

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

**“PERFIS HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO, LIPÍDICO
E LIPOPROTÉICO DE CÃES (*Canis familiaris*)
COM DOENÇA HEPÁTICA”**

EUNICE AKEMI KITAMURA

**Botucatu - SP
2008**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

**“PERFIS HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO, LIPÍDICO
E LIPOPROTÉICO DE CÃES (*Canis familiaris*)
COM DOENÇA HEPÁTICA”**

EUNICE AKEMI KITAMURA

Tese apresentada junto ao Programa
de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária para obtenção do título de
Doutor.

Orientadora: Profa. Ass. Dra. Regina
Kiomi Takahira

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Kitamura, Eunice Akemi.

Perfis hematológico, hepático, lipídico e lipoprotéico de cães (*Canis familiaris*) com doença hepática / Eunice Akemi Kitamura. - Botucatu [s.n.], 2008.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2008.

Orientadora: Regina Kiomi Takahira

Assunto CAPES: 50503030

1. Cão - Doenças 2. Patologia clínica veterinária

CDD 636.7089607

Palavras-chave: cão; doença hepática; hematologia; lipídeos; lipoproteínas

Nome da Autora: EUNICE AKEMI KITAMURA

Título: “PERFIS HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO, LIPÍDICO E LIPOPROTÉICO DE CÃES (*Canis familiaris*) COM DOENÇA HEPÁTICA”

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Ass. Dra. Regina Kiomi Takahira

Presidente e Orientadora

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ - UNESP - Botucatu

Profa. Ass. Dra. Michiko Sakate

Membro

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ - UNESP - Botucatu

Prof. Adj. Raimundo Souza Lopes

Membro

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ - UNESP - Botucatu

Profa. Dra. Mara Regina Stipp Balarin

Membro

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva

UEL - Londrina

Prof. Dr. Nayro Xavier de Alencar

Membro

Departamento de Patologia e Clínica Veterinária

UFF - Niterói

Data da defesa: Botucatu, 14 de outubro de 2008.

Dedico este trabalho a toda minha família, especialmente:

Aos meus pais: Julio e Margarida, obrigada pelo constante apoio, compreensão, amor e principalmente pela educação e ensinamentos.

Aos meus irmãos: Rodrigo, Ricardo e Eduardo, jovens que eu admiro muito e meus eternos companheiros. Obrigada pela agradável amizade e força. E que Deus continue iluminando os nossos caminhos.

Ao meu avô: Kuranoske, pela sua longa história, experiência de vida e serenidade.

A minha tia e madrinha: Helena, pelo incentivo, principalmente profissional.

Agradecimentos

À minha orientadora Profa. Ass. Dra. Regina Kiomi Takahira, meus sinceros e especiais agradecimentos, obrigada pelas orientações, dedicação, atenção e momentos de descontração. Com certeza durante todos estes anos de convivência e de trabalho, evoluí profissionalmente, pois a minha vivência científica foi promissora.

À Profa. Ass. Dra. Michiko Sakate que me acompanha desde a residência, co-orientadora do mestrado, agradeço as oportunidades de aprimoramento na docência, a adorável convivência em viagens das disciplinas da pós-graduação e congresso, tudo contribuiu para a minha evolução profissional e uma forte amizade.

Ao Prof. Adj. Raimundo Souza Lopes, pela adorável convivência, conversas e ensinamentos na rotina do serviço de laboratório clínico veterinário, agradeço também as sugestões aos projetos e a pronta disposição para compor as inúmeras bancas.

À Profa. Adj. Maria Denise Lopes, pela atenção, simpatia, e principalmente pelas dicas referentes aos projetos.

Ao Prof. Ass. Dr. Luciano Barbosa pela análise estatística e atenção dispensada.

À Profa. Titular Agueми Kohayagawa, pela agradável convivência, incentivo profissional e amizade.

Ao Prof. Ass. Dr. Flávio Quaresma Moutinho, meu eterno orientador de estágio e residência, agradeço pela receptividade, apoio e os momentos de descontração durante a rotina e os plantões do serviço de clínica médica de pequenos animais.

Aos docentes que me acompanharam e ensinaram durante a residência: Profa. Titular Helena Ferreira e Profa. Ass. Dra. Sônia Regina Verde Silva Franco, um forte abraço.

A todos os cães utilizados neste trabalho e aos seus proprietários pela compreensão e colaboração.

A todos os residentes do laboratório clínico veterinário: especialmente a Danielle Passarelli, pelo auxílio na realização do experimento, as explicações e a amizade. Agradeço também a Lia, Eduardo, Livia e a residente Keila das enfermidades parasitárias.

Aos residentes dos serviços de clínica médica de pequenos animais, moléstias infecciosas e cirurgia de pequenos animais, pela colaboração durante a fase experimental.

Aos companheiros de sala e de pós-graduação: Hugo e Luís Fernando (Tenesmo), pelo auxílio na coleta de material durante a fase experimental e os momentos de descontração.

As amigadas já existentes e que nasceram durante o período de pós-graduação: André, Flávia Quaresma, Aldo, Vanessa Foloni, Paula, Priscila, Karina Aptekmann, Anaiara, Daniel, Thiago Batista, Fabíola, Telma, Daniela (Delete), Annelise, Cristiane, Yudney, Satie, Cláudio, Mere, Luciana, Veridiana, Sandra, Edna, Letícia, Flávio, Karina Santos, Jayme, Adriane, Camilo, Fred, Rita, Geórgia e outros.

Aos funcionários: do laboratório clínico veterinário (Ilson, Mattiazzi, Solange); da patologia clínica da medicina - FM: Dra. Adriana, Fátima, Salete e Rita; do canil (Luiz); das enfermidades parasitárias (Sônia); da pós-graduação (Denise, Maria e José Roberto); da biblioteca central - UNESP (Marlene, Márcia, Bráz, Zuza, Niva e Meire); do laboratório de toxicologia veterinária (Cristininha), secretaria do depto. de clínica veterinária (Marlene).

À UNESP - FMVZ pelo apoio financeiro.

À Roche Diagnostica Brasil Ltda, pelo empréstimo do aparelho Accutrend GCT® e doação das tiras testes de colesterol e triglicerídeos.

À Análise Laboratórios, pela doação do Kit de eletroforese de lipoproteínas (Hydragel 7 LIPO + Lp(a)) Sebia®.

À Universidade Estadual do Centro-Oeste - UNICENTRO.

Muito obrigada!!!!

*“Não se pode ensinar coisa
alguma a alguém, pode-se
apenas auxiliá-lo a descobrir
por si mesmo”*
Galileu Galilei

*“O conhecimento está sempre incorporado a uma pessoa, é
transportado por uma pessoa, é criado, ampliado ou
aperfeiçoado por uma pessoa, é aplicado, ensinado e transmitido
por uma pessoa e é usado, bem ou mal, por uma pessoa ”*

Peter Druker

*“O especialista é um homem que
sabe cada vez mais sobre cada vez
menos e, por fim, acaba sabendo
tudo sobre nada”*

George Bernard Shaw

Sumário

	Página
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1 Doença hepática e manifestações clínicas.....	14
2.2 Doença hepática e hematologia.....	17
2.3 Doença hepática e perfil hepático.....	19
2.4 Doença hepática e perfil lipídico e lipoprotéico.....	27
3 OBJETIVOS.....	40
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
4.1 Delineamento experimental.....	41
4.1.1 Local.....	41
4.1.2 Animais.....	41
4.1.3 Grupos.....	41
4.1.4 Momento.....	42
4.1.5 Valores de referência.....	42
4.2 Colheita de sangue total.....	43
4.3 Exames laboratoriais.....	44
4.3.1 Hemograma e contagem de plaquetas.....	44
4.3.2 Proteína plasmática total.....	44
4.3.3 Bioquímica sérica.....	45
4.3.3.1 ALT, AST, FA e GGT.....	45
4.3.3.2 Proteína total (sérica), albumina e globulinas.....	45
4.3.3.3 Colesterol total, triglicerídeos, HDL-colesterol, VLDL-colesterol e LDL-colesterol.....	45
4.3.4 Química seca com sangue total fresco.....	46
4.3.5 Eletroforese de lipoproteínas	46
4.4 Análise estatística.....	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1 Hematologia.....	49

5.1.1	Eritrograma, contagem de plaquetas e proteína plasmática total	49
5.1.2	Leucograma.....	56
5.2	Perfil hepático.....	62
5.3	Perfil lipídico.....	69
5.3.1	Bioquímica sérica.....	69
5.3.2	Química seca com sangue total fresco.....	70
5.3.3	Comparação entre as técnicas de bioquímica sérica e química seca com sangue total fresco.....	71
5.4	Perfil lipoprotéico.....	76
5.4.1	Bioquímica sérica.....	76
5.4.2	Eletroforese de lipoproteínas.....	77
5.4.3	Comparação entre as técnicas de bioquímica sérica e eletroforese de lipoproteínas.....	79
6	CONCLUSÕES.....	86
7	REFERÊNCIAS.....	88
8	ANEXOS.....	98
9	TRABALHO CIENTÍFICO.....	112

