evaluation of early renal disease in bitches with pyometra based on renal doppler measurements. **Veterinárni medicína**, v. 61, n. 6, p. 344-347, 2016.

KONVALINKA, A.; SCHOLEY, J. W.; DIAMANDIS, E. P. Searching for new biomarkers of renal diseases through proteomics. **Clinical chemistry**, v. 58, n. 2, p. 353-365, 2012.

KREKELER, N. et al. Effect of Simulated Stages of the Canine Oestrous Cycle on E scherichia coli Binding to Canine Endometrium. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 331-334, 2012.

LE SUEUR, A. N. V. et al. Symmetric dimethylarginine concentrations in dogs with International Renal Interest Society stage 4 chronic kidney disease undergoing intermittent hemodialysis. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 33, n. 6, p. 2635-2643, 2019.

LEES, G. E. et al. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (small animal). **Journal of veterinary internal medicine**, v. 19, n. 3, p. 377-385, 2005.

LEFEBVRE, H. P.; CRAIG, A. J.; BRAUN, J. P. GFR in the dog: breed effect. In: Proceedings of the 16th ECVIM-CA Congress. Munich, Germany: **European College of Veterinary Internal Medicine-Companion Animals**. 2006. p. 261.

LEONE, Anna et al. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. **The Lancet**, v. 339, n. 8793, p. 572-575, 1992.

LOPATE, C. Estimation of gestational age and assessment of canine fetal maturation using radiology and ultrasonography: a review. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 397-402, 2008.

MADDENS, Bert et al. Escherichia coli pyometra induces transient glomerular and tubular dysfunction in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 24, n. 6, p. 1263-1270, 2010.

MADDENS, Bert et al. Evaluation of kidney injury in dogs with pyometra based on proteinuria, renal histomorphology, and urinary biomarkers. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 5, p. 1075-1083, 2011.

MARTINS, A. P. **Avaliação da presença de lesão renal e de peritonite em cadelas com piómetra**. 2019. Tese de Doutorado. Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. 100p.

MATEUS, L. et al. Virulence genotypes of *Escherichia coli* canine isolates from pyometra, cystitis and fecal origin. **Veterinary microbiology**, v. 166, n. 3-4, p. 590-594, 2013.

MCKENNA, M. et al. Relationship between serum iohexol clearance, serum SDMA concentration, and serum creatinine concentration in non-azotemic dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, n. 1, p. 186-194, 2020.

MEUNIER, A. S.; BILLE, C. État de choc et syndrome de réponse inflammatoire systémique (SRIS) chez le chien. **Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie**, v. 45, n. 4, p. 135-141, 2010.

NABITY, M. B. et al. Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 4, p. 1036-1044, 2015.

OKANO, S.; TAGAWA, M.; TAKASE, K. Relationship of the blood endotoxin concentration and prognosis in dogs with pyometra. **Journal of veterinary medical science**, v. 60, n. 11, p. 1265-1267, 1998.

OLIVEIRA, C. M. Afecções do sistema genital da fêmea e glândulas mamárias. JERICÓ, M. M.; ANDRADE NETO, J. P.; KOGIKA, M. M. **In: Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Grupo Gen-Guanabara Koogan, P. 1364-1393, 2015.

OLIVEIRA, R. G. et al. Piometra em cadela com complicação renal. 2019. **Ciência Animal**, v. 29, n. 1, p. 135-145, 2019.

PARDO-MARIN, L. et al. Comparison of acute phase proteins in different clinical classification systems for canine leishmaniosis. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 219, p. 109958, 2020.

PERONDI, F. et al. Evaluation of urinary  $\gamma$ -glutamyl transferase and serum creatinine in non-azotaemic hospitalised dogs. **Veterinary Record**, p. vetrec-2017-104439, 2019.

PERRONE, R. D. Means of clinical evaluation of renal disease progression. **Kidney Int**, v. 41, n. 36, p. S26-S32, 1992.

PIERINI, A. et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, nucleated red blood cells and erythrocyte abnormalities in canine systemic inflammatory response syndrome. **Research in veterinary science**, v. 126, p. 150-154, 2019.

PRESSLER, R. et al. Consensus guidelines for immunosuppressive treatment of dogs with glomerular disease absent a pathologic diagnosis. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 27, p. S55-S59, 2013.

RABELO, R. C. Sepsis, sepsis grave e choque séptico. In.: RABELO, R. C. **Emergências de pequenos animais – Condutas clínicas e cirúrgicas no paciente grave**. Rio de Janeiro, Elsevier, pag. 323-340, 2013.

