

Ana Cristina Aranha Zablith

Tirotoxicose experimental em gatos:

Estudo ultra-sonográfico das alterações hepáticas e suas correlações com os níveis séricos das enzimas hepáticas, dos hormônios tiroideos e achados histológicos e citológicos.

**Botucatu – SP
2004**

Ana Cristina Aranha Zablith

Tirotoxicose experimental em gatos:

Estudo ultra-sonográfico das alterações hepáticas e suas correlações com os níveis séricos das enzimas hepáticas, dos hormônios tiroideos e achados histológicos e citológicos.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área de Cirurgia Veterinária.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Lucy Marie Ribeiro Muniz

**Botucatu – SP
2004**

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1:** Concentrações normais dos hormônios tiroidianos em gatos. 15
- Quadro 2:** Concentrações dos hormônios tiroidianos de gatos com hipertiroidismo espontâneo. 16

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Vista do Gatil: jaulas individuais de ferro esmaltado, providas de alumínio removível, potes para água e ração, e caixa para excretas.	31
Figura 2:	Procedimento do exame ultra-sonográfico hepático e da colheita de material para os exames cito e histológicos.	39
Figura 3:	Resposta do TT4 em função dos momentos.	48
Figura 4:	Resposta do FT4 em função dos momentos.	49
Figura 5:	Distribuição das freqüências segundo as alterações no tamanho hepático, determinado ultra-sonograficamente, nos diferentes momentos.	50
Figura 6:	Distribuição das freqüências segundo as alterações nos contornos hepáticos nos diferentes momentos.	51
Figura 7:	Distribuição das freqüências segundo as alterações na ecogenicidade do parênquima hepático nos diferentes momentos.	51
Figura 8:	Distribuição das freqüências de infiltrado periportal hiperecogênico, e sua intensidade, observadas nos diferentes momentos.	52
Figura 9:	Sonogramas mostrando as alterações ultra-sonográficas hepáticas.	53
Figura 10:	Amostras citológicas hepáticas ao final do período experimental (M6).	55
Figura 11:	Amostras histológicas hepáticas ao final do período experimental (M6).	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Resumo das análises de variâncias das dosagens séricas dos hormônios tiroideos e das enzimas hepáticas.	45
Tabela 2:	Valores médios das variáveis analisadas em função dos momentos.	46
Tabela 3:	Correlações entre as características estudadas (N = 20)	47
Tabela 4:	Distribuição das freqüências das diferentes características citológicas avaliadas de acordo com os momentos.	54
Tabela 5:	Distribuição das freqüências das diferentes características histológicas avaliadas de acordo com os momentos	56

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Protocolo para avaliação ultra-sonográfica do fígado de gatos com hipertiroidismo induzido experimentalmente	80
Anexo 2: Protocolo para exame citológico hepático – tirotoxicose experimental em gatos	81
Anexo 3: Protocolo para exame histológico hepático – tirotoxicose experimental em gatos	82

ZABLITH, A.C.A. *Tirotoxicose experimental em gatos: estudo ultra-sonográfico das alterações hepáticas e suas correlações com os níveis séricos das enzimas hepáticas, hormônios tiroideos e achados histológicos e citológicos*. 2004. 82f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O hipertiroidismo é caracterizado pelo aumento das concentrações dos hormônios tiroideos, podendo levar a alterações cardiovasculares, hepáticas, renais, hematológicas, além de alterações de comportamento tanto em humanos quanto em animais. Neste estudo procurou-se investigar as alterações ultra-sonográficas hepáticas produzidas pelo hipertiroidismo e correlacioná-las com os níveis séricos das enzimas hepáticas e achados citológicos e histológicos do fígado. Para tanto 20 gatos foram induzidos ao estado hipertiroideo pela administração de levotiroxina sódica, por via oral, na dose de 150 µg/kg, a cada 24 horas, durante 42 dias. Foram feitas avaliações ultra-sonográficas do fígado e colheitas de sangue semanais (M0 a M6), para dosagem das enzimas hepáticas e dos hormônios tiroideos, além de colheita de material para os exames citológicos e histológicos em M0, imediatamente antes do início da indução à tirotoxicose, e em M6, ao final do período experimental. Os resultados mostraram haver elevação das concentrações séricas de T4, livre e total, a partir da primeira semana experimental, no entanto os níveis de T3 total não sofreram alterações significativas. As enzimas hepáticas séricas também se apresentaram discretamente elevadas, porém sem significância estatística. Ocorreu correlação positiva entre os níveis séricos de TT4 e FT4, FT4 e FA, e ALT e AST.

A progressão da tirotoxicose provocou diminuição da ecogenicidade hepática com o aparecimento progressivo de infiltrado periportal hiperecogênico, acompanhando a curva do TT4. As alterações citológicas e histológicas observadas em M6, apesar de inespecíficas, sugeriram um quadro de hepatite aguda. Pode-se observar que as mudanças nas imagens ultra-sonográficas do fígado precederam as elevações séricas das enzimas hepáticas e ocorreram concomitantes às alterações nos níveis de TT4 e FT4.

Palavras-chave: tirotoxicose, gatos, fígado, ultra-som.

ZABLITH, A.C.A. *Experimental thyrotoxicosis in cats: ultrasonographic study of hepatic changes and its correlations with serum hepatic enzymes and thyroid hormone levels and histological and cytological findings*. 2004. 82f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Hyperthyroidism is characterized by high concentrations of thyroid hormones, what may lead to cardiovascular, hepatic, renal and haematological alterations and behavioral changes in humans as well in animals. This study aimed to investigate ultrasonographic changes of liver parenchyma produced by hyperthyroidism and correlate them with serum hepatic enzymes levels and cytological and histological findings. Twenty cats were induced into hyperthyroid state by the administration, per oral, of 150 µg/kg dose of sodium L-thyroxine, each 24 hour, during 42 days. Sonographic evaluation of liver parenchyma and collection of blood samples were made weekly (M0-6), the last one to dose hepatic enzymes and thyroid hormones, besides collection of hepatic cells and tissue samples for cytological and histological analysis at M0, immediately before the beginning of the thyrotoxicosis induction, and M6, at the end of the experimental period. Results showed an increase on serum concentrations of total T4 and free T4 since the first week, however values for total T3 did not suffer significant variations. Serum hepatic enzymes also showed slight increase but not enough to be statistically significative. There was positive correlation between TT4 and FT4, FT4 and alkaline phosphatase (FA), and ALT and AST. Hyperthyroid state produced an hipoechoic liver pattern with progressive

emergence of hyperechogenic periportal infiltration following TT4 curve. Cytological and histological findings although non specific at M6 suggested hepatitis. We could observe that changes on liver sonographic image preceded elevations on serum hepatic enzymes and occurred concomitant with alterations on TT4 and FT4 levels.

Keywords: thyrotoxicosis, cats, liver, ultrasound.

INTRODUÇÃO

O contato dos gatos com os homens data do Egito Antigo. Durante este longo período de convivência esses animais já foram tanto cultuados como deuses quanto se tornaram motivos de superstições.

O crescente número de pessoas que trabalha fora e mora em apartamento fez com que as características naturais do gato, como seu tamanho pequeno, autonomia e limpeza, o tornasse um animal de companhia cada vez mais adaptado ao nosso modo de vida.

Na rotina das clínicas veterinárias o que se observa é o aumento da atenção e dos cuidados dos proprietários em relação aos seus gatos, aumentando, assim, sua longevidade e também o número de ocorrências de enfermidades associadas a esses animais.

Atualmente o hipertiroidismo, também denominado tirotoxicose, é tido como a doença endócrina mais comum em felinos domésticos. O hipertiroidismo é uma doença de gatos de meia-idade a idosos, sem predisposição de raça ou sexo, com idade média de 13 anos, mas podendo ocorrer em qualquer fase da vida do animal (THODAY & MOONEY, 1992).

O hipertiroidismo é uma alteração clínica multissistêmica resultante de excessivas concentrações dos hormônios tiroideanos (tiroxina e triiodotironina). Mais de 90% dos gatos hipertiroideos apresentam atividade elevada de pelo menos uma enzima sérica (PETERSON *et al.*, 1983; THODAY & MOONEY, 1992). A atividade sérica elevada de enzimas como a alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA) geralmente é atribuída à disfunção hepática. As causas da injúria hepática na tirotoxicose ainda não estão esclarecidas, mas são múltiplas, podendo incluir má-nutrição,

insuficiência cardíaca congestiva, anóxia hepática, infecções e, possivelmente, efeito tóxico direto dos hormônios tiroideanos sobre o fígado (THODAY & MOONEY, 1992).

O exame ultra-sonográfico tem sido considerado por alguns autores como uma das melhores maneiras de se avaliar as alterações hepáticas (CARTEE, 1981; LAMB, 1990; BILLER *et al.*, 1992), no entanto esse exame não permite a diferenciação das doenças hepáticas difusas, havendo a necessidade de se realizar biopsias e citologias aspirativas por agulha fina (CAAF) (SANTILLI & BILLER, 1993; NYLAND *et al.*, 1995), acrescentando dessa forma informações para o diagnóstico clínico antes mesmo de serem observadas alterações de função hepática pelos exames laboratoriais (NYLAND *et al.*, 1989).

Baseando-se no exposto acima, surgiu a necessidade de investigar as prováveis alterações ultra-sonográficas no parênquima hepático de gatos com hipertiroidismo experimental, correlacionado-as aos exames bioquímicos séricos, biopsia e CAAF hepáticos.

REVISÃO DE LITERATURA

Hipertiroidismo

A tirotoxicose felina foi descrita pela primeira vez como uma entidade clínica em 1979 (MOONEY, 2001), apesar de relatos de casos suspeitos terem sido descritos na literatura veterinária desde 1955 (THODAY & MOONEY, 1992).

O aumento do diagnóstico de hipertiroidismo provavelmente se deva a maior percepção e consciência do público em relação à doença (BRUYETTE, 2001; MOONEY, 2002), e também ao incremento real da afecção na população felina, juntamente com a elevação da média de vida dos gatos domésticos (PETERSON, 1992; MOONEY, 2001).

Esta enfermidade ocorre provavelmente devido a fatores circulantes (imunoglobulinas), nutricionais (iodo) ou ambientais (toxinas bociogênicas) (PETERSON *et al.*, 1987; BROWN *et al.*, 1992; TARTTELINI *et al.*, 1992).

As manifestações clínicas da tirotoxicose em gatos domésticos já foram bem documentadas (MOONEY, 2001) e podem ser de leves a graves, dependendo do estágio clínico da doença e da coexistência de outras alterações sistêmicas. O hipertiroidismo é um distúrbio lentamente progressivo; onde geralmente os gatos são ativos/hiperativos com apetite normal (PETERSON & FERGUSON, 1992; GRAVES & PETERSON, 1994). As principais queixas dos proprietários durante a anamnese são: perda de peso, vômito, poliúria, polidipsia e hiperatividade. Além disso, os gatos podem apresentar pelagem feia, sem brilho, com nós e áreas alopecicas, intransquilidade, ansiedade, agressividade e intolerância a situações de estresse (dificuldade respiratória, astenia, arritmias cardíacas e parada cardíaca) (PETERSON *et al.*, 1983; THODAY & MOONEY, 1992).

No plasma os hormônios tiroideanos circulam ou sob forma livre ou ligados a proteínas carreadoras e as concentrações séricas de tiroxina total (TT4) e triiodotironina total (TT3) refletem a ligação dos hormônios às mesmas (KAPTIEN *et al.*, 1994).

Devido ao fato das concentrações séricas elevadas de tiroxina (T4) e triiodotironina (T3) em repouso serem os principais indicativos de hipertiroidismo, sendo encontrado na maioria dos casos (PETERSON *et al.*, 1983; PETERSON, 1984; THODAY & MOONEY, 1992; GRAVES & PETERSON, 1994; MOONEY *et al.*, 1996), as dosagens desses hormônios são parte integrante dos testes rotineiros na clínica de felinos (BRUYETTE, 2001).

Graves & Peterson (1994) sugerem que a dosagem dos níveis séricos de T4 livre (FT4) e T3 livre (FT3) fornece um diagnóstico mais preciso do hipertiroidismo felino, uma vez que é desta forma que estes hormônios agem sobre as células-alvo, especialmente nos casos de afecção não tiroidea.

Peterson *et al.* (1987) demonstraram que as concentrações séricas dos hormônios tiroideanos podem flutuar com o passar do tempo. Em gatos com concentrações desses hormônios bem acima da faixa da normalidade, a flutuação não tem grande significado clínico ou diagnóstico, ao contrário de gatos com hipertiroidismo leve. A flutuação sérica de T3 e T4 até a faixa de normalidade em alguns gatos sugere que o diagnóstico não pode ser concluído somente com base em uma única determinação de T3 e T4 sérica normal ou elevada. Concentrações normais-elevadas ou apenas ligeiramente elevadas para os hormônios tiroideanos podem ser observadas em gatos hipertiroideos com grave enfermidade não tiroidea concomitante (GRAVES & PETERSON, 1994). Devem ser lembrados os distúrbios que mimetizam o hipertiroidismo

como a *diabetes mellitus*, insuficiência renal, cardiopatia, insuficiência hepática, indigestão, má absorção e neoplasias.

Os valores das concentrações dos hormônios tiroidianos, em gatos normais e com hipertireoidismo, descritas por diversos autores, estão nos Quadros 1 e 2. Os valores foram convertidos para a mesma unidade para melhor compreensão da leitura.

Quadro 1: Concentrações normais dos hormônios tiroidianos em gatos.

Normal			
	TT4	FT4	TT3
PETERSON <i>et al.</i> , 2001	12 – 48 nmol/l (0,9 – 3,7 µg/dl)	16 – 51 pmol/l (1,2 – 3,96 ng/dl)	0,3 – 1,9 nmol/l (0,2 – 1,25 ng/ml)
FELDMAN & NELSON, 1996	0,8 – 2,0 µg/dl nmol	--	--
MOONEY <i>et al.</i> , 1996	19,7 – 46,8 nmol/l µg/dl	12 – 36 pmol/l	0,6 – 1,9 nmol/l
PETERSON <i>et al.</i> , 1983.	10,3 – 44,87 nmol/l (0,8 – 3,5 µg/dl)	--	0,23 – 0,9 nmol/l (15 – 60 ng/dl)

Quadro 2: Concentrações dos hormônios tiroidianos de gatos com hipertiroidismo espontâneo.