KITAMURA, E. A. **Perfis hematológico, hepático, lipídico e lipoprotéico de cães (*Canis familiaris*) com doença hepática**. Botucatu, 2008. 128p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária - Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Resumo

A doença hepática é frequentemente incluída como diagnóstico diferencial dos casos atendidos na clínica médica de pequenos animais. Os cães com suspeita de doença hepática podem apresentar sinais clínicos específicos e/ou inespecíficos e possuir característica de doença aguda ou crônica. Os exames laboratoriais auxiliam na identificação de lesão dos hepatócitos, colestase ou perda da função hepática, o perfil hepático pode ser avaliado por meio de diversos testes, inclusive avaliando o metabolismo de lipídeos e lipoproteínas, pois uma das funções do fígado é o metabolismo de lipídeos. O presente trabalho teve por objetivo avaliar os perfis hematológico, hepático, lipídico e lipoprotéico de cães com doença hepática e também comparar diferentes técnicas de análise. Foram utilizados 34 cães, adultos, machos e fêmeas, divididos em dois grupos, sendo: Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia), e submetidos a jejum alimentar superior a 12 horas para a realização dos exames do perfil lipídico e lipoprotéico. Na avaliação hematológica do Grupo II (hepatopatia) observou-se anemia e discreta trombocitopenia e neutrofilia; o perfil hepático demonstrou presença de lesão ativa em hepatócitos, associado a colestase e ausência de insuficiência hepática; o perfil lipídico revelou colesterol sérico normal e aumento do valor de triglicerídeos e no perfil lipoprotéico observou-se diminuição de HDL e aumento de Lp(a), VLDL e LDL. A avaliação do perfil lipoprotéico é mais sensível, que o perfil lipídico na detecção de alterações no metabolismo de lipídeos e também é mais precoce que a albumina na detecção da disfunção hepática em cães. Para a química seca com sangue total fresco, existe a necessidade de valores de referência específicos, e não possui a sensibilidade adequada na mensuração do nível sérico de triglicerídeos. A eletroforese de lipoproteínas em gel de agarose é mais sensível que a bioquímica sérica.

Palavras-chave: cão; doença hepática; hematologia; lipídeos; lipoproteínas.

KITAMURA, E. A. **Hematologic, hepatic, lipids and lipoproteins profiles in dogs (*Canis familiaris*) with liver disease**. Botucatu, 2008. 128p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária - Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Abstract

Liver disease is frequently included as a differential diagnosis of clinical cases attended at small animals clinics. Dogs presenting a suspected case of liver disease can show specific and/or unspecific clinical signs and reveal characteristics of acute or chronic disease. The laboratory profile is useful in the identification of hepatocellular lesions, colestasis or loss of the hepatic function; the hepatic profile can be composed by several tests, including the evaluation of the metabolism of lipids and lipoproteins, since one of the liver functions is the metabolism of lipids. The objective of the present work was to evaluate the lipids and lipoproteins profile of dogs with liver disease and also to compare different techniques of analysis. Thirty-four adult dogs, males and females were divided in two groups: Group I (control) and Group II (liver disease), and were submitted to a 12 hours fasting period previously to the lipid and lipoprotein profiles. In the Group II (liver disease) hematological evaluation revealed anemia, mild thrombocytopenia and neutrophilia; the hepatic profile demonstrated lesion in hepatocytes, associated with colestasis and absence of hepatic insufficiency; the profile lipid revealed cholesterol normal and increase of the triglycerides value and in the profile lipoprotein, it was observed decrease of HDL and increase of Lp(a), VLDL and LDL. The evaluation of the lipoprotein profile is more sensitive, that the lipid profile in the detection of alterations in the lipids metabolism and it is also more precocious than the albumin in the detection of the hepatic dysfunction in dogs. For the chemistry dry with fresh total blood, the need of specific reference values exists, and it doesn't possess the appropriate sensibility in the measurable of the level serum triglycerides. The lipoproteins electrophoresis in agarose gel is more sensitive than the serum biochemistry.

Key words: dog; liver disease; hematology; lipids; lipoproteins

1 Introdução

O papel homeostático desempenhado pelo fígado é fundamental no equilíbrio de numerosos processos biológicos. Estima-se que o fígado realize pelo menos 1.500 funções bioquímicas essenciais para a sobrevivência do organismo. As principais funções hepatobiliares ocorrem em vários processos metabólicos como de carboidratos, lipídeos, proteínas, vitaminas e hormônios, e em diversas funções como as imunológicas, de armazenamento, hematológicas, digestivas, desintoxicação e excretórias (CENTER, 1997; TSUCHIYA et al., 2001). A função hepática mais importante é a produção de bile (DYCE et al., 2004).

Na doença hepática, o cão pode apresentar sinais clínicos de doença do trato gastrointestinal superior e os sinais também podem ser tipicamente associados com a hepatopatia (específicos) como a icterícia, ascite, encefalopatia hepática e sangramento excessivo, ou sinais inespecíficos como perda de peso, anorexia e depressão (JOHNSON, 1992).

Os sinais e sintomas de lesão hepática não são suficientemente específicos para assegurar, por si mesmo, o diagnóstico de doença hepática. Testes laboratoriais podem ser utilizados para confirmar a existência de lesão hepática e/ou avaliar funcionalmente os hepatócitos, a drenagem biliar e o sistema retículo endotelial (BORGES, 2002).

Avaliar um paciente com suspeita de doença hepatobiliar primária raramente é um processo simples porque não existe disponível atualmente um único teste diagnóstico que possua sensibilidade e especificidade perfeitas (HESS & BUNCH, 2000). Desta forma torna-se necessário, ao tentar avaliar a função hepato-celular, utilizar um conjunto abrangente de testes laboratoriais (COLICHON et al., 2001).

As alterações hematológicas associadas à doença hepática incluem a ocorrência de anemia, morfologia anormal dos eritrócitos, redução numérica ou funcional das plaquetas e detecção de plasma icterico ou lipêmico (CENTER, 1997).

Nos testes de bioquímica sérica, as aminotransferases, também chamadas de transaminases, são indicadores que refletem a lesão hepato-

celular e dentre os testes de perfil hepático, são os mais solicitados, sendo a ALT (alanina aminotransferase) e AST (aspartato aminotransferase) as mais frequentemente mensuradas (PEREIRA et al., 2004).

O aumento sérico da atividade da FA (fosfatase alcalina) foi descrito em várias doenças em cães associadas com a colestase. A GGT (gama glutamiltransferase) é considerada um marcador sérico, principalmente nas doenças do sistema hepatobiliar associadas com colestase, e a sua utilização é comum para o diagnóstico de doenças hepáticas (TENNANT, 1997).

A concentração sérica das proteínas totais é influenciada pelas hepatopatias por diversos modos. A deficiência da síntese pode estar associada à redução da capacidade hepática de síntese da albumina, fibrinogênio, proteínas da coagulação e globulinas, demonstrando a perda de função (CENTER, 1997).

O fígado é também muito importante na produção e metabolismo dos lipídeos e das lipoproteínas plasmáticas (FRIEDMAN et al., 1996), exercendo um papel central na regulação da síntese, da degradação e do armazenamento dos mesmos (COOPER, 1985), sendo a principal fonte das lipoproteínas plasmáticas com exceção dos quilomícrons, que são sintetizados pelo intestino (FRIEDMAN et al., 1996).

Anormalidades na concentração plasmática de lipídeos e lipoproteínas são freqüentes na doença hepática (FRIEDMAN et al., 1996). As lipoproteínas são classificadas em cinco classes principais de acordo com a densidade: quilomícrons, VLDL (*very low density lipoprotein*), IDL (*intermediate density lipoprotein*), LDL (*low density lipoprotein*) e HDL (*high density lipoprotein*) (STEIN & MYERS, 1998).

O principal responsável pela síntese do colesterol e pela sua excreção para o organismo é o fígado, e os ácidos biliares são produzidos a partir do colesterol. A doença hepática pode provocar tanto o aumento quanto a diminuição da concentração sérica de colesterol (HALL, 1985; JOHNSON, 1992).

Os exames laboratoriais ainda ocupam papel relevante não apenas para a determinação do diagnóstico, como também na avaliação da gravidade da doença hepática e do seu prognóstico, monitorização terapêutica e ainda como critério de cura ou remissão da doença (COLICHON et al., 2001).

Na literatura Médica Veterinária existe um limitado número de trabalhos científicos avaliando os perfis hematológico, hepático, lipídico e lipoprotéico em cães, e quando se trata da associação da mesma com a doença hepática, a escassez de dados epidemiológicos, clínicos, laboratoriais, terapêuticos e prognóstico torna-se mais crítica.

Apesar da semelhança no metabolismo de lipídeos e lipoproteínas entre o cão e o homem, existem particularidades inter-espécies, diante disto, a avaliação deve ser realizada de forma mais criteriosa, preferencialmente utilizando-se como referência a literatura Médica Veterinária.

