

INDICADORES DE LESÃO E FUNÇÃO HEPÁTICA¹

O fígado é notadamente um dos órgãos mais importantes do corpo, sendo ele de vital importância para o bom funcionamento do organismo (GUYTON, 1997). Também segundo ele o fígado é a maior víscera do corpo humano, sendo responsável pela produção e metabolismo de várias substâncias. O fígado atua de forma direta no armazenamento e degradação de substâncias, hormônios e participa da síntese e secreção de sais biliares, além de promover a regulação dos carboidratos, proteínas e lipídeos.

Segundo Mattos (2010) os primeiros relatos históricos do estudo da hepatologia datam de 3000 A.C., onde os estudiosos e oráculos faziam especulações futuras de um indivíduo em específico, ou acerca da sociedade da época, como por exemplo a respeito do prognóstico de uma batalha que deveria ser travada. Neste mesmo contexto os povos antigos relacionavam o fígado como sendo o centro da alma e das emoções, em função disto o fígado foi o órgão mais estudado e que mais se compilou dados desde os primórdios das mais diversas civilizações do mundo antigo.

De acordo com Dyce, Sack e Wensing (2004), o fígado é um grande órgão cavitário localizado na parte mais cranial do abdômen, tem um tamanho médio variável de 1 a 1,5% do peso corpóreo em herbívoros, até 3 a 5% em carnívoros. A sua unidade básica é denominada lóbulo hepático, que é uma estrutura cilíndrica que tem comprimento e diâmetro variável em milímetros. Os lóbulos hepáticos estão constituídos por hepatócitos (que é a forma como se denomina a unidade funcional hepática), arteríolas, vênulas e pequenos canálculos biliares, que formam o arcabouço estrutural do fígado.

Segundo Guyton (1997), o fígado tem funções básicas que podem ser divididas em:

- Funções vasculares para armazenamento e filtração do sangue,
- Funções metabólicas relacionadas à maioria dos sistemas do organismo,
- Funções secretoras e excretoras, responsáveis pela formação da bile.

Devido às inúmeras e relevantes funções que o fígado desempenha de forma direta e indireta no organismo, foram desenvolvidas várias técnicas para mensurar o desempenho, bem como apontar possíveis lesões neste órgão. De acordo com Thrall et al. (2015), os exames laboratoriais hepáticos devem ser divididos em testes que mensuram lesão nos hepatócitos, que detectam colestase e por fim os que avaliam a função hepática. Na sequência serão descritos os testes e provas mais importantes em medicina veterinária.

¹ Batista, Ch. Indicadores de lesão e função hepática. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016. p. 10.

Enzimas que detectam lesão nos hepatócitos

As lesões nos hepatócitos são detectadas através da mensuração de enzimas séricas liberadas do rompimento celular hepático, fornecendo informações da extensão, magnitude e curso (aguda ou crônica) da lesão.

ALT (alanina aminotransferase)

ALT no passado também foi denominada de transaminase glutâmico-pirúvica (GPT), é uma enzima encontrada livre no plasma dos hepatócitos, então no rompimento celular ela é liberada na corrente circulatória (THRALL et al., 2015). Esta enzima catalisa a reação de transaminação reversível de alanina e 2-cetoglutarato em piruvato e glutamato, e utiliza como cofator o piridoxal-fosfato. Os cães e gatos apresentam maiores concentrações desta enzima que as demais espécies, mas não necessariamente ela é uma enzima hepato-específica, pois também pode ser encontrada na massa muscular esquelética estriada e cardíaca, rins e eritrócitos. A enzima originária destes tecidos não é capaz de induzir a um aumento de ALT muito maior que 3 vezes o valor normal. A concentração de ALT é baixa no citoplasma dos hepatócitos de equinos e ruminantes, não sendo desta forma uma prova confiável para estas espécies.

Vários transtornos como exemplo, hipóxia, acúmulo de lipídeos hepáticos, doenças bacterianas e virais, inflamações, neoplasias hepáticas, endo e exotoxinas, bem como medicamentos podem induzir a lesão hepato-celular e a liberação ALT para a corrente circulatória dos cães e gatos. ALT é uma enzima que tem curso de elevação agudo, mas sua elevação é proporcional à lesão encontrada, tendo seu pico de liberação detectado de 3 a 4 dias após a lesão, mas com retorno basal em até 14 dias (GONZALEZ e SILVA, 2006). Segundo Thrall et al. (2015), ALT tem uma meia vida estimada de 17 a 60 horas em cães e de 3,5 horas em gatos. Em animais com lesões crônicas pode haver um discreto aumento desta enzima, o que pode ser quase imperceptível.