Hipertiroidismo			
	TT4	FT4	TT3
PETERSON <i>et al.</i> , 2001	108 nmol/l (8,4 µg/dl)	109 pmol/l (8,5 ng/dl)	2,5 nmol/l (1,6 ng/ml)
FELDMAN & NELSON, 1996	64,1 nmol/l (> 0,5 µg/dl)	--	--
MOONEY <i>et al.</i> , 1996	45,6 – 642,8 nmol/l µg/dl	--	0,46 – 12,7 nmol/l µg/dl
PETERSON <i>et al.</i> , 1983.	51,3 – 693,6 nmol/l (4,0 – 54,1 µg/dl)	--	0,83 – 15,4 nmol/l (54 – 1000 ng/dl)

Enzimas hepáticas séricas

Maddison (1990) descreveu em seu estudo das doenças hepáticas, que os testes de função hepática têm tantas limitações quanto valor diagnóstico, porque não há um único teste que assegure a capacidade funcional do fígado; também porque as diferentes funções hepáticas não são alteradas de forma homogênea em todas as doenças e a seqüência de parada e retorno da função bioquímica difere de uma doença para a outra.

Os hormônios tiroideanos modulam, através de seus efeitos sobre todos os tecidos, uma atividade metabólica apropriada a cada situação, particularmente no fígado (BELLASOUED *et al*, 2001). Alterações na homeostase da tiróide estão associadas com anormalidades nas enzimas hepáticas tanto em animais quanto em humanos (BAYRAKTAR & THIEL, 1997; ; BADER *et al.*, 2001; BELLASOUED *et al*, 2001; ELWOOD *et al.*, 2001). Vale a pena ressaltar que a severidade do hipertiroidismo não está relacionada ao grau de alteração nos testes das enzimas hepáticas (BELLASOUED *et al*, 2001).

Geralmente é difícil de se determinar a relação exata entre as anormalidades nos testes das funções hepática e tirodeana, e isso pode levar a erros de diagnóstico, prejudicando, assim a escolha de um tratamento adequado (BAYRAKTAR & THIEL, 1997).

No exame bioquímico de gatos com hipertiroidismo a mudança mais freqüentemente observada foi o aumento nas concentrações séricas de alanina aminotransferase (ALT) , aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e desidrogenase láctica (LDH) (MERIC, 1989; BROUSSARD *et al.*, 1995). Mooney (2001) relata que em 90% dos gatos hipertiroideos a concentração de pelo menos uma dessas enzimas se encontra elevada. Em humanos, Bayraktar

& Thiel (1997) observaram a prevalência de alterações das enzimas hepáticas em 76% dos pacientes hipertiroideos.

O nível sérico elevado da ALT reflete o grau de destruição dos hepatócitos por severa necrose, mas não representa a função hepática, bem como sua capacidade de reversão, pois a função do órgão pode permanecer próxima do normal mesmo com acentuada elevação sérica dessa enzima (CORNELIUS, 1987).

Segundo Tennant (1997), a ALT é considerada uma enzima específica para lesões hepáticas em cães e gatos e, com exceção dos casos severos, é considerada útil para diferenciar lesões hepáticas hepatocelulares de colestáticas.

A AST tende a ter comportamento semelhante à ALT, mas infelizmente esta não é uma enzima hepato-específica, devido à sua alta concentração em outros tecidos, especialmente músculos (HALL, 1985).

A FA e a gama glutamil transferase (GGT), são enzimas que apresentam níveis séricos elevados na presença de processos de colestase, cirrose biliar e colangite (CENTER *et al.*, 1986). A necrose hepática pode ocorrer secundária a colestase, por isso, em muitos casos de hepatopatias obstrutivas, a ALT e a FA estão elevadas (MADDISON, 1990; TENNANT, 1997).

Na tirotoxicose felina o aumento dos níveis séricos de FA se deve não somente a isoenzima hepática, mas também às de origem óssea, intestinal e de outros tecidos (BRUYETTE, 2001; MOONEY, 2001). Em estudo realizado por Bruyette (2001) houve correlação significativa entre as concentrações séricas de T4 total (TT4) e a FA total e entre os níveis de T4 e FA hepática, mas não com a FA óssea.

A atividade sérica da GGT é um indicador primário de alteração do sistema hepatobiliar associado com processo colestático. Apesar desta enzima ser encontrada em vários tecidos, elevações significantes em sua atividade sérica são observadas primeiramente em doenças hepáticas (TENNANT, 1997).

Ultra-sonografia hepática

Alterações nos níveis séricos das enzimas hepáticas são detectadas quando há lesão de, no mínimo, 70% do parênquima; no entanto, o tamanho hepático pode mudar rapidamente, já que 15% do volume hepático são compostos por leitos vasculares ou sinusoidais, que podem ser rapidamente expandidos ou retraídos (GODSHALK *et al.*, 1988).

A capacidade de reserva e regeneração do fígado tende a limitar as manifestações clínicas da doença até que evolua para fases mais crônicas. Geralmente, nas fases iniciais, os sintomas não são específicos e às vezes nem são notados ou relacionados à doença, e, quando específicos, aparecem como icterícia, ascite e sinais neurológicos que já mostram sério comprometimento hepático (ANDERSON, 1980).

O exame ultra-sonográfico vem sendo cada vez mais utilizado na rotina veterinária como um eficiente meio de avaliar alterações do parênquima hepático (BILLER *et al.*, 1992; MARTINEZ-NOGUERA *et al.*, 1993; NEWELL *et al.*, 1998), pois, por meio dele, podemos [analisar a anatomia intra-hepática de maneira segura e não-invasiva, e acrescentar informações ao diagnóstico mesmo antes de serem observadas alterações nos exames laboratoriais \(NYLAND *et al.*, 1989\).](#)

Dentre os métodos disponíveis para a avaliação do parênquima hepático a ultra-sonografia abdominal geralmente é o de escolha, uma vez que fornece informações sobre tamanho, forma e ecogenicidade do parênquima, vascularização, ductos biliares e vesícula biliar, assim como permite uma avaliação detalhada das estruturas adjacentes, de maneira segura e não invasiva (CARTEE, 1981; NYLAND & PARK, 1983; NYLAND *et al.*, 1989; BILLER *et al.*, 1992; NYLAND *et al.*, 1995; MWANZA *et al.*, 1997; PENNICK & BERRY, 1997; VÖRÖS *et al.*, 1997;). Em humanos, a ultra-sonografia hepática é o primeiro procedimento utilizado para a avaliação de indivíduos com suspeita de doença hepática (TCHELEPI *et al.*, 2002).

A dimensão hepática é obtida por uma avaliação subjetiva do examinador (NYLAND *et al.*, 1995; TCHELEPI *et al.*, 2002). O aumento da distância entre o diafragma e o estômago, o deslocamento caudal e ventral do rim direito ou quando os lobos ultrapassam o rebordo costal, podem caracterizar a hepatomegalia. Um fígado diminuído é reconhecido pela redução da distância entre o estômago e o diafragma ou pelo deslocamento cranial do rim direito (NYLAND *et al.*, 1995).

Nyland *et al.* (1989) descreveram que ao exame ultra-sonográfico o fígado normal apresenta contornos lisos e bordos de ângulos agudos (BILLER *et al.*, 1992; SANTILLI & BILLER, 1993), e que as alterações nos contornos são mais facilmente observadas na presença de ascite.

Lamb (1990) e Nyland *et al.* (1995) descreveram o parênquima hepático normal como tendo uma ecotextura uniforme levemente mais grosseira que a esplênica, onde são visibilizados grandes vasos sanguíneos e a vesícula biliar. O parênquima hepático normal apresenta uma ecogenicidade homogênea, relativa

entre a do baço e a dos rins, ou seja, uma ecogenicidade igual ou discretamente menor em relação ao baço e ao ligamento falciforme, e igual ou discretamente maior em relação à cortical renal (NYLAND *et al.*, 1989; SANTILLI & BILLER, 1993); tais relações são observadas sempre que estes órgãos se apresentarem normais.

A uniformidade do parênquima só é alterada pela presença dos grandes vasos portais e hepáticos (SANTILLI & BILLER, 1993; NYLAND *et al.*, 1995), que são numerosas estruturas tubulares anecogênicas, de tamanhos variáveis; por sua vez, as artérias hepáticas não são rotineiramente observadas.

As veias portais são facilmente diferenciadas das hepáticas, pois possuem uma parede ecogênica constituída de tecido fibroso e gordura. As veias hepáticas não possuem esta parede ecogênica, a não ser na região próxima à veia cava caudal, onde apresentam um diâmetro muito grande (CARTEE, 1981; NYLAND *et al.*, 1989; LAMB, 1990, PARTINGTON & BILLER, 1996).

O sistema biliar é formado pela vesícula biliar, ducto cístico e ductos biliares intra e extra-hepáticos. A vesícula biliar é visibilizada à direita da linha média. Os ductos biliares intra-hepáticos não são observados, quando normais, ao exame ultra-sonográfico (NYLAND & HAGER, 1985; SANTILLI & BILLER, 1993; NYLAND *et al.*, 1995), mas em condições ótimas de imagem pode-se observar o ducto hepático comum 1 a 2 mm paralelamente à parede ecogênica da veia porta (NYLAND *et al.*, 1995; PARTINGTON & BILLER, 1996).

A vesícula biliar geralmente tem forma oval, tamanho variável, parede fina e ecogênica, preenchida por conteúdo relativamente anecogênico. O conteúdo biliar pode se tornar mais ecogênico, um achado ultra-sonográfico

comum, chamado de lama biliar, sem correlação com sintomas clínicos, podendo indicar estase biliar discreta por anorexia ou jejum prolongado (PARTINGTON & BILLER, 1996).

Lamb (1990) afirma que a avaliação do fígado é uma das principais aplicações da ultra-sonografia abdominal em pequenos animais. Sua indicação inclui hepatomegalia, massas abdominais, icterícia, ascite, suspeita de ruptura diafragmática, perda de peso progressiva, pesquisa de metástases hepáticas, guia de biópsias e monitorização de tratamentos.

As doenças inflamatórias difusas são as mais difíceis de serem diagnosticadas inclusive pelo exame ultra-sonográfico, pois não existe uma padronização absoluta da amplitude dos ecos (SPIEZIA *et al.*, 2002; TCHELEPI *et al.*, 2002), e, por isso, tem-se pesquisado intensamente a acurácia desse exame em pacientes humanos com estas alterações. Por meio de padrões ultra-sonográficos, tem-se conseguido diferenciar infiltrações gordurosas de fibrose do parênquima hepático (JOSEPH *et al.*, 1991).

Achados ultra-sonográficos associados à lipidose hepática em gatos têm sido bem descritos na literatura médica veterinária (YEAGER & MOHAMMED, 1992) e podem ser utilizados com boa especificidade para identificar tal alteração sem a necessidade de confirmação citológica. Outras causas de doenças hepáticas em gatos e achados ultra-sonográficos associados ainda não foram bem documentados (NEWELL *et al.*, 1998). Em humanos, Bader *et al.* (2001) relatam que a diminuição da ecogenicidade hepática observada em seu estudo com crianças possa ser secundária à insuficiência cardíaca causada pela tirotoxicose.

Alguns autores descrevem que a existência de um exame ultrasonográfico normal não descarta, de forma alguma, a presença de uma doença hepática difusa, pois esta nem sempre provoca distorção da textura ou da arquitetura interna do parênquima e dos contornos hepáticos (TCHELEPI *et al.*, 2002). Nesses casos, recomenda-se a realização de uma citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) ou biopsia (HAGER *et al.*, 1985; HOPPE *et al.*, 1986; LÉVEILLÉ *et al.*, 1993), para se chegar a um diagnóstico definitivo.

Biller *et al.* (1992) citaram que o diagnóstico definitivo da doença hepática se baseia em uma avaliação ultra-sonográfica minuciosa do parênquima aliada à história clínica, exame físico e dados laboratoriais, embora poucas lesões hepáticas difusas ou focais apresentem aspecto ultra-sonográfico específico.

Citologia Aspirativa por Agulha Fina (CAAF) e Biopsia Hepáticas

O diagnóstico definitivo das causas de enfermidade hepática nos felinos geralmente requer o exame microscópico do parênquima hepático (WILLARD *et al.*, 1999).

Existem diversas maneiras de se obter amostras de órgãos abdominais de pequenos animais, incluindo-se as biopsias percutâneas às cegas, durante procedimentos cirúrgicos, guiadas por radiografias e, recentemente as biopsias guiadas pelo ultra-som de órgãos como fígado, baço, rins, pâncreas e próstata, vêm se tornando uma técnica cada vez mais popular (BOTTLES *et al.*, 1986, MENARD *et al.*, 1986.)

Tanto a citologia quanto a histologia permanecem sendo métodos complementares de diagnóstico, refletindo uma prática entre o menor grau de invasão para a colheita de amostras, com a primeira, e a grande quantidade de

informações disponíveis provenientes da capacidade de avaliação da arquitetura tissular, com a segunda (DE RYCKE *et al.*, 1999; MEINKOTH & COWELL, 2002).

A CAAF, uma adaptação da citologia esfoliativa, vem sendo freqüentemente utilizada por profissionais médicos e médicos veterinários desde que Martin e Ellis, médicos do Memorial Hospital of Cancer, em 1930, descreveram seu uso em 65 pacientes humanos com tumores malignos (MENARD *et al.*, 1986). Atualmente houve significativa melhora na preparação e interpretação do material aspirado de diferentes lesões (BOTTLES *et al.*, 1986; ROCHA, 1998). Para este tipo de procedimento utilizam-se agulhas de pequeno calibre – 22 a 25 gauge (BOTTLES *et al.*, 1986; MENARD *et al.*, 1986; PAPAGEORGES *et al.*, 1988; BURKHARD & MEYER, 1996).

Um dos principais objetivos da utilização da CAAF é a diferenciação dos processos inflamatórios dos neoplásicos com maior rapidez, uma vez que essa técnica estuda as células individualmente ao invés da estrutura tissular (MENARD *et al.*, 1986).

Segundo Kerwin (1995), a biopsia ou a CAAF guiadas pelo ultra-som são utilizadas para uma avaliação histológica e citológica dos processos difusos como: hepatomegalia, lipidose, hepatopatia por esteróides, doença hepática inflamatória ou neoplasia difusa, ou ainda em lesões focais.