A ausência de valores de referência, de exames laboratoriais como das lipoproteínas séricas (HDL, VLDL e LDL) para o cão, impede muitas vezes a solicitação da análise, devido à dificuldade de interpretação, com isso prejudica e dificulta a conduta clínica, terapêutica e o estabelecimento do prognóstico.

É importante que outros testes e/ou métodos laboratoriais, capazes de avaliar os perfis lipídico e lipoprotéico, sejam considerados e quando indicados, incluídos na rotina hospitalar veterinária.

Alterações no metabolismo de lipídeos e lipoproteínas são responsáveis por causar seqüelas irreversíveis à saúde do cão, podendo colocar a vida do mesmo em risco.

2 Revisão da literatura

2.1 Doença hepática e manifestações clínicas

O fígado apresenta uma extraordinária pluralidade funcional, destacando-se a sua importância no controle da produção de energia. O estudo da fisiologia torna-se complexo, devido ao seu papel no metabolismo e armazenamento dos três principais grupos de compostos orgânicos (carboidratos, proteínas e lipídeos), no metabolismo de compostos essenciais, como as vitaminas, na produção de fatores de coagulação, e sua função de captar, metabolizar, excretar e desintoxicar as substâncias endógenas e exógenas circulantes, como bilirrubina, inúmeras drogas e hormônios esteróides. Possui capacidade de regeneração incomum, além de ser importante também no equilíbrio hidroeletrolítico, na defesa imunológica e como reservatório de sangue (MIES & ALFIERI JÚNIOR, 2001; FILHO, 2004; SILVA et al., 2006).

O conjunto das diferentes células do fígado, incluindo o hepatócito, forma uma unidade funcional conhecida como ácino hepático, que mantém o equilíbrio, sendo responsável pela homeostase do fígado (CENTER, 1997; COLICHON et al., 2001). Quando esta unidade é agredida, por exemplo, por ação de toxinas, bactérias ou vírus, ativa-se um sistema de auto-regulação compensatória. É a saturação deste sistema que provoca lesão e/ou finalmente morte celular. Outras vezes, o próprio sistema imunológico se encarrega de, ativamente, eliminar as células “doentes” ou infectadas, provocando alterações bioquímicas ou clínicas, frequentemente sem caracterizar falência hepática. Como a reserva do fígado é muito grande, devido principalmente ao acentuado processo de regeneração celular, é necessário que o número de células lesadas ultrapasse limites muito amplos para que se caracterize um quadro de disfunção hepática, por falta de reserva funcional (COLICHON et al., 2001).

Doença hepática é qualquer distúrbio que provoque lesão de hepatócitos, colestase ou ambas, como a que ocorre na presença de hipóxia, doenças metabólicas, intoxicação, inflamação, neoplasia, traumatismo

mecânico e obstrução de ducto biliar extra ou intra-hepática. Geralmente a insuficiência hepática resulta de algum tipo de doença hepática; sendo identificada pela incapacidade de remover do sangue as substâncias comumente excretadas pelo fígado e pela menor produção de substâncias muitas vezes produzidas pelo fígado. No entanto, a doença hepática nem sempre provoca insuficiência hepática (THRALL et al., 2007).

Os sinais clínicos de insuficiência hepática frequentemente não se desenvolvem até que 70% a 80% ou mais da massa funcional do fígado seja perdida ou comprometida, pois o mesmo possui uma grande reserva funcional (JOHNSON, 1988; TENNANT, 1997; ROTHUIZEN, 2001; THRALL et al., 2007).

Em cães e gatos, a incidência de hepatopatia e doenças do trato biliar é cerca de 1% a 2% de todos os casos clínicos, mas essa taxa depende da raça do animal (ROTHUIZEN, 2001).

Conforme Hess & Bunch (2000), a indicação de distúrbio hepatobiliar no cão normalmente surge pela história clínica e pelos achados do exame físico, contudo Rothuizen (2001) declara que a maior parte dos sinais clínicos são inespecíficos e, conseqüentemente, as hepatopatias não são diagnosticadas.

A anamnese é útil para caracterizar a evolução de uma hepatopatia como aguda ou crônica. O início recente de sinais clínicos em um animal anteriormente saudável sugere uma hepatopatia aguda. No entanto, devido a grande capacidade de reserva funcional do fígado, no caso de hepatopatia crônica oculta, os sinais clínicos podem ser vagos ou inespecíficos e não serem reconhecidos pelo proprietário até a fase final de descompensação hepática. A hepatopatia crônica pode associar-se ao início recente de sinais clínicos e pode inicialmente parecer uma doença aguda. Os sinais persistentes de perda de peso e de ascite, e os achados de hipoalbuminemia e de microhepatia na avaliação diagnóstica subsequente são mais prováveis no caso de hepatopatia crônica (JOHNSON, 1988; JOHNSON, 1992; JOHNSON & SHERDING, 1998). Nos cães, as hepatopatias crônicas são muito mais comuns do que as doenças hepáticas agudas (NELSON & COUTO, 2006). A doença hepática crônica compreende uma variedade de processos patológicos que podem afetar cães de várias idades (FUENTEALBA et al., 1997).

O diagnóstico de doença hepática é sugerido pelas informações da história clínica e exame físico, e muitas vezes pode ser confirmado pelo exame histopatológico de fragmento do tecido hepático (COLICHON et al., 2001). Johnson (1988) cita que o exame histopatológico também é útil na diferenciação entre doença hepática aguda e crônica. Pereira-Lima & Pereira-Lima (2002) relatam que na hepatite crônica, o exame histopatológico é importante para determinar a atividade da doença e apreciar quantitativamente a fibrose, no entanto, na hepatite aguda, de natureza viral ou prolongada, o exame histopatológico é raramente indicado.

Encontram-se sinais específicos como icterícia, encefalopatia hepática, ascite, tendências hemorrágicas, palidez de mucosas, anormalidade à palpação hepática, ulceração gastrointestinal, colúria, poliúria, polidipsia, sedação prolongada ou intolerância a drogas anestésicas ou outras, dermatose ulcerativa ou presença de crostas, sendo a presença de fezes acólicas o sinal específico mais importante na doença hepática (JOHNSON, 1992; JOHNSON & SHERDING, 1998; HESS & BUNCH, 2000).

O cão poderá apresentar somente sinais inespecíficos como êmese, diarreia, anorexia, letargia e perda de peso, dificultando o diagnóstico (JOHNSON, 1992; JOHNSON & SHERDING, 1998; HESS & BUNCH, 2000).

Os sinais clínicos da doença hepática geralmente resultam de inflamação hepatobiliar, anormalidades anatômicas (massa palpável), colestase, hipertensão portal crônica (venosa) ou insuficiência hepatocelular (HESS & BUNCH, 2000).

O exame físico relacionado com doenças hepatobiliares deve se concentrar nas membranas mucosas e na palpação abdominal. Nos casos de hepatomegalia ou ascite, indica-se um exame do sistema cardiovascular para descartar as cardiopatias (ROTHUIZEN, 2001). A ascite quando associada com doença hepática crônica, geralmente indica cirrose em cães, mas esse também pode se desenvolver secundariamente a outros fatores como a neoplasia hepática, linfoma e trauma. O exame do líquido ascítico às vezes poderá ajudar a diferenciar a causa de sua origem (ENGELKING & ANWER, 1992).

As anormalidades nas membranas mucosas podem incluir icterícia, palidez e indicação de coagulopatia (ROTHUIZEN, 2001). O sinal clínico de icterícia desenvolve-se quando o pigmento amarelo bilirrubina acumula-se no

plasma e em outros tecidos. O valor de bilirrubina plasmática elevado geralmente está presente em um ou mais dias antes da icterícia clínica estar aparente, e persiste até o retorno a normalidade da bilirrubina plasmática e a eliminação da cor amarela dos tecidos (TENNANT, 1997).

A história clínica e os achados do exame físico de um paciente com doença hepatobiliar são frequentemente vagos. Esta particularidade é real quando as lesões subjacentes não incluem a colestase e a distribuição é multifocal. Como resultado, a doença hepática é frequentemente diagnosticada com base nos testes de triagem como a avaliação hematológica, bioquímica sérica e urinálise. A avaliação diagnóstica dos distúrbios hepáticos inclui também a avaliação morfológica do fígado (CENTER, 1996).

2.2 Doença hepática e hematologia

O fígado é o principal órgão hematopoiético e de grande importância durante a vida embrionária (BORGES, 2001; ROTHUIZEN, 2001). No adulto, o fígado modula indiretamente a hematopoiese por participar da destruição de eritrócitos normais ou anormais por meio das células de Kupfer (BORGES, 2001).

A hematopoiese extramedular hepática pode ser restabelecida na idade adulta em casos de anemia (ROTHUIZEN, 2001). No adulto, as hemácias são produzidas na medula óssea, possuindo um tempo de vida limitado (REBAR et al., 2003).