AST (aspartato aminotransferase)

AST também chamada no passado de transaminase glutâmico-oxalacética (GOT), promove a catalisação de transaminação reversível de aspartato e 2-cetoglutarato em oxalacetato e glutamato, e tem como cofator piridoxal-fosfato (GONZALEZ e SILVA, 2006). É encontrada predominantemente no citosol e em menor quantidade nas mitocôndrias dos hepatócitos, e nas células musculares esqueléticas e cardíacas de todas as espécies domésticas. É considerada uma

enzima de fase aguda, que nos cães tem uma meia-vida estimada de 4-12 horas, nos gatos de até 77 minutos e nos equinos e ruminantes pode permear por até 7 a 8 dias. Os valores de AST podem ser induzidos a alterações em várias doenças como exemplo, hipóxia, acúmulo de lipídeos hepáticos, doenças bacterianas e virais, inflamações, neoplasias hepáticas, endo e exotoxinas, além de intoxicações medicamentosas. Seus níveis também podem estar elevados em exercício intenso e em deficiência de vitamina E e selênio, mas nestes casos também deve ser aferido CK (enzima específica para desordem muscular) para fazer o diagnóstico diferencial de doenças musculares.

Em cães e gatos o aumento de AST pode ser menos demarcado que o de ALT, porém se mantem em níveis basais por mais tempo, embora seja menos hepato-específica que ALT pode ser sensível para algumas lesões hepáticas. Em equinos e ruminantes é a enzima de utilização mais corriqueira na clínica de grandes animais para a detecção de lesões hepáticas (THRALL et al., 2015). Seguindo o raciocínio do mesmo autor o único inconveniente do uso desta enzima em grandes animais é a sua inespecificidade, o que pode gerar a um falso positivo por uma lesão muscular, mas que pode ser diferenciada através da dosagem de CK; da mesma forma que ALT, a AST também pode estar levemente alterado em doenças crônicas em todos os animais domésticos.

SDH (sorbitol desidrogenase)

De acordo com o trabalho compilado por Gonzalez e Silva (2006), esta enzima catalisa a oxidação reversível de sorbitol para frutose, que se utiliza com cofator o NAD^+ , sendo uma enzima com exclusividade no citosol dos hepatócitos. Está presente em cães, gatos, equinos e ruminantes, em altas concentrações e em baixa nos demais tecidos, por isso pode ser definida como uma enzima hepato-específica que é liberado em qualquer lesão no hepatócito, tendo meia-vida de até 48 horas, com uma boa estabilidade no soro de grandes animais (THRALL et al., 2015). Seguindo o raciocínio da autora acima, ela não é superior que ALT em pequenos animais, porém nos grandes animais é específica para lesão hepática. O único entrave no uso desta técnica na clínica veterinária, é que não há kits comerciais disponíveis para dosar esta enzima rotina.

GLDH (glutamato desidrogenase)

Glutamato desidrogenase é uma enzima encontrada nas mitocôndrias de células hepáticas e renais, podendo também ser encontrada no músculo cardíaco e outros tecidos em pequenas concentrações, sendo é liberada a partir do extravasamento celular para a corrente

circulatória (Gonzalez 2000). Ainda segundo o mesmo autor quanto maior sua presença no plasma, maior é a lesão hepática encontrada, sendo em ruminantes uma enzima que indica necrose hepática. Esta enzima é muito sensível para lesões hepáticas em cães, tendo também uma boa especificidade em equinos, sendo muito estável no soro das espécies domésticas por 48 horas a temperatura ambiente, e congelado por até 6 meses. Como observação negativa desta técnica, é os kits comerciais desta enzima são importados e muito caros para o uso na rotina, já nos EUA não há disponibilidade deste teste comercial (THRALL et al., 2015).

Enzimas que detectam colestase

Durante a colestase o fluxo biliar fica comprometido de forma parcial ou total, no decorrer deste processo as células biliares extravasam liberando algumas enzimas que podem ser detectadas na corrente circulatória.