RELFORD, R.; ROBERTSON, J.; CLEMENTS, C. Symmetric dimethylarginine: improving the diagnosis and staging of chronic kidney disease in small animals. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 46, n. 6, p. 941-960, 2016.

RIBEIRO, L. S. et al. Injúria renal aguda em cadelas com piometra: a importância do diagnóstico precoce. 2019.

RIVERS, B. J.; WALTER, P. A.; O'BRIEN, T. D.; KING, V. L.; POLZIN, D. J. Evaluation of urine gamma-glutamyl transpeptidase-to-creatinine ratio as a diagnostic tool in an experimental model of aminoglycoside-induced acute renal failure in the dog. **Journal of the American Hospital Association**, Lakewood, v. 32, n. 4, p. 323-336, 1996.

SANDHOLM, M.; VASENIUS, H.; KIVISTÖ, A. K. Pathogenesis of canine pyometra. **Journal of the American veterinary medical association**, v. 167, n. 11, p. 1006, 1975.

SANT'ANNA, M. C. et al. Protein-to-creatinine urinary in the early diagnosis of renal injury in canine pyometra. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 3, p. 186-191, 2019.

SANT'ANNA, M.C.; GIORDANO, L.G.P.; FLAIBAN, K.K.M.C.; MULLER, E.E.; MARTINS, M.I.M. Prognostic markers of canine pyometra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.66, n.6, p.1711-1717, 2014.

SANTOS, K. K. F. **Guia prático de nefrologia em cães e gatos**. Rio de Janeiro: LF Livros, p. 272, 2014.

SANTOS, R. V. et al. Ultrassonografia Doppler na avaliação renal de cadelas diagnosticadas com piometra antes e após tratamento com ovariossalpingohisterectomia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 635-642, 2013.

SCHWEDHELM, E.; BÖGER, R. H. The role of asymmetric and symmetric dimethylarginines in renal disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 7, n. 5, p. 275, 2011.

SILVA, E. et al. Prostaglandin synthesis genes are differentially transcribed in normal and pyometra endometria of bitches. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, p. 200-203, 2009.

SPECHT, A.; CHAN, D.; O'TOOLE, T.; KENT, M.; BENSON, J. A.; ROZANSKI, E.; RUSH, J. Acute staphylococcal peritonitis following cystocentesis in a dog. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 12, n. 3, p. 183–187, 2002.

STEINBACH, S. et al. Plasma and Urine Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin (NGAL) in dogs with acute kidney injury or chronic kidney disease. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 28, n. 2, p. 264-269, 2014.

TATEMATSU, S. et al. Role of Nitric Oxide–Producing and–Degrading Pathways in Coronary Endothelial Dysfunction in Chronic Kidney Disease. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 18, n. 3, p. 741-749, 2007.

THOEN, M. E.; KERL, M. E. Characterization of acute kidney injury in hospitalized dogs and evaluation of a veterinary acute kidney injury staging system. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 21, n. 6, p. 648-657, 2011.

VEADO, J. C. C.; ROCHA, D. F.; COBUCCI, G. C.; MELO, M. M.; BANDEIRA, C. M.; PAES, P. R. O.  $\gamma$ -Glutamyltransferase urinária, proteína urinária e fósforo sérico no diagnóstico precoce da insuficiência renal aguda induzida em cães. In: **Conferência Sulamericana De Medicina Veterinária**, 10, 2010, Rio de Janeiro. *Anais...* Belo Horizonte: CSAMV, 2010.

VEIGA, G. A. L. et al. Cystic endometrial hyperplasia–pyometra syndrome in bitches: identification of hemodynamic, inflammatory, and cell proliferation changes. **Biology of Reproduction**, v. 96, n. 1, p. 58-69, 2017.