Léveillé *et al.* (1993) e Barr (1995) acreditam que a segurança e a acurácia das biopsias guiadas pelo ultra-som sejam devidas à observação contínua da agulha com a imagem dinâmica do ultra-som enquanto se colhe a amostra tecidual, e também por examinar a área e identificar o tecido submetido

à biopsia antes do procedimento, escolhendo, assim, o caminho mais seguro para a passagem da agulha.

A maior justificativa para o uso de biopsias guiadas pelo ultra-som é a preocupação com a segurança do paciente (RILEY, 1999; AHMAD & RILEY, 2001; ANGTUACO *et al.*, 2002); por isso as biopsias guiadas de órgãos como fígado, rins, baço, pâncreas, estômago e próstata estão sendo cada vez mais utilizadas não só pelo aumento da segurança, mas também da acurácia do exame, uma vez que o ultra-som proporciona a visualização constante e direta da agulha e do órgão-alvo (HAGER *et al.*, 1985; DE RYCKE *et al.*, 1999, ANGTUACO *et al.*, 2002). Riley (1999) relata em seu estudo que em 15 % dos casos de biopsias guiadas pelo ultra-som houve alteração quanto ao caminho percorrido pela agulha, evitando-se, assim, estruturas que pudessem interferir na colheita de material.

A CAAF pode ser realizada de duas maneiras: com o auxílio de um guia de biopsia acoplado ao transdutor (mecânico) ou manualmente (“freehand”) (HOMCO, 1996; DE RYCKE *et al.*, 1999).

No método mecânico, um anel contendo uma cânula por onde passa a agulha é acoplado ao transdutor, podendo ficar ao lado direito ou esquerdo do mesmo, conforme a preferência do examinador. O caminho a ser percorrido pela agulha é indicado por um guia, que aparece no monitor como duas linhas paralelas, sobrepostas à imagem em tempo real (HOMCO, 1996; SPIEZIA *et al.*, 2002), permitindo, assim, que a agulha seja precisamente direcionada a diferentes profundidades ao longo de um caminho pré-determinado pelo guia no plano de exame (DE RYCKE, *et al.*, 1999).

Já no método manual, a agulha é introduzida através da pele em um ângulo oblíquo ao eixo longitudinal do transdutor. Este método permite maior flexibilidade em casos de ajustes súbitos para compensar movimentos bruscos dos animais e discretas deflexões da agulha (DE RYCKE *et al.*, 1999), além de fornecer ao examinador maior controle dos movimentos da mesma (LEVÉILLÉ *et al.*, 1993; HOMCO, 1996).

Diferente das biopsias com agulhas automáticas, onde o próprio examinador pode, com uma das mãos segurar o transdutor, e com a outra proceder à biopsia (DE RYCKE *et al.*, 1999), a CAAF necessita de duas pessoas para ser realizada: o examinador, que introduz a agulha através da pele e acompanha seu trajeto pelo monitor, e um assistente, geralmente um patologista, que executa os movimentos para a colheita de material. (HAGER *et al.*, 1985; HOMCO, 1996; DE RYCKE *et al.*, 1999).

A agulha da CAAF, diferente da de biopsia, dificilmente é visualizada como um ponto hiperecogênico no parênquima do órgão-alvo devido ao pequeno calibre, por isso, o examinador deve executar movimentos de vai-e-vem para conseguir localizá-la (LEVÉILLÉ *et al.*, 1993; MENARD & PAPAGEORGES, 1995; MAMPRIM, 1999).

Uma vez que a agulha da CAAF chega ao local pré-determinado, o examinador deve mantê-la no local até que ela seja acoplada ao citoaspirador pelo auxiliar, que, então, procede à colheita do material, segundo preconização de MENARD *et al.* (1986).

As amostras citológicas são utilizadas pela facilidade, rapidez, segurança, baixo custo e boa tolerância dos pacientes durante o procedimento (TYLER *et al.*, 1993; BURKHARD & MEYER, 1996; ROCHA, 1998; WILLARD *et al.*, 1999;

BAKER & LUMSDEN, 2000; WEISS & MORITZ, 2002). A não ser que o paciente não colabore, a anestesia, geral ou local, não é necessária para realização da CAAF (HAGER *et al.*, 1985; PAPAGEORGES *et al.*, 1988; MENARD & PAPAGEORGES, 1995).

Dentre as vantagens da CAAF, temos que é um meio de diagnóstico economicamente viável quando comparado à biopsia cirúrgica, representando de 10 a 30% do custo da mesma (BOTTLES *et al.*, 1986; MENARD & PAPAGEORGES, 1995), que requer pouco equipamento especializado e pode fornecer dados importantes rapidamente (BURKHARD & MEYER, 1996). As informações obtidas pela citologia podem determinar o curso do tratamento, estágio da doença e o prognóstico da mesma. Com relação à sua rapidez de diagnóstico, ela é utilizada primeiramente para diferenciar lesões inflamatórias de neoplásicas (MAMPRIM, 1999).

A CAAF apresenta algumas limitações como amostras de baixa celularidade, necessitando-se nesses casos, a realização de, no mínimo, dois procedimentos de aspiração (PAPAGEORGES *et al.*, 1988; BURKHARD & MEYER, 1996). Ao contrário da biopsia, a CAAF não fornece dados em relação à arquitetura do parênquima, o que pode tornar o diagnóstico crítico nos casos de diferenciação entre processos reativos hiperplásicos e neoplásicos.

Para se obter fragmentos teciduais (“tissue-core biopsy”), utilizam-se agulhas de maior calibre (geralmente de 14 a 18 gauge), automáticas ou não (DE RYCKE *et al.*, 1999). Quando se utilizam agulhas automáticas há a possibilidade de pré-determinar o tamanho desejado do fragmento, além de não haver a necessidade de um auxiliar, pois o próprio operador do ultra-som consegue manusear o transdutor com uma das mãos, e com a outra, ativar o

mecanismo de corte, através de um disparo rápido (HOPPE *et al.*, 1986; FARRELL *et al.*, 1999; DE RYCKE *et al.*, 1999)

A biopsia hepática é uma ferramenta diagnóstica valiosa, que, apesar de fornecer uma amostra de somente 1/50.000 do fígado, representa com acurácia a enfermidade que acomete todo o órgão (RILEY, 1999).

Kerwin (1995) descreveu a vantagem da biopsia em relação a CAAF; é que a primeira consegue um fragmento de tecido muito mais representativo e, por isso, tem-se maiores chances em se obter um diagnóstico definitivo. A CAAF tem as mesmas indicações da biopsia e riscos menos graves, principalmente nos casos em que o estado geral do paciente não suporta sedação.

As complicações, tanto da biopsia quanto da CAAF, incluem dor, falha na obtenção de amostras significativas, sangramentos que exijam transfusão sanguínea, pneumotórax e obtenção de amostras de outros tecidos que não o hepático (RILEY, 1999; AHMAD & RILEY, 2001).

O aparecimento de hemorragia e até peritonite após os aspirados é descrito como raro. Léveillé *et al.* (1993) consideraram discreta hemorragia e/ou formação de hematoma no local da biópsia como complicações menos graves.

Bellasoued *et al.* (2001) descreveram um caso de hepatite tiorotóxica em humano onde à biopsia se observou a existência de fibrose periportal moderada associada a infiltrado linfocítico, além da presença de anisocariose e moderada esteatose.

MATERIAIS E MÉTODO

1. Local

Os exames ultra-sonográficos, a colheita dos materiais para exames e os testes de radioimunoensaio foram realizados nas dependências do Serviço de Radiologia Veterinária do Hospital Veterinário da FMVZ – UNESP – Botucatu.

O hemograma e os perfis bioquímicos séricos foram realizados no Serviço de Patologia Clínica do Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ – UNESP– Botucatu.

O processamento das amostras e a interpretação da CAAF e da biópsia foram realizadas no Serviço de Patologia Animal do Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ – UNESP – Botucatu.

2. Obtenção e manutenção dos gatos

Foram utilizados 20 gatos domésticos (*Felis catus*, L. 1758) adultos, sem distinção de raça, sexo ou idade, provenientes do Biotério Central da UNESP - Campus de Botucatu, do Gatil da Universidade do Oeste Paulista – Presidente Prudente e de proprietários particulares.

Os animais foram escolhidos de acordo com o peso (média de 3,0kg) e bom estado geral de saúde. Os gatos selecionados passaram por uma avaliação geral do estado de hígidez constituída por exame clínico, conforme descrito por Marek e Mocsy (1963), hemograma completo e perfil bioquímico sérico.

Os gatos foram alojados em gaiolas individuais de ferro esmaltado, providas de fundo removível de alumínio para facilitar a higienização (Figura 1).

Cada gaiola possuía caixa plástica para excretas com areia higiênica¹ e potes plásticos para água e comida.



Figura 1: Vista do Gatil: jaulas individuais de ferro esmaltado, providas de fundo de alumínio removível, potes para água e ração e caixa para excretas.

¹ Tidy Cat® Ralston Purina do Brasil Ltda Ribeirão Preto, SP.

Os gatos receberam ração seca comercial² e água *ad libitum*. Estes ainda tinham acesso a solários, em períodos controlados, onde podiam se movimentar com maior liberdade e tomar sol.

O período de adaptação dos animais às novas condições foi de sete dias, durante os quais receberam as vacinas tríplice (panleucopenia, rinotraqueíte e calicivirose)³ e anti-rábica⁴, além de vermífugo⁵ e antiparasitário tópico⁶.

O experimento propriamente dito foi de 42 dias. Após seu término, os gatos permaneceram por um período de aproximadamente 10 dias para recuperação do estado eutiroideo e foram posteriormente doados ou retornaram a seus proprietários.

2.1. Tirotoxicose Experimentalmente Induzida

Foram utilizados comprimidos de levotiroxina sódica nas concentrações de 25, 50 e 100 μg ⁷ para a indução da tirotoxicose. Cada animal recebeu uma dose aproximada de 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a cada 24 horas, durante 42 dias. Semanalmente os gatos eram pesados e, quando houve diminuição do peso corporal, secundário aos efeitos do excesso dos hormônios tiroideanos, as doses de levotiroxina sódica foram ajustadas para a manutenção da dose de 150 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$.

A dose de 150 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$ de levotiroxina sódica para a realização deste experimento foi estipulada após pesquisa piloto realizada em três gatos, nos quais se conseguiu a indução da tirotoxicose com essa dosagem.

² Whiskas® Frango. Div. Éffem Produtos Alimentícios, Eldorado do Sul, RS.

³ Felocell® CVR. Pfizer Divisão de Saúde Animal. Guarulhos, SP.

⁴ Defensor®. Pfizer Divisão de Saúde Animal. Guarulhos, SP.

⁵ Drontal® Gatos. Bayer S/A do Brasil. São Paulo, SP.

⁶ FrontLine®. Merial Saúde Animal Ltda. Paulínia, SP.

⁷ Tetroid® 25, 50 e 100 μg Achè.

3. Colheita de sangue

As colheitas de sangue, em número de 7 (sete), para a realização do perfil bioquímico sérico foram realizadas semanalmente (M0: antes do início da indução a tirotoxicose, M1: aos 7 (sete) dias de indução à tirotoxicose; M2 aos 14 dias de indução à tirotoxicose; M3 aos 21 dias de indução à tirotoxicose; M4: aos 28 dias de indução à tirotoxicose; M5 aos 35 dias de indução à tirotoxicose; e M6: aos 42 dias de indução à tirotoxicose por venopunção da jugular, com tricotomia e anti-sepsia prévias da região a ser puncionada. Os animais foram mantidos em decúbito lateral direito ou esquerdo por meio de contenção física. A punção foi feita por meio de agulhas 25x8cm descartáveis⁸ e acopladas a tubos de vidro para colheita de sangue com gel separador inerte ao soro e ativador de coágulo⁹, e o volume de sangue aspirado foi de 6 ml. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm, durante 5 a 10 minutos, para obtenção do soro. Estes foram acondicionados em frascos apropriados¹⁰ e, após identificação, armazenadas em freezer à temperatura de -20°C para posterior realização dos perfis bioquímicos séricos e dosagens hormonais.

⁸ Agulha de coleta a vácuo 25X8. B-D Dickinson Division of Becton Dickinson and Co, New Jersey, EUA.

⁹ Tubo vacutainer SST 6ml Hemogard. B-D Dickinson Division of Becton Dickinson and Co, New Jersey EUA.

¹⁰ Eppendorf. Hamburgo, Alemanha.

4. Exame ultra-sonográfico, CAAF e biópsia

4.1. Exame ultra-sonográfico

Para a realização do exame ultra-sonográfico hepático os animais foram previamente submetidos a jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 2 horas com a finalidade de diminuir a quantidade de gás no trato digestório e, conseqüentemente, a produção de artefatos que pudessem prejudicar, ou até mesmo impossibilitar, o exame, e evitar complicações durante o procedimento anestésico.

Os gatos foram anestesiados com tiletamina associada a zolazepam¹¹, na dose de 0,1ml/kg, por via intramuscular, a fim de se realizar um exame ultra-sonográfico detalhado do parênquima hepático, além da CAAF e biópsia hepáticas.

Após a anestesia, fez-se a tricotomia ampla do abdômen ventral, desde o 10º espaço intercostal até o púbis e lateralmente na mesma extensão até a região dos músculos sublombares.

Os exames ultra-sonográficos foram realizados com um aparelho de ultra-som modo B dinâmico¹², equipado com transdutor linear de 7,5 MHz, antes do início da indução à tirotoxicose (M0) até o final dos 42 dias de experimento (M6) com intervalos de sete dias (M1, M2, M3, M4, M5 e M6) entre os exames. As imagens ultra-sonográficas obtidas em cada exame foram registradas em uma impressora a laser¹³ com impressão a laser, utilizando papel específico para tal fim¹⁴.

¹¹ Zoletil® 50. Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda.,

¹² EUB-450 Hitachi Medical Corporation, Tokyo, Japan.

¹³ Vídeo Graphic Printer UP-890MD. Sony Corporation, Tokyo, Japan.

¹⁴ Sony-Type IV- UPP-110HA Superior Density Printing Paper. Sony Corporation, Tokyo, Japan.