GGT (γ -glutamyl transferase)

A GGT é uma enzima que tem papel de catalisar a transferência de grupos gama-carboxila do glutamato a um peptídeo, sendo ele geralmente o dipeptídeo Gly-Gly, podendo ser encontrada nas membranas e no citosol de células, especialmente no epitélio dos ductos biliares e túbulos renais (GONZALEZ e SILVA, 2006). De acordo com Thrall et al. (2015), GGT é uma enzima que pode estar elevada em lesão hepática aguda, e pode ser encontrada na maioria dos tecidos corporais, dentre eles, o pâncreas, rins, também pode estar presente na glândula mamária de cadelas, ovelhas e vacas, mas as enzimas que estão presentes no plasma sanguíneo têm geralmente origem hepática, com maior concentração dos túbulos biliares. Em cães a obstrução dos ductos biliares pode elevar em até 14 dias 50 vezes e para gatos até 16 vezes o valor de referência; sendo que em gatos esta enzima pode se apresentar mais específica que sensível. Gonzalez e Silva (2006), afirma que esta enzima pode aumentar em neonatos que tem consumo regular de colostro, principalmente bezerros, podendo esta enzima permear por até 3 semanas na corrente sanguínea, em bovinos esta enzima pode ser bom indicativo de fasciolose e lipidose hepática. Thrall et al. (2015), também relata em seu livro que os bezerros que consumiram colostro a atividade desta enzima pode estar 50 vezes mais elevada que o normal, alcançando valores normais em até 5 semanas após a elevação, já os bovinos adultos com lipidose hepática podem apresentar uma elevação plasmática dos valores de referência de 2 a 3 vezes; também apresenta uma boa sensibilidade nos equinos com colestase.

FA (fosfatase alcalina)

De acordo com Gonzalez e Silva (2006), a FA promove a catalisação da hidrólise de ésteres do ácido fosfórico sob condições alcalinas, tendo um pH de ótima atividade in vitro em torno de 10, existindo isoenzimas de FA na membrana celular de vários tecidos. Os órgãos como fígado, rins, intestinos, pâncreas, ossos, e a placenta, tem maiores concentrações de FA nas membranas celulares; são duas formas de isoenzimas produzidas a partir de dois genes diferentes, uma intestinal e uma tecidual inespecífica, esta última pode sofrer alteração pós-translacional adicional nos diferentes tecidos, formando diferentes isoformas nos ossos, rins, placenta, e fígado. Também de acordo com a mesma autora a maior parte de FA de origem sérica é hepática, onde esta presente nas células do epitélio biliar e nas membranas caniculares dos hepatócitos. Porém, de acordo com Gonzalez e Silva (2006), deve se levar em consideração a possibilidade do aumento de FA não ser de origem hepática, mas sim das outras isoformas, como por exemplo a óssea ou renal. Cães com doenças colestásicas podem aumentar em até 10 vezes os valores de referência de FA, o comprometimento do fluxo biliar também pode induz ao aumento desta isoforma, que nestes animais pode permanecer aumentado por até 3 dias, mas apenas de 6 a 7 horas em gatos, já os equinos e ruminantes tem valores de referência mais amplos, o que dificulta a interpretação nos resultados nestas espécies; doenças como lipidose hepática e inflamação do parênquima também levam a obstrução de pequenos canalículos biliares e a liberação de FA de forma indireta.

Avaliação da função hepática

A avaliação da função do fígado é feita através da mensuração de metabolitos hepáticos séricos de forma direta ou indireta, que são normalmente produzidos e ou excretados pelo órgão.

Bilirrubina

A bilirrubina é originaria basicamente da degradação dos eritrócitos através do sistema reticulo-endotelial, mas também pode prover de outras hemoproteínas (GONZALEZ e SILVA, 2006). Em condições normais os eritrócitos velhos são destruídos a uma taxa constate, contudo em doenças hemolíticas essa taxa pode estar elevada acima do normal (THRALL et al., 2015). Também de acordo com a autora, os eritrócitos são fagocitados por células mononucleares, sendo a hemoglobina destes eritrócitos catabolizada, a globina transformada em aminoácidos e a porção heme dando origem a ferro e protoporfirina, a qual é transformada em biliverdina, e em seguida bilirrubina livre; a bilirrubina não-conjugada ou livre liga se a albumina e é liberada na corrente sanguínea onde vai até o fígado, uma vez nos hepatócitos a bilirrubina é conjugada ao

ácido glicurônico originando a bilirrubina conjugada ou direta. Esta bilirrubina conjugada é secretada nos canalículos biliares para o intestino delgado, no qual sofre ação bacteriana e é convertida a urobilirubinogenio, 90% deste pigmento é eliminado nas fezes, e cerca de 10% pode ser reabsorvido, retornando até o fígado onde é reincorporado aos ácidos biliares, ainda assim no plasma pode haver pequenas quantidades de bilirrubina conjugada, sendo a que predomina é não conjugada ou livre.