- VERSTEGEN, J.; DHALIWAL, G.; VERTEGEN-ONCLIN, K. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 364–374, 2008.
- VIEIRA JÚNIOR, J. M. Injúria renal aguda (IRA) relacionada à sepse. In.: AZEVEDO, L. C. P., MACHADO, F. R. **Sepse**. São Paulo, Atheneu, pag.13-20, 2014.
- VON HENDY-WILLSON, V. E.; PRESSLER, B. M. An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. **The Veterinary Journal**, v. 188, n. 2, p. 156-165, 2011.
- VOORWALD, F. A. et al. Molecular expression profile reveals potential biomarkers and therapeutic targets in canine endometrial lesions. **PloS one**, v. 10, n. 7, p. e0133894, 2015.
- WALDROP J. E. Urinary Electrolytes, Solutes, and Osmolality. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.38, p.503–512, 2008.
- WALLACE, Mandy L. et al. Single incision, laparoscopic-assisted ovariohysterectomy for mucometra and pyometra in dogs. **Veterinary Surgery**, v. 44, n. S1, p. 66-70, 2015.
- YERRAMILI, Murthy et al. Kidney disease and the nexus of chronic kidney disease and acute kidney injury: the role of novel biomarkers as early and accurate diagnostics. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 46, n. 6, p. 961-993, 2016.
- YU, I.J. Hematological and serum chemical characteristics of open-cervix and closed-cervix pyometra in bitches. **J Anim Vet Adv**, v.11, n.19, p.3658-3661, 2012.
- ZARAGOZA, C. et al. Canine pyometra: a study of the urinary proteins by SDS–PAGE and Western blot. **Theriogenol.**, v.61, p.1259-1272, 2004.
- ZENI, F.; FREEMAN, B.; NATANSEN, C. Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: A reassessment. **Crit Care Med**, 25:1095-1100, 1997.

## APÊNDICES

### APÊNDICE 1

**Valores individuais dos bioquímicos séricos dos animais, e valores médios, desvios-padrão, mínimo e máximo entre os tempos avaliados**

ANIMAL	Creatinina sérica (sCr) (0,5 – 1,5 mg/dL)			Ureia sérica (21,4 - 60 mg/dL)			Alamina aminotransferase (ALT) - (21 - 86 UI/L)			Fosfatase alcalina (FA) (20 - 156 UI/L)		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2	T0	T1	T2	T0	T1	T2
<b>1</b>	1,5	1,87	--	147,9	80,8	--	3	17,6	--	68,5	57	--
<b>2</b>	1,3	0,23	0,22	11	28	15	24	35	59	246	263	146
<b>3</b>	1,06	0,96	1,16	31,44	24,9	62,48	31,43	14,55	353,86	41	128	238
<b>4</b>	1,05	1,16	--	17,8	23,38	--	18,1	24,44	--	94	127	--
<b>5</b>	1,5	3,47	5,17	70	73,76	183,8	19,9	20,37	283,43	63	218	481
<b>6</b>	0,6	0,96	1,03	8	49	43,6	73	28,6	38,3	85	49	237,9
<b>7</b>	1,37	1,87	--	21,9	61,9	--	26,3	56,7	--	36,1	25,6	--
<b>8</b>	0,89	1,22	--	20,1	17	--	40,5	41,1	--	52,6	83,8	--
<b>9</b>	1,47	1,2	--	44	44,3	--	32,1	40	--	119,9	151	--
<b>10</b>	0,83	0,87	0,9	14,5	23,5	35,1	40,5	38	59	122,2	90,8	62,5
<b>11</b>	0,75	0,79	0,79	28,6	31,6	48,7	18,9	20,6	32	--	224,9	427,3
<b>12</b>	1,04	1,13	1,3	57,1	47,8	644	59,6	53,9	52	44,6	42,7	54,5
<b>13</b>	1	0,75	0,77	72,5	46	92,2	29,7	44	342	153,6	711	524
<b>14</b>	1,15	3,17	1,2	16,1	275	59,2	21,6	38,2	281	176,9	334,6	407
<b>MÉDIA</b>	1,11	1,40	1,39	40,07	59,07	67,16	31,33	33,79	166,73	100,26	179,03	286,47
<b>MÁX</b>	1,5	3,47	5,17	147,9	275	183,8	73	56,7	353,86	246	711	524
<b>MÍN</b>	0,6	0,23	0,22	8	17	15	3	14,55	32	36,1	25,6	54,5
<b>DESPAD</b>	0,29	0,92	1,45	37,64	65,12	48,69	17,85	13,20	142,93	62,24	178,62	179,25

**APÊNDICE 1** (continuação)

**Valores individuais dos bioquímicos séricos dos animais, e valores médios, desvios-padrão, mínimo e máximo entre os tempos avaliados**