Inicialmente realizou-se um exame geral de todos os órgãos abdominais, com maior atenção em detectar alterações em rins e baço, uma vez que estes órgãos são utilizados como padrão relativo de ecogenicidade para o fígado. Com o objetivo de minimizar a perda de observações importantes e de se obter imagens de todos os lobos hepáticos, determinou-se um protocolo de exame ultra-sonográfico, constituído de diversos planos de exame, ou cortes, transversais, sagitais e frontais, e também paralelos aos mesmos, do parênquima hepático.

Quanto à orientação das imagens ultra-sonográficas no monitor tivemos, tanto nos planos sagitais e parassagitais quanto no plano frontal, a porção cranial do órgão à esquerda do vídeo e a região caudal, à direita. Já no plano transversal, a porção direita do órgão se encontrava à esquerda do vídeo e sua porção esquerda, à direita.

Para iniciar o exame ultra-sonográfico, os animais foram primeiramente colocados sobre a mesa de exame em decúbito lateral direito, depois lateral esquerdo e finalmente em decúbito dorsal. Uma camada de gel¹⁵ foi espalhada sobre a área tricotomizada para que houvesse melhor contato entre o transdutor e a pele.

Após a avaliação dos órgãos abdominais, procedeu-se à observação mais detalhada do fígado. Especificamente para a avaliação hepática, o transdutor foi colocado sobre a pele imediatamente caudal ao apêndice xifóide, sendo o abdômen examinado transversal e sagitalmente; fez-se certa pressão sobre o transdutor e uma angulação de 20° a 30° no sentido crâniodorsal,

¹⁵ ULTRA-GEL®. Multigel Ltda. São Paulo, SP

evitando-se assim, o gás do estômago. Iniciou-se, então, a observação minuciosa do fígado nos planos já citados.

Durante o exame o fígado foi analisado quanto às suas dimensões, contornos, ecogenicidade e ecotextura de seu parênquima, distribuição e calibre dos vasos, portais e hepáticos, e alterações focais ou difusas. Todos estes dados foram armazenados em fichas individuais (Anexo 1).

Com relação à dimensão hepática, esta foi classificada como normal, diminuída ou aumentada, tendo como padrão para esta classificação o rebordo costal. A ecotextura, maneira como os ecos se distribuem pelo parênquima hepático, foi classificada como homogênea, quando os ecos se distribuíam uniformemente, e heterogênea, quando de maneira desigual, ou seja, múltiplas áreas de diferentes ecogenicidades e tamanhos variados. As alterações de ecogenicidade foram classificadas como difusas, se distribuídas por todo parênquima, ou focais, caso se restringissem a uma região do parênquima.

Após a avaliação minuciosa do parênquima hepático, realizou-se a colheita de material para avaliação cito e histológica.

4.2. CAAF e biopsia hepáticas guiadas pelo ultra-som

Antes de se realizar a colheita propriamente dita, fez-se a anti-sepsia do local com líquido de Dakin¹⁶. O transdutor foi revestido com luva cirúrgica estéril e o seu interior preenchido com gel. Os gatos foram posicionados em decúbito dorsal e ao invés de gel, utilizou-se líquido de Dakin para promover melhor contato entre o transdutor e a pele do animal.

¹⁶ Líquido de Dakin®

Escolheu-se a área mais representativa para a colheita de material e imediatamente cranial ao transdutor fez-se uma pequena incisão na pele (aproximadamente 0,3 cm) com lâmina de bisturi nº 21 estéril, por onde introduziu-se a agulha de colheita.

Com o auxílio da imagem ultra-sonográfica, a examinadora guiou a agulha à mão livre até a área de interesse no parênquima hepático. Para tal, foi necessário fazer mentalmente uma triangulação entre o transdutor, a área alvo no fígado e o bisel da agulha, encontrando desta forma o ângulo de entrada da mesma, e posteriormente traçando sua trajetória no parênquima hepático. Neste estudo optou-se por colher material por CAAF antes da biópsia para diminuir a quantidade de sangue nas amostras citológicas.

Para a realização da CAAF foram utilizadas agulhas espinais¹⁷ estéreis, que ao atingirem a área alvo foram acopladas a um citoaspirador por um auxiliar, que, então efetuou movimentos de vai e vem, em leque, sob orientação da operadora, de acordo com o preconizado por Menard *et al.* (1986), Fontain & Morin (1986) e Menard & Papageorges (1995). O material obtido no interior da agulha foi transferido para lâminas histológicas devidamente identificadas (número do animal e momento de colheita). Os esfregaços foram secos ao ar, fixados em metanol e corados pelo método de Giemsa, para posterior interpretação.

Após a colheita de material para a CAAF e através da mesma incisão na pele, procedeu-se a colheita de material para o exame histopatológico. Utilizaram-se agulhas Tru-cut¹⁸, 18 G X 15 cm, estéreis, que ao contrário das

¹⁷ Agulha espinhal 25G3½. B-D – Dickinson Division of Becton Dickinson and Co., Nova Jersey, EUA

¹⁸ Agulha Tru-cut automática TX 18-15 EC®. Gallini s.r.l. Medical Products and Services, Modena, Itália.

agulhas utilizadas na CAAF, apresentam guia para biopsia na extremidade, o que permite a localização exata desta no parênquima hepático. Nos casos em que o material foi insuficiente o processo de biopsia foi repetido até três vezes em cada animal.

O procedimento do exame ultra-sonográfico e a colheita de material da CAAF e biopsia estão descritos na figura 2.

Após devidamente identificados, os fragmentos hepáticos obtidos foram fixados em formol a 10% durante 48 horas. Posteriormente foram mantidos em álcool 95%, para serem emblocados em parafina, cortados e corados pela coloração rotineira de hematoxilina e eosina (HE).

Fez-se um monitoramento ultra-sonográfico do fígado desde imediatamente após as colheitas até quatro horas após as mesmas, em intervalos de 30 minutos, com a finalidade de avaliar prováveis complicações, principalmente hemorragias.

Com a intenção de se qualificar e quantificar as lesões encontradas no parênquima hepático seguiu-se um protocolo pré-estabelecido para os exames citológicos e histológicos (Anexos 2 e 3).

Todos os resultados finais dos aspirados foram comparados aos dos exames histológicos de cada animal.

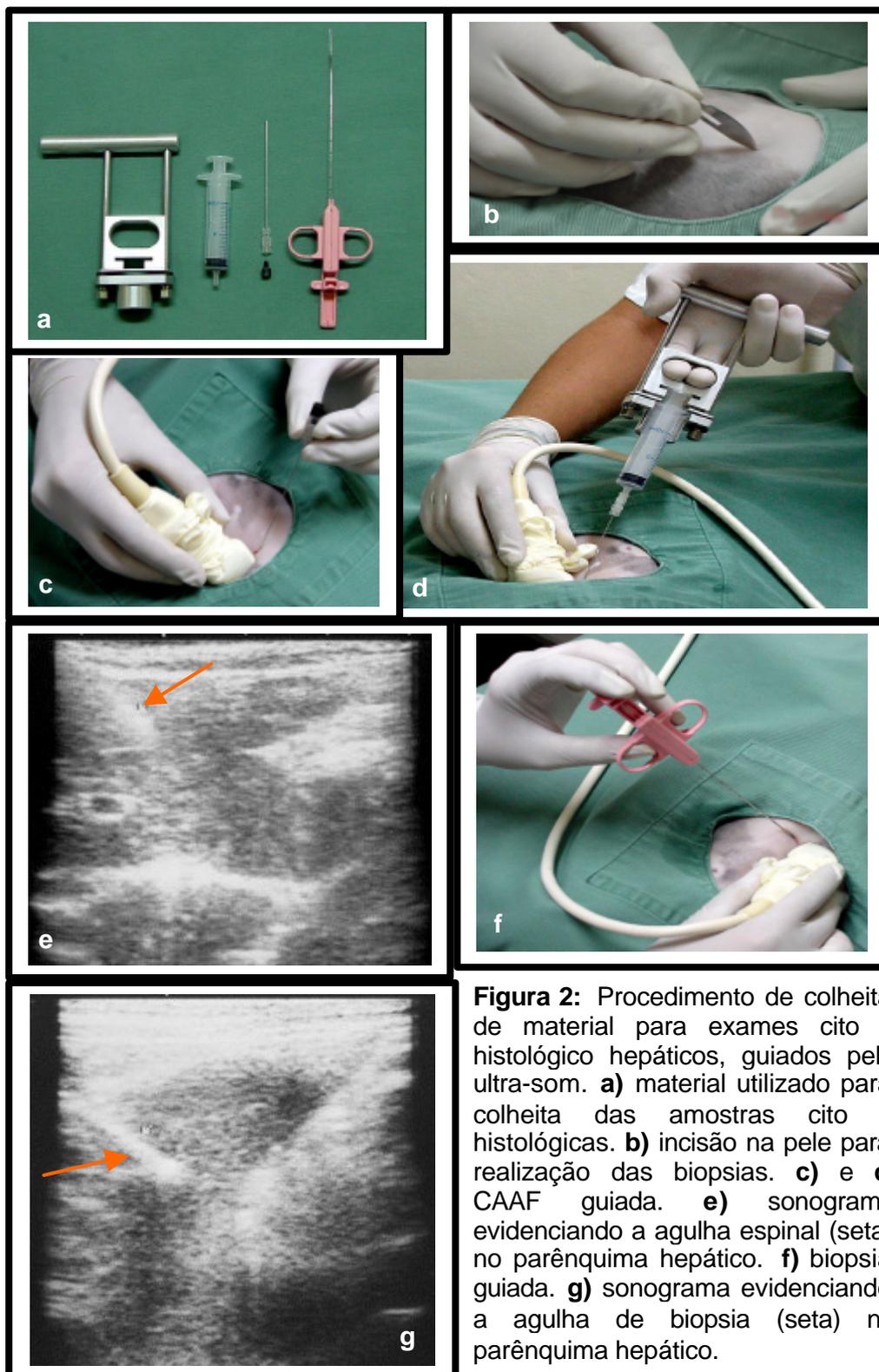


Figura 2: Procedimento de coleta de material para exames cito e histológico hepáticos, guiados pelo ultra-som. **a)** material utilizado para coleta das amostras cito e histológicas. **b)** incisão na pele para realização das biopsias. **c)** e **d)** CAAF guiada. **e)** sonograma evidenciando a agulha espinal (seta) no parênquima hepático. **f)** biopsia guiada. **g)** sonograma evidenciando a agulha de biopsia (seta) no parênquima hepático.

5. Dosagens das enzimas hepáticas séricas

Para a dosagem da enzima alanina aminotransferase (ALT) foi utilizado o Kit ALT (GPT)^{®19}; para a dosagem da enzima aspartato aminotransferase (AST) foi utilizado o Kit AST(GOT) ^{®19}; para a dosagem dos níveis séricos da fosfatase alcalina (FA), o Kit Fosfatase Alcalina Cinética Otimizada^{®19}; para determinação da atividade sérica da gama glutamil transferase (GGT), o Kit GAMA GT^{®19}, sempre seguindo-se as orientações do fabricante.

6. Dosagem dos Níveis Séricos dos Hormônios Tiroideanos

6.1. Dosagem Sérica de T4 Total

O T₄ total sérico foi dosado pela técnica de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida, utilizando-se conjunto de reagente comercial²⁰ sem nenhum tipo de extração química ou processo de purificação, tendo como elemento radioativo traçador o iodo¹²⁵ (I¹²⁵) e seguindo o procedimento indicado pelo fabricante.

As mensurações de radioatividade foram obtidas utilizando-se um contador gama automático²¹, com 48 poços, calibrados automaticamente para I¹²⁵ com o tempo de contagem de um minuto.

Os valores das dosagens hormonais foram adquiridos automaticamente com o uso de um programa específico de computador acoplado ao contador gama e à impressora.

¹⁹ Kit Comercial CELM – Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos, Barueri, SP.

²⁰ Coat a Count[®] Total T₄. DPC[®] Diagnosis Products Corporation, Los Angeles, CA, EUA.

²¹ Kineticount[®]. Vitek Systems, Missouri, EUA.

6.2. Dosagem Sérica de T4 Livre

O T4 livre sérico foi dosado pela técnica de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida, utilizando-se conjunto de reagente comercial²² sem nenhum tipo de extração química ou processo de purificação, tendo como elemento radioativo traçador o I¹²⁵ e seguindo o procedimento indicado pelo fabricante.

As mensurações de radioatividade foram obtidas utilizando-se um contador gama automático²¹, com 48 poços, calibrados automaticamente para I¹²⁵ com o tempo de contagem de um minuto.

Os valores das dosagens hormonais foram adquiridos automaticamente com o uso de um programa específico de computador acoplado ao contador gama e à impressora.

6.3. Dosagem Sérica de T3 Total

O T3 total sérico foi dosado pela técnica de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida, utilizando-se conjunto de reagente comercial²³ sem nenhum tipo de extração química ou processo de purificação, tendo como elemento radioativo traçador o I¹²⁵ e seguindo o procedimento indicado pelo fabricante.

As mensurações de radioatividade foram obtidas utilizando-se um contador gama automático²¹, com 48 poços, calibrados automaticamente para I¹²⁵ com o tempo de contagem de um minuto.

Os valores das dosagens hormonais foram adquiridos automaticamente com o uso de um programa específico de computador acoplado ao contador gama e à impressora.

²¹ KinetiCount®. Vitek Systems, Missouri, EUA

²² Coat a Count® Free T₄. DPC® Diagnosis Products Corporation, Los Angeles, CA, EUA.

²³ Coat a Count® Total T₃. DPC® Diagnosis Products Corporation, Los Angeles, CA, EUA.

7. Análise Estatística

Procedeu-se a análise de variâncias dos dados (ANOVA) utilizando o método dos quadrados mínimos, conforme descrito no procedimento GLM do SAS (1996), tendo como variável independente os momentos onde se procedeu a colheita dos dados, admitindo serem estes normais e independentemente distribuídos.

Para a variável gama glutamiltransferase (GGT) procedeu-se a transformação dos dados em $\sqrt{x+1}$, em decorrência dos valores obtidos. Para as comparações entre médias adotou-se o método descrito por Dunnett (1955).

RESULTADOS

Para esse trabalho reuniram-se informações ultra-sonográficas, citológicas, histológicas e bioquímicas séricas relacionadas ao parênquima hepático de 20 gatos, a fim de se realizar um estudo comparativo com as alterações hormonais da tiróide.