De acordo com Gonzalez e Silva (2006), em doenças hemolíticas agudas que sobrecarreguem ou levem a perda da função do sistema hepático, destruição eritrocitária intensa, hemorragia interna intensas ou perda da função hepato-celular podem levar ao aumento de bilirrubina não-conjugada, já o aumento de bilirrubina conjugada pode ser decorrência do último fator, ou por alguma doença de cunho inflamatório e ou infeccioso que comprometam o sistema biliar, levando ao acúmulo do pigmento biliar. A mensuração do teor de bilirrubina no soro deve levar em conta a bilirrubina conjugada, e a não conjugada, para saber qual a origem da mesma; caso alguma delas apresente alteração deve se completar o diagnóstico com a associação das demais enzimas hepáticas. Cães sadios frequentemente exibem bilirrubinúria discreta, em equinos sadios a concentração de bilirrubina total pode ser mais elevada que nas demais espécies domésticas, mas no sangue pode predominar a bilirrubina não-conjugada. Em ruminantes a hiperbilirrubinemia não é compatível doença hepática, mas sim com lipidose, ou insuficiência hepática crônica. A dosagem de bilirrubina fornece informações importantes e confiáveis, porém deve ter cuidado no armazenamento da amostra até o processamento, pois o pigmento é extremamente sensível a luz solar, podendo causar alteração no resultado.

Ácidos biliares

O fígado sintetiza os ácidos biliares a partir do colesterol, após a síntese dos sais biliares primários ocorre a conjugação com aminoácidos (principal taurina) e a estocagem na vesícula biliar, ou liberação direta no caso dos equinos. Geralmente após as refeições ocorre um aumento dos ácidos biliares, devendo se levar em consideração, para dosagem no soro. De acordo com Thrall et al. (2015), a mensuração sérica dos ácidos biliares é um indicador sensível de colestase, obstrução biliar, ou disfunção hepática, pois o fígado nestes casos não consegue metabolizar e ou secretar seus produtos, causando assim a elevação na corrente sanguínea. Os ácidos biliares são muito estáveis no soro, tanto em temperatura ambiente, quanto congelada. Em cães e gatos ocorre a elevação dos ácidos biliares em doenças hepáticas, desvios porto-venosos, colestase, cirrose, necrose e lipidose; os equinos e ruminantes também são afetados pelas mesmas doenças que os pequenos animais, porém seus valores de referência tendem a serem mais amplos e variáveis. Este teste fornece informações confiáveis para o diagnóstico de

doenças hepáticas, porém não é rotineiramente aplicado na clínica veterinária devido a seu custo ser elevado poucos laboratórios fazem sua mensuração.

Amônia

A amônia é produzida a partir da digestão de compostos nitrogenados, em todas as células orgânicas e nas bactérias do trato gastrointestinal (GONZALEZ e SILVA, 2006). Ela é detectada normalmente no plasma de todos os animais domésticos, mas seus aumentos acima dos valores de referência podem indicar alguma dificuldade hepática de metabolização no ciclo da ureia. Normalmente a amônia absorvida no trato gastrointestinal e a produzida no organismo são conduzidas pelo sistema porta até o fígado, porém se o sistema estiver comprometido através dos desvios porto-sistêmicos, ou pela perda da função hepática em cirrose, necrose, inflamação, ou infecção a produção de ureia estará comprometida, levando ao acúmulo da amônia no organismo.

Ureia

A ureia é um metabolito produzido normalmente no fígado de animais saudáveis a partir da amônia circulante. Nos animais com reduzida massa hepática funcional ocorre a diminuição da conversão de amônia em ureia, devendo levar sempre em consideração além do valor da ureia o valor da amônia e a dieta na qual o animal está exposto, como exemplo os ruminantes que tem como fonte de suas dietas básicas nitrogênio não-proteico, ou carnívoros com dietas ricas em fontes proteicas (THRALL et al., 2015).

Albumina

A albumina é sintetizada de forma integral no fígado, compondo cerca de 50% das proteínas plasmáticas, com um peso básico de 66 kD (GONZALEZ e SILVA, 2006). Na média a hipoalbuminemia só é constatada quando 60 a 80% da função hepática já está comprometida. Os cães com 60% ou mais de comprometimento hepático já pode ser constatado hipoalbuminemia, porém lesões desta magnitude não alteram albumina de equinos e ruminantes. Segundo Thrall et al. (2015), a concentração de albumina pode ser afetada além da função hepática, pelos processos inflamatórios orgânicos (albumina também é uma proteína de fase aguda negativa) e parasitismo que consomem albumina, equilíbrio hidroeletrólítico que pode diluir ou concentrar a albumina, e nível nutricional que o animal está exposto pode influenciar na produção e no consumo da mesma. De acordo com Thrall et al. (2015), o nível de albumina

deve ser avaliado em conjunto com o de amônia e uréia para descartar a influência da dieta nos seus níveis.