Embora o fígado possa potencialmente contribuir com até 15% do total da eritropoietina circulante, sua produção não é suficiente para compensar a deficiência de produção que ocorre na doença renal crônica. O fígado é também o principal produtor da trombopoietina (BORGES, 2001).

As anormalidades laboratoriais potenciais que podem ocorrer na doença hepatobiliar são a anemia regenerativa leve a moderada, devido à perda sanguínea secundária à ulceração gastrointestinal e/ou coagulopatia, ou mais comumente uma anemia arregenerativa (normocítica normocrômica) associada à anemia da doença crônica (ZAWIE, 1988; HALL, 1985; JOHNSON, 1992; CENTER, 1996; JOHNSON & SHERDING, 1998).

Na avaliação hematológica para o diagnóstico de doença hepatobiliar, observam a anemia, anormalidade na morfologia de eritrócitos, redução do número e função das plaquetas, e detecção de icterícia ou lipemia no plasma (CENTER, 1996).

A microcitose sem hipocromia e anemia é comumente observada no desvio portossistêmico adquirido em cães, sendo menos comum na hepatopatia primária. Isto ocorre provavelmente como resultado da deficiência no transporte de ferro, mas o mecanismo da microcitose é desconhecido; no entanto, a deficiência de ferro não se encontra tipicamente presente (JOHNSON, 1992; JOHNSON & SHERDING, 1998; HESS & BUNCH, 2000; NELSON & COUTO, 2006).

Na hepatite crônica ativa idiopática canina, os achados hematológicos são variáveis e aparentemente a anemia hemolítica imunomediada tem sido associada com a mesma. A trombocitopenia, esferocitose moderada e autoaglutinação de hemácias foram também observadas (JOHNSON, 1992).

Cães com neoplasia hepática primária apresentam anemia e leucocitose. A anemia arregenerativa é mais provável; contudo, uma resposta regenerativa poderá ser observada na hemorragia excessiva causada pela ruptura do tumor. Quando neoplasias malignas hematopoiéticas ou linfóides envolvem o fígado secundariamente, células anormais ou pancitopenia moderada são detectadas no esfregaço sanguíneo, pois simultaneamente possui o envolvimento da medula óssea (JOHNSON, 1992).

Poucas alterações são observadas no leucograma de cães com doença hepatobiliar, exceto quando um agente infeccioso está presente como evento desencadeante ou quando a infecção complicou um distúrbio hepatobiliar, causando uma leucocitose por neutrofilia (HALL, 1985; CENTER, 1996; NELSON & COUTO, 2006). Zawie (1988) refere a presença de leucocitose na hepatite crônica em cães da raça Doberman.

Defeitos plaquetários quantitativos e qualitativos podem estar associados a distúrbios hepatobiliares, embora tais problemas não tenham sido bem caracterizados. A trombocitopenia pode ocorrer devido ao seqüestro, aumento da destruição plaquetária ou redução da produção medular (CENTER, 1996; CENTER, 1997). Johnson (1992) cita a trombocitopenia correlacionada com a coagulação intravascular disseminada (CID) ou seqüestro esplênico.

Zawie (1988) relata a trombocitopenia secundária ao hiperesplenismo causado pela hipertensão portal na hepatite crônica em cães da raça Doberman.

Há poucas alterações nas células sanguíneas que sugerem doença hepatobiliar. A maioria ocorre nos eritrócitos, associada à fragmentação ou alteração no tamanho da célula ou na composição da membrana (NELSON & COUTO, 2006).

A doença hepática está associada com redução dos níveis da lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), a enzima que esterifica o colesterol e media a transferência dos ácidos graxos do colesterol para lecitina. A ausência da mesma promove o aumento de colesterol livre e lecitina que acumulam na membrana eritrocitária, diminuindo a área de superfície da hemácia. O acúmulo excessivo de colesterol livre, ou seja, maior que o de fosfolípidos está associado com leptocitose e formação de acantócitos. Estas alterações tornam os eritrócitos rígidos e susceptíveis à fragmentação intravascular, mecânica e esplênica (REBAR, et al., 1981).

Apesar de alterações nos lipídeos e lipoproteínas plasmáticas serem relatadas em cães com doença hepática difusa, poucas tentativas foram realizadas correlacionando tais alterações com mudanças morfológicas em eritrócitos e a fragmentação associada (REBAR, et al., 1981).

Eritrócitos fragmentados (esquisócitos) estão frequentemente presentes na necrose hepática ou neoplasia hepática, especialmente no hemangiossarcoma. Cães com desvio portossistêmico frequentemente possuem anemia microcítica moderada com abundantes leptócitos. Especula-se que isto ocorra secundariamente a perda crônica de sangue intestinal ou deficiência na absorção e utilização de ferro. Contudo, a alteração da morfologia dos eritrócitos normalmente não é observada em muitos casos de doença hepática (HALL, 1985).

2.3 Doença hepática e perfil hepático

A doença hepática tem duas conseqüências fisiopatológicas principais: diminuição do número de hepatócitos íntegros e alteração da microcirculação hepática. Nas hepatopatias agudas, há destruição de hepatócitos, e a teoria do hepatócito intacto sugere que a capacidade metabólica hepática diminui como

resultado do menor número de hepatócitos funcionantes, e não pela diminuição da função de cada hepatócito. Nas hepatopatias crônicas, além da diminuição do número de hepatócitos, ocorre alteração da microcirculação hepática com diminuição da permeabilidade dos sinusóides (capilarização e colagenização), o que dificulta as trocas entre hepatócitos e o sangue sinusoidal. Como guardião do meio interno, o fígado é constantemente agredido pelo meio externo; e devido à inespecificidade dos sinais clínicos, os testes laboratoriais podem ser usados para confirmar a existência de disfunção hepática, avaliar funcionalmente o órgão ou determinar a etiologia da doença (BORGES, 2001).

As metas para a exploração bioquímica do paciente com doença hepática incluem o reconhecimento da lesão hepática, o diagnóstico etiológico diferencial das diferentes hepatopatias, o estabelecimento da magnitude e estágio da enfermidade e, por último, a evolução e o prognóstico da doença hepática (COLICHON et al., 2001).

No entanto a exploração funcional do fígado, por meio de exames laboratoriais, constitui assunto ainda polêmico e sujeito a constante inovação, devido ao fato do fígado ser o responsável por funções variadas e complexas, que não podem ser avaliadas por um único teste, por melhor que este seja (COLICHON et al., 2001).

Thrall et al. (2007) referem que os testes para diagnóstico de doença hepática ou de insuficiência hepática abrangem três categorias de análises que são discutidas a seguir; a primeira, é a determinação da atividade sérica de enzimas que indicam lesão dos hepatócitos; a segunda, a determinação da atividade sérica de enzimas que indicam colestase; e a terceira, a realização de testes que avaliam a função hepática ou indicam disfunção do fígado.

As aminotransferases (transaminases) são enzimas intracelulares que se encontram praticamente em todos os tecidos, sendo que a ALT está presente em elevadas concentrações no tecido hepático (COLICHON et al., 2001; PEREIRA et al., 2004). A ALT é encontrada exclusivamente no citoplasma dos hepatócitos, e a AST está presente no citoplasma dos hepatócitos e nas membranas das mitocôndrias (TENNANT, 1997; PEREIRA et al., 2004; THRALL et al., 2007).

Existe a possibilidade de aumento da atividade sérica da ALT em cães com lesão muscular grave, e sem lesão hepática aparente, assim, a

determinação da atividade sérica de uma enzima mais específica para lesão muscular como a creatina quinase (CK), é útil para verificar se a lesão muscular é a possível origem deste aumento (THRALL et al., 2007).

Kaplan (1993) refere que as aminotransferases séricas são sensíveis indicadoras de lesão dos hepatócitos. Sherlock & Dooley (1993) e Tennant (1997) relatam que são úteis na diferenciação das formas de lesão hepática (hepatocelular ou colestática); mas conforme Sherlock & Dooley (1993), não se deve esperar diferenciar uma forma de hepatite de outra. Na doença hepática grave, ambas as formas hepatocelular ou colestática frequentemente coexistem (TENNANT, 1997). Kaplan (1993) relata que sua maior utilidade é no reconhecimento de doenças hepatocelulares agudas como as hepatites.

A duração da elevação da atividade sérica destas enzimas de origem hepática depende de uma variedade de fatores, incluindo o tamanho da molécula, localização intracelular, a taxa de depuração do plasma, taxa de inativação da enzima, e em alguns casos como da FA e GGT, a taxa de produção hepática aumentada (TENNANT, 1997).

A mais importante enzima sérica mensurada rotineiramente e que reflete a integridade do compartimento funcional dos hepatócitos é a ALT. Quando o hepatócito sofre um dano, aumenta a atividade de ALT em quase 90% dos cães com hepatopatia e conseqüentemente, constitui um bom parâmetro para uso em uma triagem quanto à presença de hepatopatia (CENTER, 1996; ROTHUIZEN, 2001). Em pequenos animais, foi demonstrado um aumento da ALT de cerca de quatro a oito vezes o aumento da AST (TENNANT, 1997).