Os resultados das variáveis estudadas e suas respectivas análises estatísticas encontram-se expressas nas Tabelas 1 a 3.

As correlações entre as variáveis estão descritas na Tabela 3 e o comportamento dos hormônios TT4 e FT4 durante os momentos está descrito nos gráficos das Figuras 3 e 4, respectivamente.

As características ultra-sonográficas hepáticas e as observações cito e histológicas foram expressas sob forma de frequência e estão descritas nos gráficos das Figuras 5 a 8 e nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 1: Resumo das análises de variâncias das dosagens séricas dos hormônios tiroideos e das enzimas hepáticas.

		QM						
	G.L.	TT4	FT4	TT3	FA	ALT	AST	GGT
Momento	6	10010,04**	260,18**	0,4113	885,35	13817,41	448,93	0,0555
Resíduo	133	3189,42	85,67	0,2653	1013,67	34658,91	861,89	0,3284
X + D.P.		96,56±56,47	13,74±9,25	1,10±0,515	67,67±31,83	127,07±186,16	31,96±29,35	1,57±0,5731
C.V. %		58,49	67,34	46,66	47,04	146,50	91,85	36,38

QM: quadrados médios

G.L.: grau de liberdade

C.V.: coeficiente de

** P < 0,01

De acordo com a tabela 1 ocorreram alterações estatisticamente significativas somente nos níveis séricos de TT4 e FT4.

Tabela 2: Valores médios das variáveis analisadas em função dos momentos.

	TT4	FT4	TT3	FA	ALT	AST	GGT
Momentos	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
M0	48,52 ^a	6,92 ^a	1,00	58,20	84,80	24,65	1,52
M1	102,22 ^b	16,87 ^b	1,24	63,95	128,35	30,60	1,68
M2	108,36 ^b	14,30 ^b	1,36	66,10	161,65	40,40	1,55
M3	98,86 ^b	12,28 ^a	1,08	63,45	114,40	32,20	1,60
M4	118,89 ^b	16,40 ^b	0,97	73,15	147,80	34,25	1,58
M5	98,55 ^b	16,98 ^b	1,03	77,60	109,40	30,45	1,54
M6	100,51 ^b	12,44 ^b	1,04	71,30	143,15	31,20	1,55

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si (P < 0,05) pelo teste de Dunnett.

Como mostra a tabela 2 houve variação estatisticamente significativa nos níveis séricos de TT4 entre M0 e os demais momentos, sendo que M1, M2, M3, M4, M5 e M6 não diferem estatisticamente entre si.

Os níveis séricos de FT4 não diferem entre si nos momentos M0 e M3, sendo diferentes estatisticamente dos demais momentos, que por sua vez mostraram-se estatisticamente iguais entre si.

Tabela 3: Correlações entre as características estudadas (N = 20)

	FT4	TT3	FA	ALT	AST	GGT
TT4	0,61*	0,37	0,16	0,23	0,25	- 0,34
FT4	--	0,58*	0,92*	0,27	0,26	- 0,32
TT3	0,58*	--	0,06	0,18	0,11	- 0,25
FA	0,92*	0,06	--	0,30	0,19	0,16
ALT	0,27	0,18	0,30	--	0,91*	- 0,26
AST	0,26	0,11	0,19	0,91*	--	- 0,24
GGT	- 0,32	- 0,25	0,16	- 0,26	- 0,24	--

(*) P < 0,05

O que se pode observar foi a existência de correlação positiva e estatisticamente significativa entre os níveis séricos de TT4 e FT4, entre os de FT4 e TT3, entre os de FT4 e FA e entre os de ALT e AST.

Decompondo-se os momentos em polinômios não-ortogonais verificou-se que o TT4 apresentou um comportamento linear e quadrado de modo significativo, determinando a seguinte equação:

$$y = 112,4 + 5,685(x - 3) - 3,953(x - 3)^2$$

O gráfico a seguir (figura 3) representa a direção tomada pela variável estudada em função dos momentos de execução do presente projeto.

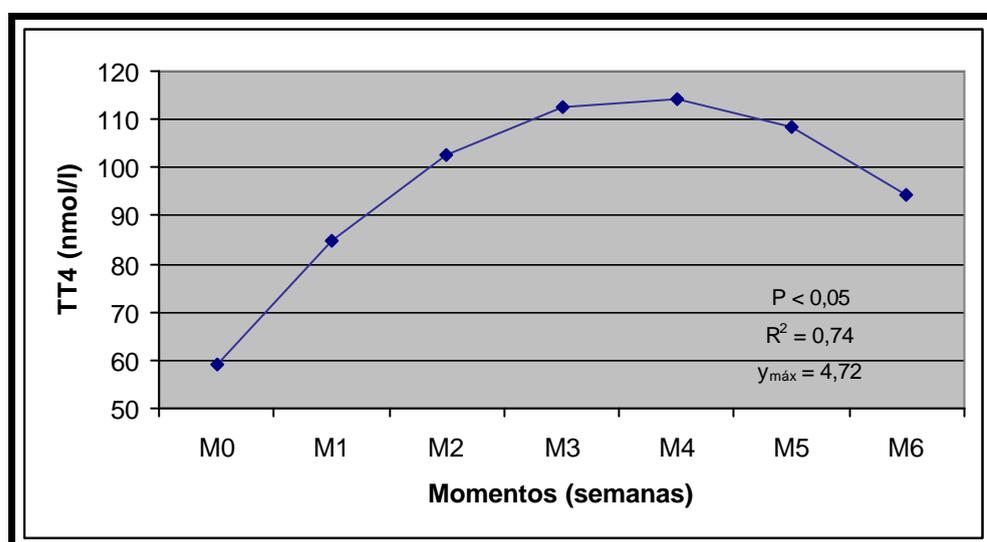


Figura 3: Resposta do TT4 em função dos momentos.

Pode-se observar no gráfico acima que o nível sérico mais elevado de TT4 foi obtido no M4, ou seja, na 5ª semana de indução da tirotoxicose.

Decompondo-se os momentos em polinômios não-ortogonais verificou-se que o FT4 apresentou um comportamento linear e quadrado de modo significativo, determinando a seguinte equação:

$$y = 112,4 + 5,685(x - 3) - 3,953(x - 3)^2$$

O gráfico a seguir (figura 4) representa a direção tomada pela variável estudada em função dos momentos de execução do presente projeto.

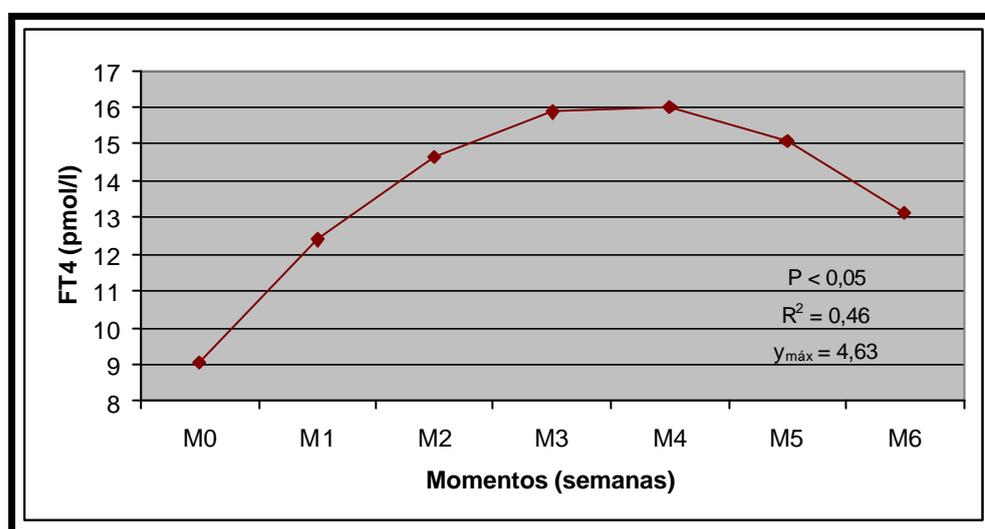


Figura 4: Resposta do FT4 em função dos momentos.

Pode-se observar no gráfico acima que os níveis séricos de FT4 atingiram maior concentração no M4, ou seja, na 4ª semana de indução da tirotoxicose.

Avaliação ultra-sonográfica do parênquima hepático

As características ultra-sonográficas hepáticas avaliadas neste estudo (tamanho, contornos, ecotextura e vasos portais) estão descritas nos gráficos das figuras 5 a 8.

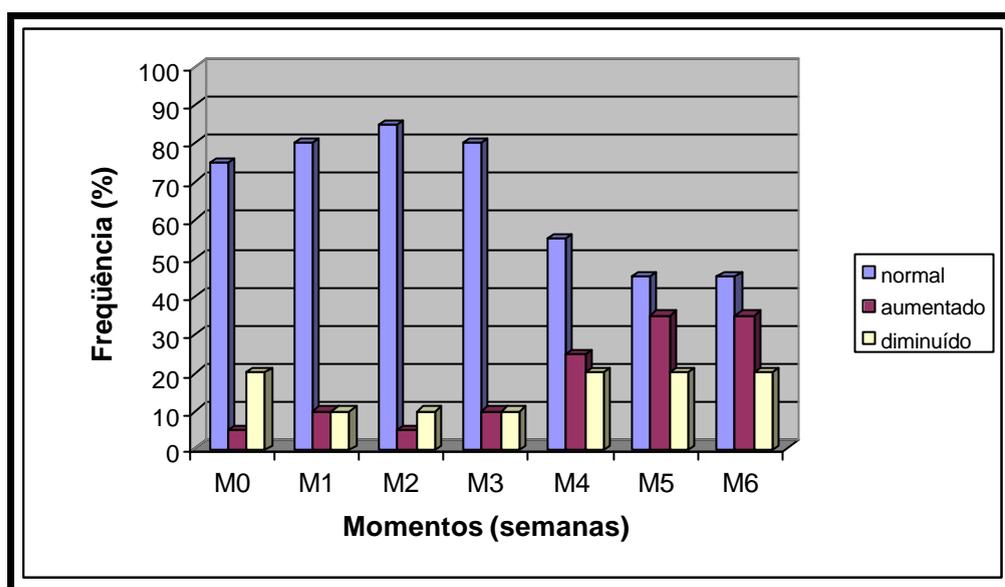


Figura 5: Distribuição das frequências segundo as alterações no tamanho hepático, determinado ultra-sonograficamente, nos diferentes momentos .

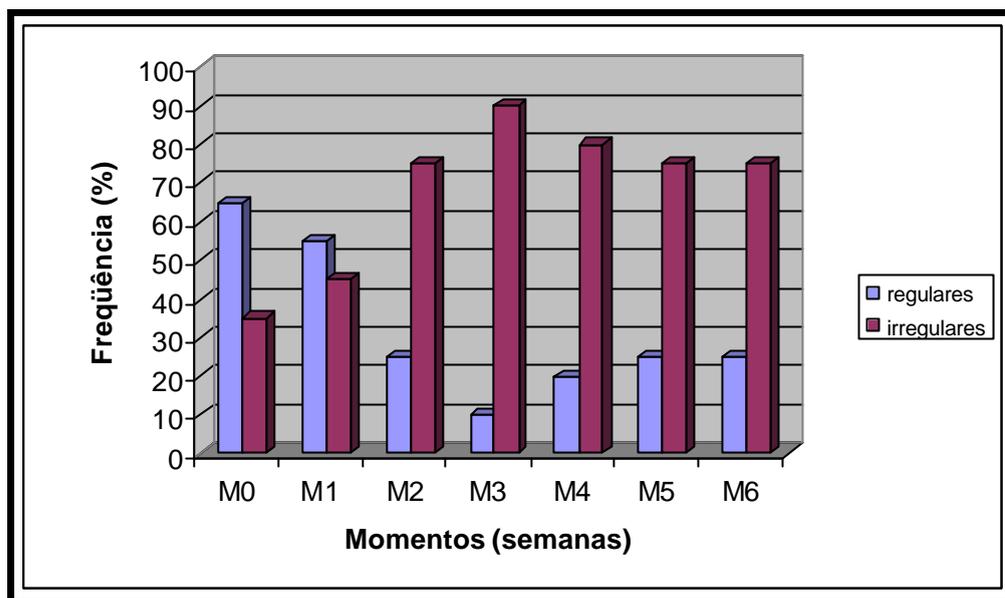


Figura 6: Distribuição das freqüências segundo as alterações nos contornos hepáticos nos diferentes momentos.

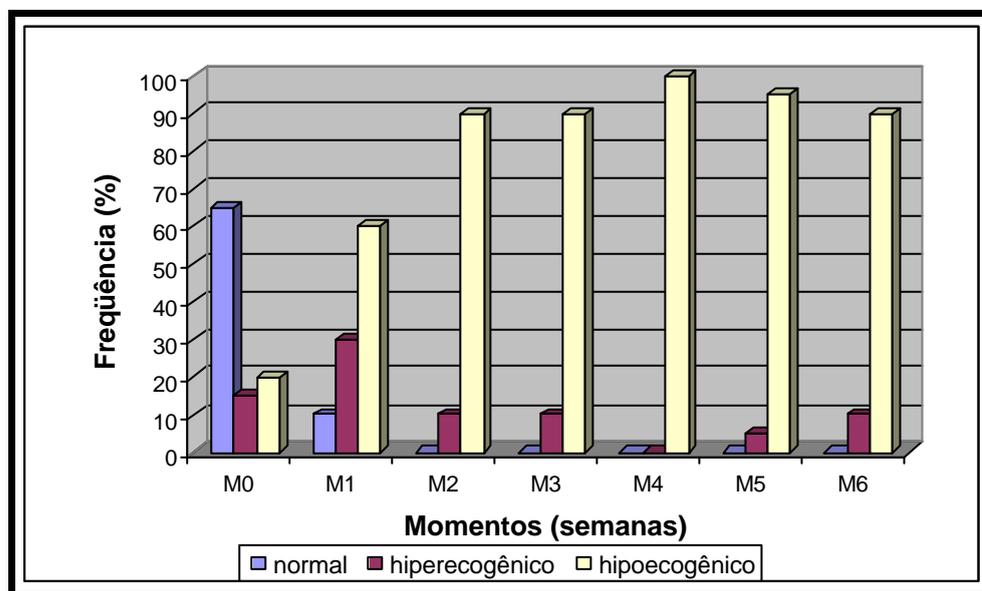


Figura 7: Distribuição das freqüências segundo as alterações na ecogenicidade do parênquima hepático nos diferentes momentos.