Globulinas

O fígado é responsável pela produção de grande parte das globulinas, com exceção de algumas imunoglobulinas, portanto na insuficiência hepática pode ocorrer a diminuição sérica das mesmas, mas ao comparar com albumina a sua variação é menor, pois elas geralmente estão associadas com processos inflamatórios (THRALL et al., 2015). Também de acordo com a mesma autora em vários casos de doença hepática a concentração de globulinas estará elevada em função da produção de imunoglobulinas e proteínas de fase aguda, como é o caso dos equinos com hepatopatias, onde 50% deles manifestam aumento das globulinas. De acordo com Gonzalez e Silva (2006), as globulinas podem aumentar com a idade do animal, durante gestação, vacinação, e em processos inflamatórios; mas no final da gestação as globulinas podem declinar com a passagem para o colostro, já nos bezerros e potrancos recém-nascidos seus níveis podem ser indicativos de baixa absorção de colostro.

Glicose

O fígado é um órgão de suma importância na manutenção da glicemia, pois os hepatócitos tem a função de converter os produtos originários da digestão e metabolização tecidual endógena (Glicólise a partir de aminoácidos e glicerol) em glicose e outros produtos; também converte a glicose em glicogênio e regula o nível glicêmico sanguíneo. Segundo Thrall et al. (2015), os animais com distúrbios hepáticos podem apresentar a glicemia diminuída em caso de jejum prolongado, ou aumentada após a última refeição do animal (exceção dos ruminantes que não tem glicose direta sem participação hepática).

Colesterol

O colesterol sanguíneo pode ter duas origens, uma proveniente da dieta, e outra originária da metabolização do acetil-CoA pelo fígado em condições normais, sendo a principal via de excreção do colesterol hepático o sistema biliar. Em casos de insuficiência hepática os animais podem apresentar hipocolesterolemia, mas se o distúrbio for colestase poderá haver hipercolesterolemia, geralmente os animais domésticos com insuficiência hepática apresentam colesterol normal.

Fatores de coagulação

O fígado é responsável pela produção de grande parte dos fatores de coagulação, dentre eles a fibrina, também produz substâncias anticoagulantes como a antitrombina. De acordo com Thrall et al. (2015), animais com insuficiência hepática podem apresentar distúrbios na hemostasia, em vários testes de coagulação, além disso a menor função plaquetária pode estar associada a problemas hepáticos. Animais com função hepática baixa podem apresentar menor concentração de fibrinogênio em relação aos valores de referência, mas animais que estão com processo inflamatório também apresentam fibrinogênio baixo, devendo assim levar em consideração o quadro clínico em que o animal se apresenta, correlacionando com os demais indicadores de função hepática.

Índice de funcionalidade hepática em vacas leiteiras

O índice corresponde à estimativa de funcionalidade hepática de vacas baseada em metabolitos coletados nos dias específicos (7, 14, 28 dias em lactação) e avaliados em conjunto na forma de pontos para os níveis dos seguintes parâmetros: albumina, colesterol total, e proteína de ligação ao retinol são transformados em unidades, dos dias de coleta (7, 14, 28). Assim, o índice de função hepática é a média da soma dos 3 valores parciais do metabolito em questão, onde são classificados em índice de função hepática, alta, média e baixa (TREVISI, CALAMARI E BERTONI, 2001). Segundo Bertoni, Trevisi e Bionaz (2008), este índice foi criado para promover uma classificação sobre o estado funcional hepático, sendo de fácil execução, porém de alto custo.

Referências

- BERTONI G E., TREVISI X. H., BIONAZ M. Effects of Inflammatory Conditions on Liver Activity in Puerperium Period and Consequences for Performance in Dairy Cows. **J. Dairy Sci.** 91:3300–3310, 2008.
- DYCE K. M., SACK M. O., WENSING C.J. G. **Tratado de anatomia veterinária**, 3 ed., Elsevier, Rio de Janeiro, cap. 28, p. 663-664, 2004.
- GONZALEZ F.H.D, SILVA S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2ª ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. c. 8, p. 318-337, 2006.
- GUYTON Arthur C., **Tratado de Fisiologia Médica**, M, 9 ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, c. 70, p. 672, 1997.
- MATTOS A. A. **Tratado de hepatologia**, 1 ed. Rubio, Rio de Janeiro, p. 960, 2010.
- THRALL M.A. et. al. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**, 2 ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 349 a 360, 2015.
- TREVISI, E., CALAMARI, L., BERTONI, G. Definição do índice de atividade do fígado na vaca leiteira e sua relação com o desempenho reprodutivo. **X Int. Symp . Vet. Lab. Diagnost, Salsomaggiore-Parma, Itália**; p. 118, 2001.