Várias doenças hepáticas podem provocar aumento da ALT ou também qualquer enfermidade que cause lesão de hepatócitos, tanto lesão de membrana até necrose, pode determinar esse aumento (THRALL et al., 2007). Hipóxia, alterações metabólicas que ocasionam acúmulo de lipídeos nos hepatócitos, toxinas bacterianas, inflamação, neoplasia hepática, vários medicamentos e substâncias químicas tóxicas podem causar lesão de hepatócitos e conseqüentemente extravasamento de ALT (STOCKHAM & SCOTT, 2002; THRALL et al., 2007).

Em lesão aguda, é provável que a atividade sérica de ALT seja proporcional à quantidade de células lesadas; porém, a magnitude da atividade de ALT não indica a causa ou o tipo da lesão de hepatócitos (lesão subletal ou

necrose). A atividade sérica de ALT aumenta aproximadamente 12 horas após a lesão hepática e atinge o valor máximo cerca de um a dois dias depois de uma lesão aguda. A atividade sérica de ALT também pode aumentar durante a fase de recuperação da lesão hepática, quando há regeneração ativa de hepatócitos. Cães podem possuir importante doença hepática, mas com atividade sérica de ALT normal ou ligeiramente elevada. Em alguns casos de hepatopatia grave, a massa hepática encontra-se intensamente diminuída e a quantidade de hepatócitos remanescentes pode ser suficiente para acarretar um aumento evidente da atividade sérica, mesmo quando as células remanescentes estiverem lesadas e houver extravasamento de ALT (PINCUS & SCHAFFNER, 1999; THRALL et al., 2007).

Na doença hepática crônica, o grau de lesão ativa de hepatócitos pode ser discreto; neste caso, os hepatócitos remanescentes não extravasam grande quantidade de ALT (PINCUS & SCHAFFNER, 1999; THRALL et al., 2007). Em cães, a meia-vida da ALT não está bem definida; estimativas indicam variação de algumas a 60 horas (THRALL et al., 2007), duas a quatro horas (ENGELKING & ANWER, 1992) e relatam-se também de dois a três dias (STOCKHAM & SCOTT, 2002).

A AST não é hepatoespecífica. Nos cães, ela se encontra presente principalmente nas musculaturas cardíaca e esquelética e em outros tecidos, e em menor quantidade no fígado. A AST localiza-se nas mitocôndrias e citoplasma, conseqüentemente, só é liberada após a morte celular dos hepatócitos. A AST encontra-se aumentada em 74% dos cães com hepatopatias e, conseqüentemente, é menos sensível e específica que a ALT (ROTHUIZEN, 2001).

Em todas as espécies domésticas, a atividade da AST é alta no fígado (hepatócitos) e, uma lesão hepática aguda ou crônica, aumenta a sua atividade sérica. A atividade da AST também é alta no rim, pâncreas, e eritrócitos e, quando as células destes tecidos são lesionados, pode se esperar um aumento na atividade sérica da AST. Este não é um método simples e específico para determinar a origem do aumento sérico da atividade de AST, e testes adicionais são requeridos. Duas isoenzimas da AST estão presentes no fígado; uma na mitocôndria e a outra no citoplasma. A AST em todas as espécies domésticas poderá estar aumentada na doença do músculo esquelético,

incluindo o trauma. Para diferenciar se a elevação de AST é decorrente de doença hepática ou doença muscular (esqueléticas ou cardíacas), é possível mensurar a CK sérica para o diagnóstico de miopatia. Portanto, a AST não é uma enzima hepato-específica. O aumento da atividade sérica de AST pode ser causado por necrose e lesão subletal de hepatócitos e de células musculares (TENNANT, 1997; THRALL et al., 2007).

Em cães, a atividade sérica de ALT, as vezes, é usada como único parâmetro para o diagnóstico de lesão de hepatócitos, pois a ALT é mais hepato-específica do que a AST. O aumento da atividade sérica da AST em cães decorre das mesmas doenças hepáticas que causam a elevação da atividade da ALT, mas geralmente o aumento é menor do que a induzida pela ALT. Embora a AST tenha menor hepato-especificidade que a ALT, ela é mais sensível para detectar alguns tipos de lesão de hepatócitos em cães. Em doenças hepáticas crônicas graves com diminuição acentuada da massa hepática, a AST pode apresentar-se normal ou discretamente elevada. Estima-se que a meia-vida da AST em cães seja de cinco horas (THRALL et al., 2007).

O principal valor da mensuração de ALT e AST séricas encontra-se na detecção da lesão hepatocelular e na monitorização do progresso da hepatite aguda. Ambas as enzimas estão aumentadas em muitas doenças hepáticas e possuem um valor limitado no diagnóstico diferencial (TENNANT, 1997).

A ALT é a enzima mais utilizada para medir processo inflamatório ou necrótico do fígado. É uma enzima citoplasmática que se libera facilmente quando existe alguma alteração do hepatócito (COLICHON et al., 2001). A AST é uma enzima que se encontra tanto no citoplasma como nas mitocôndrias dos hepatócitos, sendo, portanto bilocular. É útil em doenças hepáticas crônicas ativas (COLICHON et al., 2001).

A isoenzima FA é encontrada em altas concentrações em muitos tecidos incluindo o fígado, osso (osteoblastos), intestinos, rins, leucócitos e placenta (ENGELKING & ANWER, 1992; TENNANT, 1997; PINCUS & SCHAFFNER, 1999; ROTHUIZEN, 2001).

A FA no fígado é predominantemente encontrada no trato biliar e, por isso, é um marcador para a disfunção biliar (PINCUS & SCHAFFNER, 1999). A sua real função fisiológica não é completamente entendida (KAPLAN, 1993; TENNANT, 1997).

A atividade sérica da FA pode estar elevada tanto na doença hepática aguda ou crônica, mas elevações marcantes são indicativas de colestase, e altíssima concentração plasmática é observada em animais com colangite, cirrose biliar ou obstrução extra-hepática do ducto biliar (ENGELKING & ANWER, 1992; TENNANT, 1997).

Uma alternativa para determinar a origem e o significado da FA sérica elevada pode ser facilitada pela mensuração de outras enzimas séricas que são mais específicas para a doença do trato biliar (TENNANT, 1997).

O aumento sérico precoce da atividade da FA foi descrita em várias doenças hepáticas em cães associadas com colestase, sendo a principal importância no reconhecimento de distúrbios colestáticos (KAPLAN, 1993; TENNANT, 1997).

A GGT é uma enzima que se liga a membrana, portanto não se apresenta prontamente elevada na lesão hepática como as transaminases (ENGELKING & ANWER, 1992).

A GGT é hepato-específica e se localiza nas membranas celulares do epitélio dos ductos biliares (ROTHUIZEN, 2001). Os eritrócitos e o músculo esquelético virtualmente não possuem GGT, porém alta concentração, ou seja, uma atividade significativa está presente no córtex renal, e em menor quantidade no epitélio biliar, pâncreas e mucosa intestinal (ENGELKING & ANWER, 1992; TENNANT, 1997).

A GGT é considerada um marcador sérico principalmente nas doenças do sistema hepatobiliar associadas com colestase e a sua utilização é comum para o diagnóstico de doenças hepáticas em animais (ENGELKING & ANWER, 1992). Nos cães a elevação da GGT indica colestase (ROTHUIZEN, 2001).

A atividade da GGT tem sido relatada como um bom indicador de colestase intra-hepática, extra-hepática ou ambas, devido o GGT originar primariamente do tecido biliar e não ter sido encontrado uma produção aumentada na doença hepatocelular (ENGELKING & ANWER, 1992).

Em determinadas espécies, a atividade sérica da GGT frequentemente está correlacionada diretamente com a atividade sérica da FA na lesão hepática colestática. Porém, a GGT não está aumentada tão notadamente quanto a FA na necrose hepática (TENNANT, 1997).

Em cães, a GGT não parece ser um indicador mais sensível de colestase que a FA (ENGELKING & ANWER, 1992). A maior utilidade da GGT é na discriminação da origem da elevação da FA, isto é, se a FA estiver elevada e houver um aumento correspondente de GGT, a origem da FA elevada deve ser do trato biliar (PINCUS & SCHAFFNER, 1999; ROTHUIZEN, 2001).

Em cães, a GGT se eleva em 80% das hepatopatias e, portanto, não é muito sensível. Durante a recuperação de uma doença hepatobiliar, a GGT plasmática permanece elevada por mais tempo que as outras enzimas (ROTHUIZEN, 2001).

O fígado é fundamental para a homeostasia das proteínas; a síntese hepática das proteínas constituintes e de exportação proporciona 20% da reciclagem das proteínas corporais totais. O fígado é o local exclusivo ou principal para a síntese da maioria das proteínas plasmáticas, isto é, 90% de todas as proteínas e 100% da albumina, sendo também o local de degradação ou regulação para muitas outras. Por isso, uma destruição extensa do tecido hepático resulta em nível sérico baixo de proteína total e albumina, que são essenciais para a avaliação da função hepática (CENTER, 1996; CENTER, 1997; TENNANT, 1997; PINCUS & SCHAFFNER, 1999).