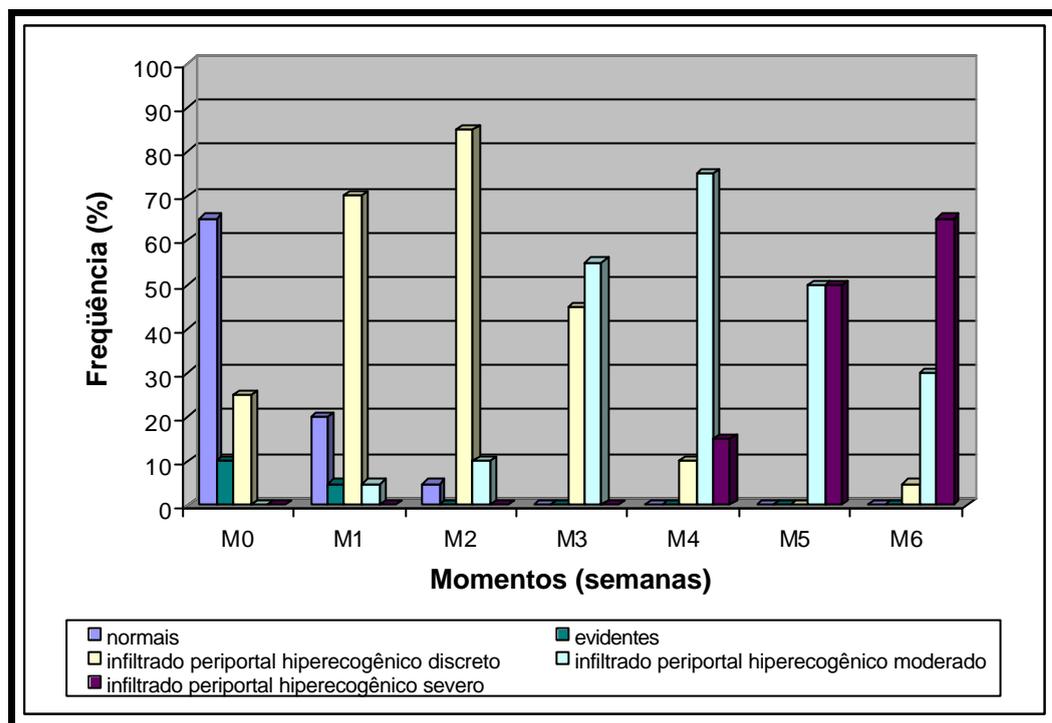


Figura 8: Distribuição das frequências de infiltração periportal hipercogênica, e sua intensidade, observadas nos diferentes momentos.

Comparando-se os gráficos relacionados ao comportamento dos hormônios TT4 e FT4 (figuras 3 e 4, respectivamente) com o gráfico relacionado à ecotextura do parênquima hepático (figura 7), pode-se observar que ocorreu um aumento gradual da hipercogenicidade a partir de M1, atingindo o máximo em M4 e, após este momento, encontrou-se uma leve tendência à queda, mas todos esses elementos mantiveram-se altos até o final do experimento. Deve ser salientado também que, a partir de M4, o infiltração periportal hipercogênica (figura 8) começou a ser mais severo e sua frequência se elevou nos momentos seguintes.

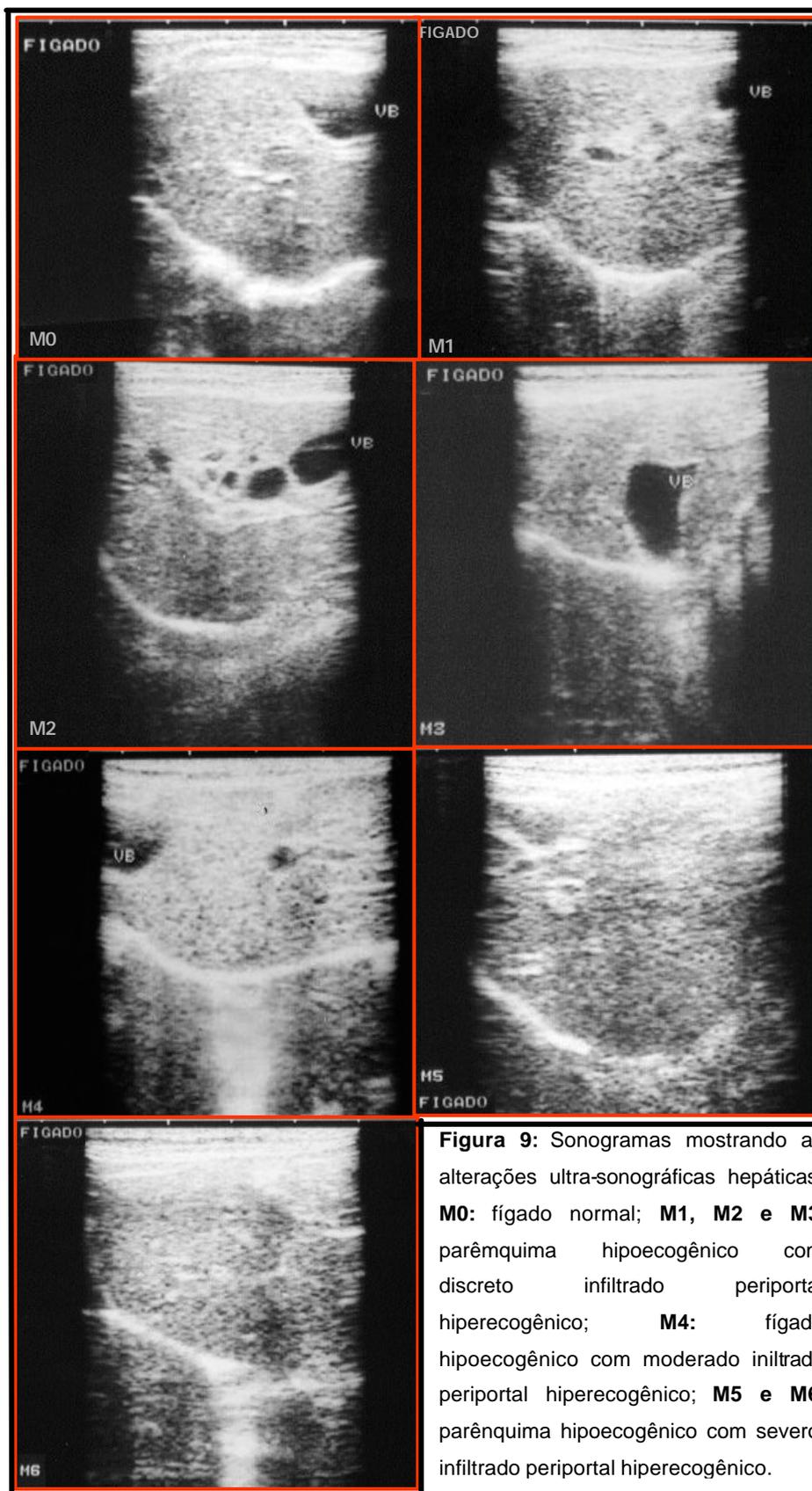


Figura 9: Sonogramas mostrando as alterações ultra-sonográficas hepáticas. **M0:** fígado normal; **M1, M2 e M3:** parênquima hipocogênico com discreto infiltrado periportal hiperecogênico; **M4:** fígado hipocogênico com moderado infiltrado periportal hiperecogênico; **M5 e M6:** parênquima hipocogênico com severo infiltrado periportal hiperecogênico.

Avaliação citológica hepática

A celularidade das amostras foi representativa na totalidade dos casos de citologia (N = 40), sendo que prevaleceram os hepatócitos mononucleares (100%) no M0; a binucleação quando observada ocorreu no M6 (10%).

Tabela 4: Distribuição das freqüências das diferentes características citológicas avaliadas de acordo com os momentos.

Características	M0	M6
Único macronúcleo	20/20 (100%)	20/20 (100%)
Infiltrado linfocítico	17/20 (85%)	15/20 (75%)
Infiltrado polimorfonuclear (PMN)	20/20 (100%)	20/20 (100%)
Infiltrado macrofágico (células de Kupffer)	6/20 (30%)	5/20 (25%)
Necrose	18/20 (90%)	18/20 (90%)
Degeneração hidrópica	4/20 (20%)	5/20 (25%)
Esteatose	1/20(5%)	0 (0)
Colestase	16/20 (80%)	11/20 (55%)
Anisocariose leve	10/20 (50%)	8/20 (40%)
moderada	10/20 (50%)	12/20 (60%)

No momento final do experimento (M6) a distribuição dos tipos de lesões hepáticas ao exame citológico obedeceu a seqüência: hepatite (100%), colestase (55%) e degeneração hidrópica (25%).

O processo inflamatório foi observado em 100% (20) dos gatos ao final do experimento, sendo que 100% (20) apresentavam infiltrado polimorfonuclear (PMN), 75% (15) infiltrado linfocítico, e 25% (5) presença de células de Kupffer.

A colestase foi mais freqüente em M0 (80% das amostras) em relação a M6 (55%).

Em M6 prevaleceu a anisocariose moderada (60% das amostras) enquanto a discreta prevaleceu em M0 (50%).

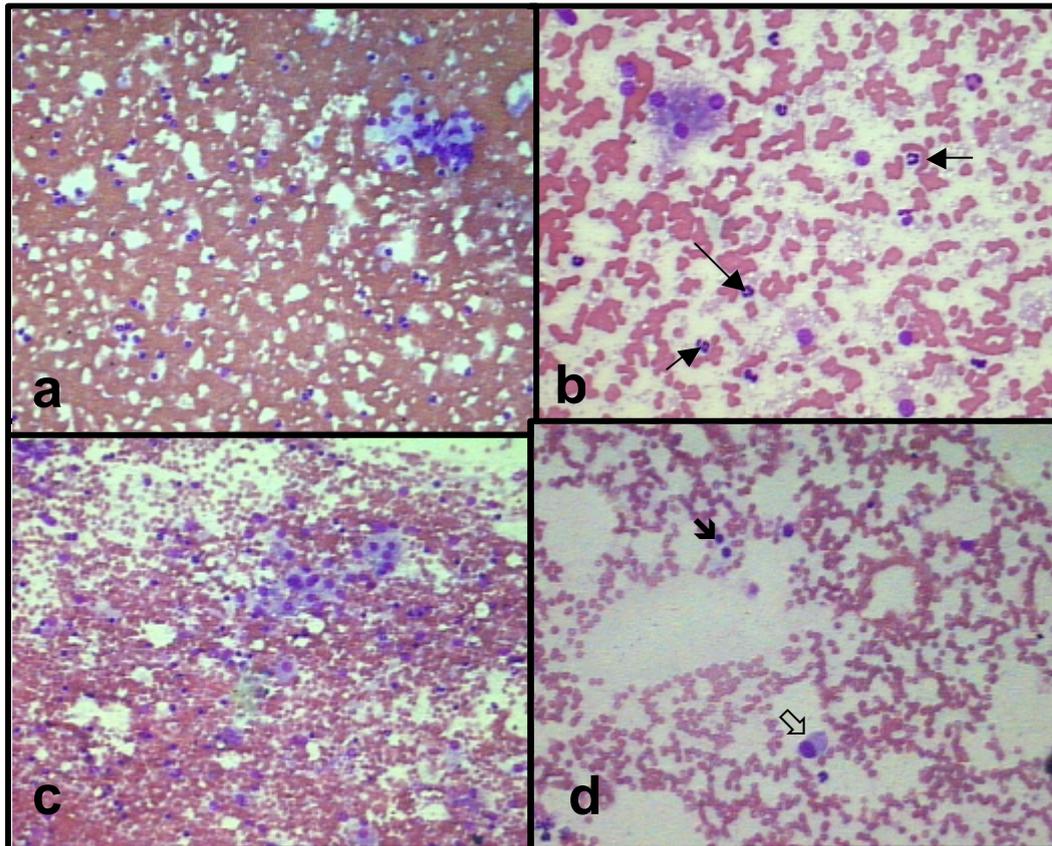


Figura 10: Amostras citológicas hepáticas ao final do período experimental (M6). **a)** Hepatite aguda (infiltrado linfocítico e PMN), 25X; **b)** PMN (setas), 400X; **c)** Linfócitos e PMN, 250X; **d)** Linfócitos (seta cheia) e célula de Kupffer (seta vazia), 32X. Coloração de Giemsa.

Avaliação histológica hepática

As amostras foram representativas em 90% (18/20) dos casos em M0 e em 80% (16/20) em M6.

Tabela 5: Distribuição das freqüências das diferentes características histológicas avaliadas de acordo com os momentos.

Características	M0	M6
Único macronúcleo	18/18 (100%)	16/16 (100%)
Infiltrado linfocítico	13/18(77,22%)	10/16(62,5%)
Infiltrado polimorfonuclear (PMN)	17/18 (94,45%)	16/16 (100%)
Infiltrado macrofágico (células de Kupffer)	1/18 (5,56%)	2/16 (12,5%)
Necrose	18/18 (100%)	16/16 (100%)
Degeneração hidrópica	13/18 (72,22%)	11/16 (68,75%)
Esteatose	8/18 (44,44%)	5/16 (31,25%)
Colestase	7/18 (38,89%)	6/16 (37,5%)
Anisocariose leve	4/18 (22,22%)	3/16 (18,75%)
moderada	13/18 (72,22%)	13/16 (81,25%)

No momento final do experimento (M6) a distribuição dos tipos de lesões hepáticas ao exame histológico obedeceu a seqüência: hepatite (100%), colestase (27,5%), degeneração hidrópica (68,75%) e esteatose (31,25%).

O processo inflamatório foi observado em 100% (16) das amostras ao final do experimento, sendo que 100% dos animais (16/16) apresentavam infiltrado polimorfonuclear (PMN), 62,5% (10/16) infiltrado linfocítico, e 12,5% (2/16) presença de células de Kupffer.

A frequência de ocorrência de colestase foi semelhante em M0 (38,79% das amostras) e em M6 (37,5%).

A anisocariose moderada prevaleceu tanto em M0 (72,22%) quanto em M6 (81,25%).