ANIMAL	Proteína total (PT) (5,4 a 7,8 g/dL)			Dimetilarginina simétrica (SDMA) - (< 14µg/dL)		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2
<b>1</b>	7,6	3,8	--	19	23	--
<b>2</b>	--	--	--	44	59	21
<b>3</b>	973	8,41	13,17	16	13	10
<b>4</b>	--	9,52	--	10	12	--
<b>5</b>	5,9	7,22	8,93	17	65	78
<b>6</b>	7,6	5,8	7	6	8	11
<b>7</b>	6,2	3	--	8	18	--
<b>8</b>	5,1	4	--	12	15	--
<b>9</b>	1	1,6	--	16	19	--
<b>10</b>	5,06	2	3,2	16	12	15
<b>11</b>	--	1,2	2,2	9	11	17
<b>12</b>	3,2	2,8	4,8	10	9	10
<b>13</b>	6,82	6	7,8	30	23	21
<b>14</b>	5,4	8	7,4	35	84,5	14
<b>MÉDIA</b>	5,78	4,87	6,81	17,71	26,54	21,89
<b>MÁX</b>	9.73	9,52	13,17	44	84,5	78
<b>MÍN</b>	1	1,2	2,2	6	8	10
<b>DESPAD</b>	2.33	2,79	3,48	11,13	24,30	21,46

## APÊNDICE 2

**Valores individuais dos bioquímicos urinários dos animais, e valores médios, desvios-padrão, mínimo e máximo entre os tempos avaliados**

ANIMAL	Densidade urinaria (DU) (1,015 – 1,045)			Proteína urinária (uPT) (até 20 mg/dL)			Creatinina urinária (uCr) (60 - 120 mg/dL)			Relação proteína:creatinina urinária (uPC) < 0,5		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2	T0	T1	T2	T0	T1	T2
<b>1</b>	1,020	1,016	--	84,6	51,9	--	30	25	--	2,82	2,07	--
<b>2</b>	1,012	1,018	1,010	68,3	81,5	7,6	32,5	57,5	57,5	2,1	1,41	0,1
<b>3</b>	1,022	1,014	1,036	17,2	7	16,8	32,5	20	52,5	0,52	0,28	0,32
<b>4</b>	1,020	1,048	--	3,3	5,6	--	82,5	135	--	0,04	0,41	--
<b>5</b>	1,040	1,016	1,016	17,7	3,4	4,3	140	25	45	0,16	0,2	0,06
<b>6</b>	1,034	1,036	1,026	12,1	34,4	8,2	57	113,25	102,5	0,2	0,3	0,08
<b>7</b>	1,030	1,046	--	111,5	85,6	--	127,5	207,5	--	0,87	0,46	--
<b>8</b>	1,052	1,012	--	28,3	74	--	262,5	29,25	--	0,1	2,5	--
<b>9</b>	1,012	1,012	--	80,1	80,1	--	25	25	--	3,2	3,2	--
<b>10</b>	1,020	1,050	1,032	49,1	51,8	15,2	50	72,5	95	0,8	0,53	0,16
<b>11</b>	1,026	1,022	1,014	29,8	86,2	3	97,5	72,5	32,5	0,3	1,18	0,09
<b>12</b>	1,050	1,050	1,050	36,5	34	21,2	225	170	337,5	0,16	0,2	0,6
<b>13</b>	1,034	1,024	1,038	182,5	71,2	12,6	105	45	37,5	1,73	1,58	0,33
<b>14</b>	1,030	1,022	1,024	120,3	74,5	39,3	85	25	70	1,41	2,98	0,56
<b>MÉDIA</b>	1028,71	1027,57	1027,33	60,09	52,94	14,24	96,57	73,04	92,22	1,03	1,24	0,26
<b>MÁX</b>	1052	1050	1050	182,5	86,2	39,3	262,5	207,5	337,5	3,2	3,2	0,6
<b>MÍN</b>	1012	1012	1010	3,3	3,4	3	25	20	32,5	0,04	0,2	0,06
<b>DESPAD</b>	12,47	15,03	12,96	51,21	30,98	11,14	72,73	60,72	95,09	1,06	1,08	0,21

**APÊNDICE 2** (continuação)

**Valores individuais dos bioquímicos urinários dos animais, e valores médios, desvios-padrão, mínimo e máximo entre os tempos avaliados**