A concentração sérica das proteínas totais é influenciada pelas hepatopatias por diversos modos. A deficiência da síntese pode estar associada à redução da capacidade de síntese da albumina, fibrinogênio, de algumas proteínas da coagulação e globulinas de transporte (CENTER, 1996; CENTER, 1997; TENNANT, 1997). A determinação das proteínas totais reflete o equilíbrio protéico geral, mas não fornece muitas informações para a avaliação diferencial dos componentes: albumina e globulinas (CENTER, 1996; CENTER, 1997).

Uma característica específica do tecido hepático é a sua capacidade de regeneração. Além disso, o fígado possui grande reserva funcional, e para abolir a função tecidual hepática, mais de 80% do fígado devem ser inicialmente destruídos até se desenvolver a insuficiência hepática (PINCUS & SCHAFFNER, 1999).

A homeostase da albumina, ou seja, a concentração da albumina plasmática é comumente utilizada como um indicador de função hepática.

Infelizmente, é um parâmetro inespecífico, porque esta concentração reflete o efeito de muitas outras variáveis incluindo, a taxa de síntese hepática, a taxa de degradação, a influência da excreção extra-corporal patológica e o volume de distribuição. Todo animal em anorexia crônica pode ter uma diminuição secundária da concentração sérica de albumina como um resultado da redução da síntese (CENTER, 1996; TENNANT, 1997; COLICHON et al., 2001). A meia-vida da albumina no cão é estimada entre oito a 10 dias (CENTER, 1996).

A albumina é quantitativamente, a mais importante das proteínas plasmáticas. Ela exerce funções de fundamental importância, tanto no transporte de diferentes substâncias orgânicas como na manutenção da pressão oncótica do plasma, cooperando para a homeostase, em termos de manutenção de líquidos no compartimento vascular (COLICHON et al., 2001).

A hipoalbuminemia associada com a doença hepática crônica, antigamente foi considerada como um fator importante na contribuição do desenvolvimento da ascite, mas este papel pode ser menor. A concentração da albumina corporal total e intravascular pode não estar muito alterada na cirrose, apesar da concentração da albumina plasmática estar diminuída (ENGELKING & ANSWER, 1992).

Em pacientes com cirrose associada a ascite, a baixa concentração sérica de albumina pode ser mais um reflexo de um aumento do volume de distribuição do que um prejuízo na síntese hepática (CENTER, 1996).

A mensuração total da concentração das globulinas sérica representa um grande número de diferentes proteínas. Embora estas proteínas possam contribuir para o aumento total da concentração das globulinas séricas, a globulina total não é uma boa mensuração da função de síntese hepática, porque muitos componentes incluindo as imunoglobulinas derivam de outras fontes (CENTER, 1996).

A hiperglobulinemia é comum em animais com distúrbios hepatobiliares. A magnitude da hiperglobulinemia pode mascarar uma hipoalbuminemia, se somente a proteína total sérica for determinada (CENTER, 1996).

Em geral, um exame sanguíneo não permite a discriminação de uma hepatopatia de outra. O mesmo espectro de alterações pode se encontrar presente em hepatopatias ou diferentes doenças do trato biliar. Os parâmetros sanguíneos são avaliados comumente quanto ao valor diagnóstico por meio de

sua tendência em aumentar nas hepatopatias (sensibilidade), o que corresponde, na verdade, a uma comparação entre animais com hepatopatias e saudáveis. No entanto, na prática, a escolha não é entre uma hepatopatia e saudáveis, mas entre uma hepatopatia e qualquer outra doença com sinais e achados físicos semelhantes (ROTHUIZEN, 2001).

Rothuizen (2001) relata que baseando na anamnese e exame físico de cães com suspeita de doenças hepatobiliares, os exames revelaram que os ácidos biliares, a FA e a ALT possuíam as melhores especificidade e sensibilidade. As combinações de ácidos biliares com a FA e ALT foram bastante eficientes na triagem quanto a doenças hepatobiliares, com pelo menos um parâmetro aumentado indicando uma doença. A adição de mais parâmetros não melhorou a especificidade ou a sensibilidade. A segunda melhor combinação foi de FA com ALT, que também é específica, mas menos sensível que uma combinação que incluía ácidos biliares.

2.4 Doença hepática e perfis lipídico e lipoprotéico

Os lipídeos possuem um papel importante em vários aspectos, atuando como hormônios ou precursores de hormônios esteróides e dos ácidos biliares, auxiliando na digestão, servindo de armazenamento e de fonte de energia metabólica, agindo como componentes funcionais e estruturais das biomembranas, e formando isolamento para permitir a condução nervosa e evitar a perda de calor (COOPER, 1985; ZERBE, 1988; SHERLOCK & DOOLEY, 1993; BRUSS, 1997; STEIN & MYERS, 1998). Apesar dos lipídeos apresentarem muitas funções, as duas mais importantes são o armazenamento de energia e a estrutura da membrana. Os triglicerídeos são, sem dúvida, os lipídeos mais importantes com respeito ao armazenamento de energia, e os fosfolipídeos e colesterol são os componentes mais importantes na membrana lipídica (BRUSS, 1997).

As principais classes de lipídeos encontradas no soro são os ácidos graxos, fosfolipídeos, colesterol livre (30 a 40%) e esterificado (60 a 70%), e triglicerídeos (ZERBE, 1988; BACHORIK et al., 1999). Essas classes podem

ser divididas em lipídeos polares e apolares. Os lipídeos apolares são os colesteril-ésteres e triglicerídeos, e os lipídeos polares são o colesterol, ácidos graxos e fosfolipídeos (ZERBE, 1988).

Dentre os diversos lipídeos envolvidos no metabolismo normal do organismo, apenas dois, o colesterol e os triglicerídeos, parecem estar associados à enfermidades, sendo rotineiramente incluídos nos perfis bioquímicos (BRUSS, 1997; FORD, 1997; BACHORIK et al., 1999; TILLEY & SMITH, 2000; ELLIOT, 2005; ELLIOT, 2006).

Os lipídios são sintetizados no fígado e transportados para os tecidos periféricos. O fígado também incorpora e cataboliza os lipídios transportados dos tecidos periféricos e regula o metabolismo das lipoproteínas no sangue por meio da biossíntese e secreção das enzimas relacionadas ao metabolismo lipídico (TSUCHIYA et al., 2001).

O fígado produz a bile, fluido aquoso alcalino constituído por vários compostos orgânicos, incluindo sais biliares, colesterol, a enzima LCAT e bilirrubina, derivados da atividade dos hepatócitos. As células dos ductos biliares adicionam água, bicarbonato de sódio e outros sais inorgânicos à bile. Os sais biliares são produzidos pelo fígado a partir do colesterol e são excretados na bile. Possui também importante papel na digestão de gorduras, agindo como detergente, juntamente com o colesterol e a lecitina, permitindo a absorção de gorduras por meio da formação de micelas. Depois de participarem da digestão e absorção de gorduras, a maior parte dos sais biliares é reabsorvida pelo íleo terminal e volta ao fígado através da veia porta para serem reutilizados. Apenas 5% dos sais biliares são perdidos nas fezes por dia. Essa porção é repostada por novos sais biliares sintetizados no fígado (ROSEN & PIMENTEL, 2006).

Uma vez que o colesterol tenha sido sintetizado no hepatócito, ele pode ser secretado no plasma como parte de lipoproteínas (principalmente em VLDL), e pode ser secretado nos canalículos biliares como parte de micelas biliares, e ser degradado em ácidos biliares ou esterificados em ácidos graxos livres de cadeia longa (BRUSS, 1997).

A excreção do colesterol se faz pela pele e algumas secreções, mas a maior parte é eliminada pela bile. Assim, qualquer obstáculo ao livre fluxo da bile para os canais biliares e intestino irá acarretar um acúmulo no fígado e

refluxo para a circulação sanguínea, quando então se verificam taxas elevadas de colesterol. Os processos capazes de perturbarem as funções do fígado levam a diminuição na síntese do colesterol e, portanto níveis sanguíneos mais baixos do colesterol e seus ésteres (GUIMARÃES, 1990).

O colesterol tem dupla origem: exógena e endógena. O colesterol exógeno provém de alimentos, sendo, na sua maior parte, eliminado nas fezes. Uma pequena porção é absorvida pelas paredes intestinais e passa para a circulação sanguínea. A maior fonte de colesterol no organismo é de origem endógena que procura manter o nível adequado às necessidades de nosso corpo. O fígado é o órgão mais importante na síntese e catabolismo do colesterol, sendo este também sintetizado no baço, rins e intestinos (ZERBE, 1988; GUIMARÃES, 1990; BRUSS, 1997). Uma vez sintetizado, o colesterol é transportado na forma de complexos, conhecidos como lipoproteínas (STEIN & MYERS, 1998).