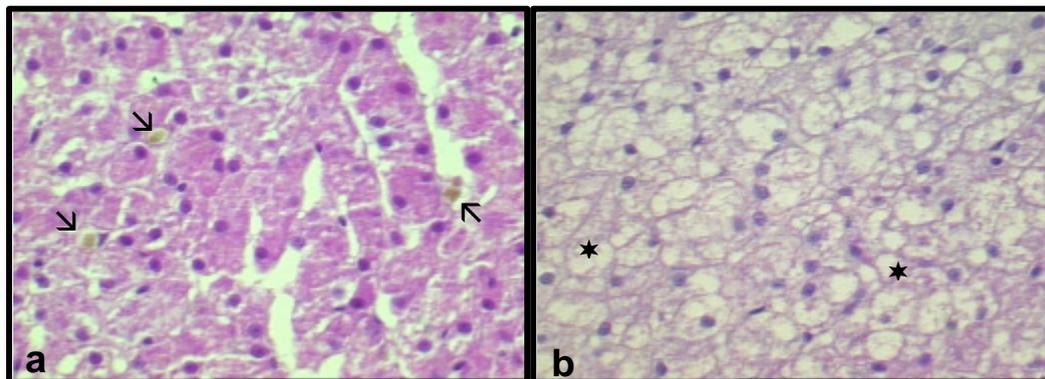


Figura 11: Amostras histológicas hepáticas ao final do período experimental (M6). **a)** Presença de pigmento esverdeado correspondente a colestase (setas), 64X; **b)** Áreas de necrose (★) e presença de esteatose, 64X. Coloração hematoxilina e eosina (HE).

DISCUSSÃO

Na discussão dos resultados deste estudo os valores do momento zero (M0) serviram como valor de referência para as alterações ou achados após o desenvolvimento da tirotoxicose experimental. Isto é importante pois se trata de um estudo controlado, onde os animais não tiveram interferência de outras doenças, drogas ou diferenças no manejo.

É importante citar que ao contrário do que ocorre no hipertiroidismo espontâneo, onde os animais são adultos com idade avançada (THODAY & MOONEY, 1992), os animais utilizados nesta pesquisa eram todos adultos jovens. Vale a pena reafirmar que existem poucos trabalhos utilizando gatos para provocar tirotoxicose experimental, explicando, assim, a pequena quantidade de dados que foram utilizados para fazer as comparações. Por outro lado há um grande número de relatos e estudos sobre o hipertiroidismo felino espontâneo e também estudos experimentais em ratos com os quais foi possível fazer um paralelo.

Os níveis séricos da TT4, FT4 e TT3 no M0, nesta pesquisa, situaram-se dentro dos valores de referência para gatos (PETERSON *et al.*, 2001).

Os valores mensurados do TT4 na tirotoxicose experimental foram semelhantes aos descritos na literatura (MOONEY *et al.*, 1996; PETERSON *et al.*, 2001).

Os níveis séricos do TT4 e do FT4 no M0 apresentaram diferença estatisticamente significativa dos demais momentos. Os valores encontrados do M1 ao M6 são compatíveis com os do hipertiroidismo espontâneo, demonstrando, assim, que o protocolo experimental foi adequado na indução da tirotoxicose nos gatos e na produção de efeitos sistêmicos secundários. Os

níveis séricos de TT4 e FT4 encontrados demonstram a sensibilidade que a técnica de dosagem utilizada neste estudo tem para diagnosticar o hipertiroidismo.

Nem todos os gatos desta pesquisa apresentaram os valores de TT4 dentro dos limites da faixa diagnóstica de hipertiroidismo, como citado por Peterson *et al.* (2001) que consideram diagnóstico os valores superiores a 65nmol/L. Esse achado também ocorre no hipertiroidismo felino espontâneo (PETERSON *et al.*, 1987; THODAY & MOONEY, 1992; MOONEY *et al.*, 1996). A presença de concentrações de TT4 na faixa de valores normais em gatos com hipertiroidismo espontâneo varia muito; Peterson *et al.* (2001) relataram que 33,5% dos casos de 917 gatos com hipertiroidismo apresentaram este comportamento. Provavelmente, devido a problemas na absorção, distribuição e biotransformação da levotiroxina sintética administrada aos gatos, que não apresentavam enfermidades não tiroidianas concomitantes e, aos quais não foi administrada qualquer droga que pudesse interferir nos valores de TT4, alguns animais não apresentaram elevação nos níveis de TT4. Outra hipótese é a desiodinação acelerada do TT4 formando uma grande quantidade de TT3, porém esta hipótese é pouco provável, pois o aumento do TT3 encontrado foi insignificante e, além disso, o T3 é um hormônio essencialmente intracelular.

Não foi observada variação entre os sete momentos quanto aos níveis séricos de TT3, fato também observado por Mooney *et al.* (1996) e Peterson *et al.* (2001). Há relatos de que 29% dos gatos hipertiroideos apresentaram os níveis de TT3 dentro dos valores de referência (BROUSSARD *et al.*, 1995) e não 100% como se observou neste estudo. No hipertiroidismo é esperado um

aumento discreto nos valores de TT3, uma vez que se trata de um hormônio intracelular.

Elevações nos níveis séricos de ALT, AST, e FA são a alteração mais freqüentemente observada em gatos com hipertiroidismo (MERIC, 1989). Mooney (2001) relata que em 90% dos gatos hipertiroideos a concentração de pelo menos uma dessas enzimas se encontra elevada; neste estudo os níveis séricos das enzimas hepáticas se encontraram discretamente elevados, apesar de não existir alterações estatisticamente significativas nas concentrações das mesmas. Bader *et al.* (2001) sugerem que a hipertransaminasemia está associada com o hipertiroidismo, porém sua causa permanece incerta.

Quanto ao exame ultra-sonográfico hepático pode-se observar uma diminuição marcante em sua ecogenicidade, juntamente com o aparecimento de infiltrado periportal hiperecogênico. [Newell *et al.* \(1998\) relatam que os vasos portais se tornam proeminentes ou por aumento em seu diâmetro, o que não ocorreu neste estudo, ou por aumento na ecogenicidade de suas paredes, como observado ao final do experimento.](#)

A hipoecogenicidade difusa do fígado pode ser identificada através da melhor visibilização dos vasos portais (SANTILLI & BILLER, 1993; PENNINCK & BERRY, 1997). O fígado com padrão “céu estrelado”, ou seja, com evidenciação dos vasos portais associado à diminuição da ecogenicidade do parênquima, é um sinal sugestivo de hepatite aguda em gatos (NEWELL *et al.*, 1998) e em humanos (TCHELEPI *et al.*, 2002). [Acredita-se que este infiltrado periportal hiperecogênico seja resultante do acúmulo de fluido entre os hepatócitos adjacentes às paredes portais fibrosas tipicamente hiperecogênicas \(NEWELL, *et al.*, 1998\).](#)

A distribuição das alterações observadas ao exame ultra-sonográfico hepático (hipoecogenicidade associada com infiltrado periportal hiperecogênico) se encaixa na categoria das hepatopatias difusas, caso em que a literatura sugere a colheita de material para os exames cito e histológicos (ANDERSON, 1980; MARTÍNEZ-NOGUERA *et al.*, 1993; BARR, 1995; HOMCO, 1996; NEWELL *et al.*, 1998; MAMPRIM, 1999; ANGTUACO *et al.* 2002; SPIEZIA *et al.*, 2002) para a obtenção de informações mais conclusivas.

A grande vantagem de se realizar procedimentos de CAAF e biopsia guiadas pelo ultra-som é a segurança, pois pode-se desviar as agulhas de regiões críticas, como grandes vasos, diminuindo assim o risco de hemorragias.

Tanto na avaliação citológica quanto na histológica observou-se a presença de infiltrado inflamatório (polimorfonuclear, em 100% das amostras cito e histológicas em M6, e linfocítico na maioria — mais de 60% — das amostras cito e histológicas em M6) que apesar de variar quanto a intensidade, é [sugestivo de hepatite aguda](#).

Bellassoued *et al.* (2001) descreveram um caso de hepatite tiorotóxica em humano, onde à histologia hepática observou-se fibrose periportal moderada associada com infiltrado linfocítico, presença de células de Kupffer, além de anisocariose e moderada esteatose. Nos gatos deste experimento só não se observou presença de fibrose peri-portal.

Elwood *et al.* (2001) descrevem a presença de infiltrado inflamatório periportal constituído de linfócitos e células plasmáticas, e de focos de hepatócitos contendo pequena quantidade de pigmento esverdeado, condizente com colestase, em um caso de colelitíase e hipertiroidismo em um gato.

Ao final deste estudo (M6) observou-se dados divergentes quanto a presença de colestase nos exames citológicos (55% dos gatos) e histológicos (27,5%), e esteatose (zero, na citologia e 31,25%, na histologia) fato este observado por Willard *et al.*(1999) em estudo comparando os resultados destes exames em quatro gatos com doença hepática infiltrativa.

Diferente de Spiezia *et al.* (2002) que obteve 100% dos fragmentos de biopsias hepáticas, com no mínimo 1 cm de comprimento e contendo de 4 a 6 espaços porta, utilizando agulhas automáticas Tru-cut, 18 gauge X 15 cm, algumas amostras deste experimento não apresentaram espaços porta suficientes para se chegar a um diagnóstico histológico mais preciso.

Ahmad & Riley (2001), Spiezia *et al.* (2002) e Weiss *et al.* (2002) ressaltam a relação custo/benefício positiva de se proceder as biopsias hepáticas guiadas pelo ultra-som, tornando esta técnica imprescindível para a avaliação das alterações hepáticas difusas.

CONCLUSÕES

A partir do protocolo de indução da tirotoxicose em gatos através da administração de 150 µg/kg levotiroxina sódica, por via oral, a cada 24 horas durante 42 dias, podem ser apresentadas as seguintes conclusões:

- × O protocolo utilizado para a indução da tirotoxicose aumentou significativamente os níveis séricos de T4, livre e total, a partir da primeira semana de tratamento;
- × O radioimunoensaio mostrou-se um método eficaz para a dosagem de T4, livre e total, e T3 total em gatos, mesmo utilizando-se kits comerciais para uso na espécie humana;
- × A dosagem dos níveis de T3 total em gatos não apresentou variação significativa, não sendo, assim, fundamental para o diagnóstico de tirotoxicose;
- × As enzimas hepáticas apesar de sofrerem elevações em seus níveis séricos, não apresentaram alteração estatisticamente significativa até o final do experimento;
- × A partir da 2ª semana do experimento a maioria dos gatos apresentou diminuição da ecogenicidade hepática juntamente com o aparecimento de infiltrado periportal hiperecogênico discreto, sendo que ao final do estudo a maioria destes apresentava este infiltrado moderado ou severo, sugerindo o desenvolvimento de hepatite aguda;

- × As alterações mais acentuadas quanto ao tamanho hepático e à hipoeogenicidade do parênquima foram concomitantes à elevação dos níveis séricos de T4, ou seja, em M4.

- × O exame ultra-sonográfico mostrou-se eficaz na demonstração das alterações hepáticas produzidas pela tirotoxicose, embora estas alterações não sejam patognomônicas de doença hepática secundária ao hipertiroidismo;

- × As alterações ultra-sonográficas hepáticas secundárias ao hipertiroidismo precedem o aparecimento das alterações séricas das enzimas hepáticas;

- × A colheita de material para exames, citológicos e histológicos, guiadas por ultra-som é um procedimento seguro e eficaz para o diagnóstico de hepatopatias produzidas pela tirotoxicose;

- × As amostras citológicas obtidas com a utilização de agulhas espinais de 25G forneceram material suficiente e de boa qualidade para análise;

- × O pequeno fragmento hepático obtido pelas agulhas Tru-cut, 18 G X 15 cm, foi insuficiente para a obtenção de resultados mais acurados no exame histológico.

REFERÊNCIAS *

AHMAD, M.; RILEY, T.R. Can one predict when ultrasound will be useful with percutaneous liver biopsy? **Am. J. Gastroenterol.**, v.96, p.547-549, 2001.

ANDERSON, N.V. Diseases of the liver. In _____. **Veterinary Gastroenterology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1980. cap.25, p.593-620.

ANGTUACO, T.L.; LAL, S.K.; BANAAD-OMIOTCK, G.D.; ZAIDI, S.S.A; HOWDEN, C.W. Current liver biopsy practices for suspected parenchymal liver diseases in the United States: the evolving role of radiologists. **Am. J. Gastroenterol.**, v.97, p.1468-1471, 2002.

BADER, A.A.; AUGUST, G.P.; AUSTIN, A. Hypertransaminasemia in two children with hyperthyroidism. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v.32, p.484-486, 2001.

BAKER, R.; LUMSDEN, J.H. **Color atlas of cytology of the dog and cat**. Mosby: St. Louis, 2000. 288p.

BARR, F. Percutaneous biopsy of abdominal organs ultrasound guidance. **J. Small Anim. Pract.**, v.36, p.105-113, 1995.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.
BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

BAYRAKTAR, M. THIEL, D.H. Abnormalities in measures of liver function and injury in thyroid disorders. **Hepato-Gastroenterol.**, v.44, p.1614-1618, 1997.

BELLASSOUED, M.; MNIF, M.; KAFFEL, N.; REKIK, N.; REBAIT, T.; TAHRI, N.; KRICHEN, M.S.; ABID, M. Hépatite thyroïdienne. **Ann. Endocrinol.**, v.63, p.235-238, 2001.

BILLER, D.S.; KANTROWITZ, B.; MIYABAYASHI, T. Ultrasonography of diffuse liver diseases. **J. Vet. Intern. Med.**, v.6, p.71-6, 1992.

BOTTLES, K.; MILLER, T.R.; COHEN, M.B.; LJUNG, B. Fine needle aspiration biopsy: has its time come? **Am. J. Med.**, v.81, p.525-31, 1986.

BROUSSARD, J.D.; PETERSON, M.E.; FOX, P.R. Changes in clinical and laboratory findings in cats with hyperthyroidism from 1983 to 1993. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.206, p.302-305, 1995.

BROW, R.S.; KEATING, P.; LIVINGSTON, P.G.; BULLOCK, L. Thyroid growth immunoglobulins in feline hyperthyroidism. **Thyroid**, v.2, p.125-30, 1992.