ANIMAL	Gama glutamil transferase (uGGT) – UI/L			Relação uGGT/uCr (< 0,42 U/mg)			uGGT corrigido (1,025) (13 - 92 UI/L)		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2	T0	T1	T2
<b>1</b>	14	16	--	0,46	0,64	--	17,5	25	--
<b>2</b>	161	237	27	4,95	4,12	1,39	335,4	329,16	67,5
<b>3</b>	95	71	80	2,92	3,55	1,52	107,95	126,78	55,55
<b>4</b>	102	187	--	1,24	1,38	--	127,5	97,39	--
<b>5</b>	160	16	14	1,14	0,64	0,31	100	25	21,87
<b>6</b>	77	108,56	50	1,35	1,05	0,49	56,62	75,39	48,07
<b>7</b>	96	242	--	0,75	1,17	--	80	131,52	--
<b>8</b>	54	20	--	0,21	0,68	--	25,96	41,67	--
<b>9</b>	59	60	--	2,36	2,4	--	122,92	122,92	--
<b>10</b>	32,5	112	22,2	0,65	1,54	0,23	40,25	56	13,55
<b>11</b>	79	82,1	66,3	0,81	1,13	2,04	75,96	93,29	118,39
<b>12</b>	51,3	55,1	42	0,23	0,32	0,11	25,65	27,55	21
<b>13</b>	649,5	221	74,4	6,18	4,91	1,98	477,2	230,2	48,95
<b>14</b>	241	328	102	2,84	13,12	1,46	200,83	372,73	114,58
<b>MÉDIA</b>	133,66	125,41	53,10	1,86	2,62	1,06	128,12	125,33	56,61
<b>MÁX</b>	649,5	328	102	6,18	13,12	2,04	477,2	372,73	118,39
<b>MÍN</b>	14	16	14	0,21	0,32	0,11	17,5	25	13,55
<b>DESPAD</b>	159,91	99,84	29,67	1,82	3,34	0,77	130,79	110,80	38,34

### APÊNDICE 3

**Valores de correlação linear de Pearson entre os biomarcadores renais séricos e urinários em T0**

	<b>Densidade urinaria</b>	<b>uGGT corrigido</b>	<b>uPC</b>	<b>uGGT/uCr</b>	<b>Creatinina</b>	<b>Ureia</b>	<b>SDMA</b>
<b>Densidade urinaria</b>	1	-0.224	-0.606	-0.570	-0.287	0.028	-0.331
<b>uGGT corrigido</b>	-0.224	1	0.349	0.958	0.094	-0.043	0.751
<b>uPC</b>	-0.606	0.349	1	0.548	0.590	0.447	0.528
<b>uGGT/uCr</b>	-0.330	0.958	0.422	1	0.096	-0.061	0.769
<b>Creatinina</b>	-0.287	0.094	0.590	0.264	1	0.518	0.320
<b>Ureia</b>	0.028	-0.043	0.447	-0.176	0.518	1	0.036
<b>SDMA</b>	-0.331	0.751	0.528	0.777	0.320	0.036	1

## APÊNDICE 4

Valores de correlação linear de Pearson entre os biomarcadores renais séricos e urinários em T1

	Densidade urinaria	uGGT corrigido	uPC	uGGT/uCr	Creatinina	Ureia	SDMA
Densidade urinaria	1	-0.208	-0.596	-0.405	-0.158	-0.125	-0.376
uGGT corrigido	-0.208	1	0.405	0.863	0.004	0.549	0.644
uPC	-0.596	0.405	1	0.559	0.128	0.434	0.328
uGGT/uCr	-0.225	0.863	0.488	1	0.319	0.824	0.691
Creatinina	-0.158	0.004	0.128	0.278	1	0.705	0.636
Ureia	-0.125	0.549	0.434	0.753	0.705	1	0.725
SDMA	-0.376	0.644	0.328	0.680	0.636	0.725	1

## APÊNDICE 5

Valores de correlação linear de Pearson entre os biomarcadores renais séricos e urinários em T2

	Densidade urinaria	uGGT corrigido	uPC	uGGT/uCr	Creatinina	Ureia	SDMA
Densidade urinaria	1	-0.478	0.693	0.142	-0.175	-0.020	-0.417
uGGT corrigido	-0.478	1	0.081	-0.031	-0.359	-0.317	-0.287
uPC	0.693	0.081	1	0.583	-0.205	-0.077	-0.411
uGGT/uCr	0.142	-0.031	0.583	1	0.290	0.171	0.136
Creatinina	-0.175	-0.359	-0.205	0.290	1	0.927	0.919
Ureia	-0.020	-0.317	-0.077	0.171	0.927	1	0.872
SDMA	-0.417	-0.287	-0.411	0.136	0.919	0.872	1



## ANEXOS

## ANEXO 1

ScholarOne Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Home

Author

# Submission Confirmation

Print

Thank you for your submission

**Submitted to**

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

**Manuscript ID**

ABMVZ-2021-12352

**Title**

Evaluation of kidney injury through early markers in canine pyometra

**Authors**

ANDRADE, ANDREZZA

Silva, Érica

dos Santos, Joana

Pessoa Oliveira, Karina

Silva , Karla Patricia

Kikuyo Notomi, Márcia

**Date Submitted**

26-Feb-2021

[Author Dashboard](#)