O colesterol é um esteróide amplamente distribuído pelo organismo, podendo aumentar ou diminuir a quantidade no sangue em diversas circunstâncias. Ao colesterol, são atribuídas as funções de manter a hidrofília normal dos tecidos e intervir na proteção das hemácias evitando a hemólise, manter o equilíbrio físico-químico nos líquidos biológicos, exercer sustentação e isolamento das fibras nervosas, sendo ainda considerado precursor dos ácidos biliares, hormônios corticais e dos estrógenos (GUIMARÃES, 1990).

O aumento do nível do colesterol total sérico na colestase não ocorre devido, simplesmente, à retenção de colesterol normalmente excretado pelo fígado. O mecanismo é incerto. Quatro fatores têm sido indicados: a regurgitação do colesterol biliar para dentro da circulação; aumento da síntese hepática do colesterol; redução plasmática da atividade da LCAT; e a regurgitação da lecitina biliar, que ocasionam a troca do colesterol tecidual pré-existente para o plasma (SHERLOCK & DOOLEY, 1993).

O termo hiperlipidemia é utilizado na definição da elevação da concentração sérica de lipídeos, tanto de colesterol e/ou triglicerídeos (BARRIE et al., 1993; WATSON & BARRIE, 1993; BAUER, 1995; JEUNETTE et al., 2005). Devido ao fato destes lipídeos serem transportados principalmente por lipoproteínas, o termo hiperlipoproteinemia é também usado para descrever esse achado. No sentido exato, portanto, o termo hiperlipoproteinemia deve ser

usado somente quando testes forem executados e determinarem se existe o aumento da fração de lipoproteína (BAUER, 1995).

Hiperlipidemia nem sempre evidencia totalmente a presença de lipemia (lactescência) na amostra de soro. Embora a amostra possa parecer normal, a hiperlipidemia pode ser notada somente após a determinação dos níveis de triglicerídeos ou colesterol. Somente o alto nível sérico de colesterol, sem hipertrigliceridemia, não resulta em lactescência (BAUER, 1995).

A hiperlipidemia é causada devido ao defeito no metabolismo de uma ou mais classes de lipoproteínas, podendo ser de origem primária, isto é frequentemente hereditária ou genética, ou mais comumente pode apresentar-se secundária a doenças sistêmicas (BARRIE et al., 1993; JEUSETTE et al., 2005).

Hiperlipidemia primária é rara em cães, mas tem sido reconhecida como uma condição familiar no Schnauzer Miniatura. Mais comumente, a hiperlipidemia é observada em cães, secundária a doenças como o hipotireoidismo, pancreatite aguda, *diabetes mellitus*, hiperadrenocorticism, doença hepática, icterícia obstrutiva e síndrome nefrótica (BASS et al., 1976; BARRIE et al., 1993; DOWNS et al., 1997a).

Vários componentes da rotina do perfil bioquímico servem como indicadores insensíveis da função hepática, entre eles, a mensuração do colesterol sérico que parte é dependente da síntese hepática e da conversão dos ácidos biliares; conseqüentemente, a hipocolesterolemia pode acontecer com a diminuição da massa funcional, enquanto a colestase grave pode levar a hipercolesterolemia (HESS & BUNCH, 2000).

Hipercolesterolemia é caracterizada pelo acúmulo anormal no plasma de lipoproteínas contendo colesterol. Em cães, a hipercolesterolemia é frequentemente encontrada como uma conseqüência secundária decorrente de distúrbios primários como hipotireoidismo, distúrbios hepáticos e síndrome nefrótica (SATO et al., 2000).

Sato et al. (2000) referem hipercolesterolemia grave (1.000 a 2.000mg/dL) em vários cães da raça Shetland Sheepdogs sem manifestações clínicas evidentes.

A hiperlipidemia primária, incluindo a hipercolesterolemia, tem sido relatada em algumas raças como Beagle, Briard e Schnauzer Miniatura, e

lesões em vasos e aterosclerose foram observadas nestes cães com hipercolesterolemia grave, decorrente da ingestão de alimento rico em colesterol (SATO et al., 2000).

O tratamento com dieta baixa em gordura reduziu os níveis dos lipídios plasmáticos de cães com hiperlipidemia idiopática (DOWNS et al., 1997a). O tratamento das doenças causadoras de hiperlipidemia secundária, normalmente resulta na redução dos lipídios plasmáticos (DOWNS et al., 1997a).

Os triglicerídeos são a forma mais abundante de lipídeos nos tecidos animais servindo como importante reservatório de energia. Pode ser formados na mucosa intestinal a partir dos lipídeos ingeridos (triglicerídeos exógenos), ou podem ser sintetizados pelo fígado, a partir de precursores não lipídicos (triglicerídeos endógenos). Os triglicerídeos são transportados no sangue como quilomícrons, ou como VLDL. São armazenados no tecido adiposo, sendo prontamente hidrolisáveis em glicerol e ácidos graxos (ZERBE, 1988).

Apesar de muitas células poderem sintetizar os triglicerídeos, o fígado, tecido adiposo, glândula mamária e o intestino delgado são particularmente especializados na sua síntese. A maioria dos triglicerídeos sintetizada regularmente no fígado será incorporada e exportada como parte das VLDLs (lipoproteínas de muito baixa densidade). Porém, se a síntese de triglicerídeos exceder a capacidade hepática de exportar, os triglicerídeos irão se acumular em vesículas nos hepatócitos, provocando o fígado gorduroso (BRUSS, 1997). A regulação da síntese dos triglicerídeos não é completamente entendida e difere entre os tecidos. No intestino delgado, o substrato alimentar disponível é muito importante porque a síntese de triglicerídeos neste órgão é parte integral da absorção de triglicerídeos (BRUSS, 1997).

O catabolismo dos triglicerídeos envolve a ação das lipases, que são esterases especializadas que hidrolisam a ligação dos glicerídeos. As lipases mais importantes são: lipases pancreática, hepática, hormônio sensível do adipócito, lipoprotéica encontrada nas células endoteliais e as lipases lisossomais contidas em muitas células. A lipase hepática é sintetizada nos hepatócitos de onde migram para a superfície das células endoteliais hepáticas. A lipase hepática converte principalmente os triglicerídeos plasmáticos em VLDL e o restante é utilizado na produção de LDLs

(lipoproteínas de baixa densidade), além de converter os triglicerídeos em HDLs (lipoproteínas de alta densidade) (BRUSS, 1997; STOCKHAM & SCOTT, 2002).

A elevação transitória dos valores de triglicerídeos plasmáticos ocorre a partir da ingestão de alimento contendo gordura, sendo carregada ao intestino delgado e depois pelos quilomícrons para a circulação sanguínea; este processo é denominado hiperlipidemia pós-prandial (WATSON & BARRIE, 1993).

Hipertrigliceridemia representa o aumento sérico anormal da concentração de triglicerídeos, e é um achado clinicopatológico relativamente comum em cães (XENOULIS et al., 2007).

A hipertrigliceridemia pós-prandial é normal e transitória, e resolve-se tipicamente dentro de sete a 12 horas após a alimentação, dependendo do conteúdo de gordura no alimento. Hipertrigliceridemia persistente em jejum é sempre considerada anormal e pode ser primária (idiopática) ou secundária a outras doenças ou a administração de drogas (XENOULIS et al., 2007).

Hipertrigliceridemia secundária é a forma mais comum em cães, usualmente resulta de distúrbios endócrinos como o hipotireoidismo, *diabetes mellitus* ou hiperadrenocorticism. Outras possíveis causas secundárias de hipertrigliceridemia incluem a pancreatite, obesidade, linfoma ou administração de certas drogas (glicocorticóides). O diagnóstico presuntivo de hipertrigliceridemia idiopática (primária) se forma quando outras causas de hipertrigliceridemia secundária forem descartadas. A hipertrigliceridemia idiopática (genética ou familiar) parece estar associada com raças específicas, mais comumente Schnauzers Miniatura. Porém, outras raças, bem como os sem raça definida, também podem ser afetados. Cães com hipertrigliceridemia grave têm o risco aumentado em desenvolver a pancreatite, as convulsões ou ambos, apesar da relação entre estes distúrbios e a hipertrigliceridemia não estar bem provada (XENOULIS et al., 2007).

Dentro do metabolismo dos lipídeos, a hipertrigliceridemia é sem dúvida uma das alterações mais complexas. Devido ao fato de não conhecer qual a origem do defeito na maioria das vezes, se é na síntese hepática das VLDLs que são ricas em triglicerídeos, ou na degradação periférica das VLDLs pela lipoproteína lipase (DELGADO et al., 1985). Diante disto, é indicado realizar

testes específicos para avaliar os perfis lipídico e lipoprotéico, com o objetivo de identificar qual é o distúrbio.

O transporte de lipídeos insolúveis em água em ambiente aquoso como o sistema circulatório requer complexos específicos de lipídeos-proteínas. Ácidos graxos não-esterificados são fixados com a albumina. Os outros lipídeos (triglicerídeos, fosfolipídeos e colesterol livre e esterificado) são carregados como um complexo conhecido como lipoproteína. Estes complexos consistem em uma camada ampla de proteínas, colesterol livre e fosfolipídeos, circundando um centro hidrofóbico formado por triglicerídeos e colesterol ester em uma partícula esférica (JONES, et al., 1983; BAUER, 1995).