BRUYETTE, D.S. Feline endocrinology update. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.31, p.1063-1081, 2001.

BURKHARD, M.J.; MEYER, D.J. Invasive cytology of internal organs: cytology of the thorax and abdomen. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.26, p. 1203-1222, 1996.

CARTEE, R.E. Diagnostic real time ultrasonography of the liver of the dog and cat. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v.17, p. 731-7, 1981.

CENTER, S.A; BALDWIN, B.H.; DILLINGHAM, S.; ERB, H.N TENNANT, B.C. Diagnostic value of serum γ -glutamyl transferase and alkaline phosphatase activities in hepatobiliary disease in the cat. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.188, p.507-510, 1986.

CORNELIUS, L.M. Abnormalities of the standard biochemical profile. In: LORENZ, M.D., CORNELIUS, L.M. **Small Animal Medical Diagnostic**. Philadelphia: Lippincott, 1987. p.539-91

DE RYCKE L.M.J.H.; VAN BREE, H.J.J.; SIMOENS P.J.M. Ultrasound-guided tissue-core biopsy of liver, spleen and kidney in normal dogs. **Vet. Radiol. Ultrasound**, v. 40, p.294-299, 1999.

DUNNETT, C.W. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. **J. Amer. Stat. Assoc.**, v.50, p.1096-1121, 1955.

ELWOOD, C.M.; WHITE, R.N.; FREEMAN, K.; WHITE, M. Cholelithiasis and hyperthyroidism in a cat. **J. Feline Med. Surg.**, v. 3, p. 247-252, 2001.

FARRELL R.J.; SMIDDY, P.F.; PILKIGTON, R.M.; TOBIN, A.A.; MOONEY, E.E.; TEMPERLEY, I.J. McDONALD, G.S.; BOWMER, H.A.; WILSON, G.F.; KELLEHER, D. Guided versus blind liver biopsy for chronic hepatitis C: clinical benefits and costs. **J. Hepatol.**, v.30, p.580-587, 1999.

FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. **Canine and feline endocrinology and reproduction**. Philadelphia. W.B. Saunders, 1996. 785p.

GODSHALK, C.P.; BADERTESCHER, R.R.; RIPPY, M.K.; GHENT, A.P. Quantitative ultrasonic assessment of liver size in the dog. **Vet. Radiol.**, v.29, p.162-67, 1988.

GRAVES, T.K.; PETERSON, M.E. Diagnostic tests for feline hyperthyroidism. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.24, p.567-576, 1994.

HAGER, D.A.; NYLAND, T.G.; FISHER, P. Ultrasound-guided biopsy of the canine liver, kidney and prostate. **Vet. Radiol.**, v.26, p.82-8, 1985.

HALL, R.L. Laboratory evaluation of liver disease. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.15, 1985.

HOMCO, L.D. Ultrasound scanning techniques. In: GREEN, R.W. **Small Animal Ultrasound**. Philadelphia: Lippincot Raven, 1996, chap. 3, p.29-57.

HOPPE, F.E.; HAGER, D.A.; POULOUS, P.W.; EKMAN, S.; LINDGREN, P.G. A comparison of manual and automatic ultrasound-guided biopsy techniques. **Vet. Radiol.**, v.27, p.99-101, 1986

JOSEPH, A.E.A.; SAVERYMUTTU, S.H.; AL-SAM, S.; COOK, M.G.; MAXWELL, J.D. Comparison of histology with ultrasonography in assessing diffuse parenchymal liver disease. **Clin. Radiol.**, v.43, p.26-31, 1991.

KAPTIAN, E.M.; HAYS, M.T.; FERGUSON, D.C. Thyroid hormone metabolism: a comparative evaluation. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.24, p.431-463, 1994.

KERWIN, S.C. Hepatic aspiration and biopsy techniques. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.25, p.275-91, 1995.

LAMB, C.R. Abdominal ultrasonography in small animals: examination of liver, spleen and pancreas. **J. Small Anim. Pract.**, v.31, p.5-14, 1990.

LÉVEILLÉ, R.; PARTINGTON, B.P.; BILLER, D.S.; MIYABASHI, T.A.U., Complications after ultrasound-guided biopsy of abdominal structures in dogs and cats: 246 cases (1984-1991). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.203, p. 413-5, 1993.

MADDISON, J.E. The diagnostic approach to hepatic disease in the dog. **Aust. Vet. Pract.**, v.20, p.2-7, 1990.

MAMPRIM, M.J. **Doença hepática difusa em cães:** estudo ultra-sonográfico comparativo com exames bioquímicos, biopsia e CAAF. 1999. 100f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

MAREK, J.; MOCSY, J. **Tratado de diagnóstico clínico de las enfermedades internas de los animales domésticos.** Barcelona: Labor,1963. 675p.

MARTÍNEZ-NOGUERA, A.; CALONGE, E.; COSCOJUELA, P.; SORIANO, G.; MARTÍVICENTE, A.; TEIXIDÓ, M. Chronic liver disease: comparison of ultrasound patterns with laparoscopy and biopsy. **J. Clin. Ultrasound**, v.21, p.325-30, 1993.

MEINKOTH, J.H.; COWELL, R.L. Sample collection and preparation in cytology: increasing diagnostic yield. **Vet. Clin. Small Anim.**, v.32, p.1187-1207, 2002.

MENARD, M.; FONTAINE, M.; MORIN, M. Fine needle aspiration biopsy of malignant tumors in dogs and cats: a report of 102 cases. **Can. Vet. J.**, v.27, p.504-10, 1986.

MENARD, M.; PAPAGEORGES, M. Technique for ultrasound-guided fine needle biopsies. **Vet. Radiol. Ultrasound**, v.36, p.137-8, 1995.

MERIC, S.M. The laboratory tests that confirm a diagnosis of feline hyperthyroidism. **Vet Med.**, v.84, p.964-968, 1989.

MOONEY, C.T.; LITTLE, C.J.L.; MACRAE, A.W. Effects of illness not associated with the thyroid gland serum total and free thyronine concentrations in cats. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.208, p.2004-08, 1996.

MOONEY, C.T. Feline hyperthyroidism: diagnostics and therapeutics. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.31, p. 963-983, 2001.

MOONEY, C.T. Pathogenesis of feline hyperthyroidism. **Feline Pract.**, v.4, p.167-169, 2002.

MWANZA, T.; MIYAMOTO, T.; OKUMURA, M.; KADOSAVA, T.; FUJINAGA, T. Ultrasonography, biochemical and hematological profiles in liver disease caused by intravenous administration of dimethylnitrosamine in dogs. **Jpn. J. Vet. Res.**, v.45, p.153-61, 1997.

NEWELL, S.M.; SELCER, B.A.; GIRARDI, E.; ROBERTS, G.D.; THOMPSON, J.P.; HARRISON, J.M. Correlations between ultrasonographic findings and specific hepatic disease in cats: 72 cases (1985-1997). **J. Am. Vet. Assoc.**, v.213, p.94-8, 1998.

NYLAND, T.G.; PARK, R.D. Hepatic ultrasonography in the dog. **Vet. Radiol.**, v.24, p.74-84, 1983.

NYLAND, T.G.; HAGER, D.A. Sonography of the liver, gallbladder and spleen. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.15, p.1123-48, 1985.

NYLAND, T.G.; HAGER, D.A.; HERRING, D.S. Sonography of liver, gallbladder and spleen. **Semin. Vet. Med. Surg.**, v.4, p.13-31, 1989.

NYLAND, T.G.; MATOON, F.S.; WISNER, E.R. Ultrasonography of the liver. In NYLAND, T.G., MATOON, F.S. **Veterinary diagnostic ultrasound**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995. chap.5, p. 52-73.

PAPAGEORGES, M.; GAVIN, P.R.; SANDE, R.D.; BARBEE, D.D. Ultrasound-guided fine-needle aspiration. **Vet. Radiol.**, v.29, p.269-271, 1988.

PARTINGTON, B.P.; BILLER, D.S. Liver. In: GREEN, R.W. **Small animal ultrasound**. Philadelphia: Lippincot Raven, 1996. cap 6, p.105-130.

PENNICK, D.; BERRY, C. Liver imaging in the cat. **Semin. Vet. Med. Surg. Small Anim.**, v.12, p.10-21, 1997.

PETERSON, M. E.; KINTZER, P. P.; CAVANAGH, P. G.; FOX, P.R.; FERGUSON, D.C.; JOHNSON, G.F.; BECKER, D.V. Feline hyperthyroidism: pretreatment clinical and laboratory evaluation of 131 cases. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.183, p. 103-110, 1983.

PETERSON, M.E. Feline hyperthyroidism. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.14, p.809-826, 1984.

PETERSON, M.E.; LIVINGSTON, P.; BROWN, R.S. Lack of circulating thyroid stimulating immunoglobulins in cats with hyperthyroidism. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v.16, p.277-282, 1987.

PETERSON, M. E.; FERGUSON, D. C. Doenças Tiroideanas. In: ETTINGER, S. **J. Tratado de medicina interna veterinária**. 3 ed. São Paulo: Manole, 1992. cap. 95, p.1706-1751.

PETERSON, M.E.; MELIÁN, C.; NICHOLS, R. Measurement of serum concentrations of free thyroxine, total thyroxine, and total triiodothyronine in cats with hyperthyroidism and cats with nonthyroidal disease. **J. Am. Vet. Assoc.**, v.218, p.529-536, 2001.

RILEY, T.R. How often does ultrasound change the liver biopsy site? **Am. J. Gastroenterol.**, v.94, p.3320-3322, 1999.

ROCHA N.S. Citologia aspirativa por agulhas finas (CAAF). **Cães & Gatos**, v.75, p.14-16, 1998.

SANTILLI, R.A.; BILLER, D.S. Ultrasonography of the liver and biliary tract. **Veterinária**, v.3, p. 19-26, 1993.

SAS/GLM. Statistical analysis systems. **User's guide for Windows statistics**. Version 6.11. Cary: SAS Institute Inc. 1996.

SPIEZIA, S.; SALVIO, A.; DI OSMA, C.; SCELZI, C.; ASSANTI, A.P.; GIANNATTASIO, F.; VARRIALE, M.; VISCONTI, M. The efficacy of liver biopsy under ultrasonographic guidance on an outpatient basis. **Eur. J. Ultrasound.**, v.15, p.127-131, 2002.

TARTTELINI, M.F.; JOHNSON, L.A.; COOKE, R.R.; FORD, H.C.; FEEK, C.M. Serum free thyroxine levels respond inversely to changes in levels of dietary iodine in the domestic cat. **N. Z. Vet. J.**, v.40, p.66-8, 1992.

TCHELEPI, H.; RALLS, P.W.; RADIN, R.; GRANT, E. Sonography of diffuse liver disease. **J. Ultrasound Med.**, v.21, p.1023-1032, 2002.

TENNANT, B.C. Hepatic function. In: KENECO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. Boston: Academic Press, 1997. chap.13, p.327-58.

THODAY, L.K.; MOONEY, C.T. Historical clinical and laboratory features of 126 hyperthyroid cats. **Vet. Rec.**, v.131, p.257-264, 1992.

TYLER, R.D.; COWELL, R.L.; BALDWIN, C.J.; NORTON, R.J. Introduction. In: COWELL, R.L.; TYLER, R.D. **Diagnostic cytology of the dog and cat**. 2 ed. Goleta: American Veterinary Publications, 1993. cap.1, p.1-19.

VÖRÖS, K., ALBERT, M., VETÉSI, F., HARMAT, G., BINDER, K. SZANISLÓ, F.
Hepatic ultrasonographic findings in experimental carbon tetrachloride
intoxication of the dog. **Acta Vet. Hung.**, v.45, p.137-150, 1997.

YAGER, A. E.; MOHAMMED, H. Accuracy of ultrasonography in the detection of
severe hepatic lipidosis in cats. **Am. J. Vet. Res.**, v.53, p.597-599, 1992.

WEISS, D.J.; MORITZ, A.M. Liver cytology. **Vet Clin. Small Anim.**, v.32,
p.1267-1291, 2002.

WILLARD, M.D.; WEEKS, B.R.; JOHNSON, M. Fine-needle aspirate cytology
suggesting hepatic lipidosis in four cats with infiltrative hepatic disease. **Feline
Pract.**, v. 4,p. 215-220, 1999.

ANEXOS

ANEXO 2

**EXAME CITOLÓGICO HEPÁTICO – TIROTOXICOSE
EXPERIMENTAL EM GATOS**

Animal:**Momento:**

Material: representativo
 não representativo

Infiltrado

Inflamatório: ausente
 linfócitos
 PMN
 céls. Kupffer
 necrose

Celularidade: discreta
 moderada
 acentuada

Nucléolo: único macro
 único micro
 múltiplos macro
 múltiplos micro

Anisocariose: discreta
 modearda
 severa

Hepatócitos: solitários
 em grupos
 mononuclear
 binuclear
 degeneração hidrópica
 esteatose
 colestase
 picnose

Fibrovascular: presente
 ausente

+ discreto; ++ moderado; +++ severo

ANEXO 3

**EXAME HISTOLÓGICO HEPÁTICO – TIROTOXICOSE
EXPERIMENTAL EM GATOS**

Animal:

Momento:

Material:	<input type="checkbox"/> representativo <input type="checkbox"/> não representativo	Infiltrado	
Celularidade:	<input type="checkbox"/> discreta <input type="checkbox"/> moderada <input type="checkbox"/> acentuada	Inflamatório:	<input type="checkbox"/> ausente <input type="checkbox"/> linfócitos <input type="checkbox"/> PMN <input type="checkbox"/> céls. Kupffer <input type="checkbox"/> necrose
Nucléolo:	<input type="checkbox"/> único macro <input type="checkbox"/> único micro <input type="checkbox"/> múltiplos macro <input type="checkbox"/> múltiplos micro	Anisocariose:	<input type="checkbox"/> discreta <input type="checkbox"/> modearda <input type="checkbox"/> severa
Hepatócitos:	<input type="checkbox"/> mononuclear <input type="checkbox"/> binuclear <input type="checkbox"/> degeneração hidrópica <input type="checkbox"/> esteatose <input type="checkbox"/> colestase <input type="checkbox"/> picnose	Fibrovascular:	<input type="checkbox"/> presente <input type="checkbox"/> ausente

+ discreto; ++ moderado; +++ severo