O metabolismo das lipoproteínas é mediado pela proteína que compõe a lipoproteína, conhecida como apolipoproteína ou apoproteína que é produzida no fígado ou células intestinais, e que possui atributos estruturais e funcionais distintos, que determina por meio de mecanismos mediados por receptor e não-receptor e também por reações de trocas enzimáticas, o adequado funcionamento no organismo animal (JONES et al., 1983; BOLTON, 1994; BAUER, 1995; COOPER & ELLSWORTH, 1996).

Os lipídeos precisam ser transportados aos tecidos e órgãos, para exercer suas funções metabólicas. Devido a natureza hidrófoba das gorduras neutras (triglicerídeos e ésteres de colesterol), o transporte de lipídeos pelo plasma não seria possível sem alguma forma de adaptação hidrófila. Os lipídeos são transportados por uma série de micelas chamadas de lipoproteínas, constituídas de uma monocamada externa de proteína (uma apolipoproteína) e lipídeos polares (fosfolipídeos e colesterol não-esterificado), bem como um cerne interno de lipídeos neutros (triglicerídeos e ésteres de colesterol). Os lipídeos neutros do cerne são principalmente “passageiros” inativos, enquanto as apolipoproteínas são basicamente responsáveis pelo posterior metabolismo e catabolismo da partícula. Embora o tamanho do cerne dependa da quantidade de esteroide neutro, a monocamada superficial, em todas as classes de lipoproteínas, é constituída por uma camada de proteína, fosfolipídeos e colesterol não-esterificado (STEIN & MYERS, 1998).

A hiperlipoproteinemia é uma alteração clínica na qual uma ou mais lipoproteínas estão elevadas. As lipoproteínas mais importantes são: VLDL, LDL e HDL. Desta forma, a quarta lipoproteína de importância, o quilomícron,

deveria estar ausente, a não ser que haja uma anormalidade específica no seu metabolismo (JONES et al., 1983; BARCELLINI & MARTINEZ, 1990; WATSON & BARRIE, 1993; BACHORIK et al., 1999; BACHORIK et al., 2001). Existem outras lipoproteínas de menor importância como a IDL, a Lp(a) [lipoproteína(a)] (BACHORIK et al., 1999; BACHORIK et al., 2001), e a LpX (lipoproteína X) que é uma lipoproteína anormal encontrada em pacientes com doença biliar obstrutiva (BEAUDEUX et al., 1994; BACHORIK et al., 1999; BACHORIK et al., 2001) ou na deficiência da enzima LCTA (BEAUDEUX et al., 1994), sendo mais rica em colesterol do que a VLDL típica e, aparentemente, é resultante de um catabolismo defeituoso da VLDL (BACHORIK et al., 1999; BACHORIK et al., 2001).

Tais lipoproteínas são identificadas com base no tamanho da partícula, densidade, composição química, características físico-químicas e de flutuação, e mobilidade eletroforética. A densidade é determinada pelo conteúdo relativo de proteínas e lipídeos (SCHAEFER & LEVY, 1985; BACHORIK et al., 1999; BACHORIK et al., 2001).

A Lp(a) é uma lipoproteína plasmática similar a LDL, mas contém uma proteína adicional, a [apo(a)] apolipoproteína(a) que se liga covalentemente a parte funcional da apolipoproteína B. A Lp(a) é heterogênea entre indivíduos, pelo menos em parte, por causa da diferença no tamanho da apo(a). A glicoproteína apo(a) é sintetizada no fígado (BEAUDEUX et al., 1994).

Correlações diretas têm sido encontradas entre a alta concentração de Lp(a) plasmática e doença cardíaca coronariana, derrame cerebral e no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas. A concentração plasmática de Lp(a) parece ser independente da idade e da dieta, e não é afetada pela maioria das drogas para diminuir o LDL. Portanto, variações nos níveis de Lp(a) são relatadas em alguns estados patológicos, especialmente nos distúrbios do fígado como a cirrose, em que a concentração sérica de Lp(a) pode estar muito reduzida (BEAUDEUX et al., 1994).

Na eletroforese em gel de agarose, a mobilidade eletroforética é a seguinte: o quilomícron permanece no ponto de aplicação ou origem, o VLDL na posição pré- β , IDL em β ou pré- β , LDL em β , HDL em α , Lp(a) em pré- β rápida, e a LpX ou β -VLDL (lipoproteína " β flutuante") na faixa de densidade da

VLDL, porém esta pode migrar com ou próxima à LDL (JONES et al., 1983; SCHAEFER & LEVY, 1985; BACHORIK et al., 1999; BACHORIK et al., 2001).

No cão, as quatro principais classes de lipoproteínas foram identificadas com base na sua densidade, conteúdo de lipídeos e apolipoproteínas e mobilidade eletroforética (BARRIE et al., 1993). Estas lipoproteínas são quilomícron, VLDL, LDL e HDL e o padrão da eletroforese de lipoproteínas plasmáticas de cães saudáveis em jejum está bem caracterizado. Tal exame indica frequentemente anormalidades no metabolismo de lipídeos, até mesmo quando a concentração sérica de triglicerídeos e colesterol estão dentro dos limites normais (WHITNEY, et al., 1987).

Os principais grupos e subgrupos de apolipoproteínas diferem em suas estruturas primária, secundária e terciária, no comportamento físico-químico, em sua função e distribuição nas várias formas de lipoproteínas, bem como em seus níveis no plasma (STEIN & MYERS, 1998).

A densidade da partícula corresponde à quantidade de proteína, isto é quanto maior a quantidade de proteína maior será a densidade. Como observado na HDL, a quantidade de proteína é aproximadamente de 50% ao passo que no quilomícron é menor que 2% (BOLTON, 1994).

As duas enzimas principais que participam do metabolismo de lipoproteínas são a LPL (lipoproteína lipase) e a LCAT e são requisitadas especificamente pelas apolipoproteínas reguladoras (BOLTON, 1994).

Dentre as duas, a LPL é a enzima mais importante, e durante os últimos cinco anos tem sido notado um aumento marcante no seu estudo evidenciado pelo número de artigos de revisão. Uma das principais razões deste interesse é a evidência crescente de que a LPL atue com um papel principal nos níveis plasmáticos de HDL, que representa um fator de risco negativo no desenvolvimento da doença coronariana cardíaca. Pesquisas estão focadas na forma como o nível da LPL se altera (QUINN et al., 1982).

A LCAT que cataliza a esterificação do colesterol no plasma é ativado somente na presença da apolipoproteína A-I, uma das principais apolipoproteínas do HDL. É também relatado que apo C-I também ativa a LCAT, acredita-se que aparentemente o funcionamento do mecanismo seja diferente da apo A-I. LCAT existe em duas formas; como α -LCAT que atua na HDL e β -LCAT no VLDL e LDL (BOLTON, 1994).

Os quilomícrons são lipoproteínas que transportam triglicerídeos e colesterol exógeno. São formados na mucosa intestinal em resposta ao consumo de gordura na dieta e com excesso da mesma, e são complexos multimoleculares que contêm triglicerídeos, colesterol, fosfolídeos e apolipoproteínas, primariamente apo B-48. Os quilomícrons entram na circulação sanguínea via ducto torácico. No plasma, estes adquirem apo C-II que transporta o quilomícron para a HDL. A apo C-II aumenta a atividade da lipoproteína lipase, uma enzima que hidroliza os triglicerídeos em quilomícrons e VLDL. Quilomícrons e VLDL competem pela lipoproteína lipase em situações em que a disponibilidade desta enzima tem o nível limitado. Quando a lipoproteína lipase chegar a saturação devido o acúmulo de VLDL, a depuração do quilomícron é prejudicado (CHAIT & BRUNZELL, 1991).

O quilomícron normalmente começa a aparecer na corrente sanguínea dentro de uma a três horas após o consumo de alimento contendo gordura. A maioria é retirada do sangue aproximadamente dentro de oito horas. A taxa de depuração depende do nível dos triglicerídeos e da taxa de depuração. No plasma obtido após o tradicional jejum de 12 a 14 horas normalmente não se detecta quilomícrons, até mesmo na presença de hipertrigliceridemia discreta a moderada (CHAIT & BRUNZELL, 1991).

Anormalidades das lipoproteínas associadas com a hiperlipidemia primária ou secundária no cão foram estudadas usando métodos qualitativos ou semi-quantitativos, isto é a eletroforese em gel de agarose. A concentração plasmática relativa de cada classe é calculada pelo escaneamento densitométrico do gel partindo de cada zona ou banda individual de lípidios ou proteínas (BARRIE et al., 1993).

A eletroforese de lipoproteínas, embora não-específica, é útil quando amostras pré e pós-tratamento estão disponíveis. É facilmente executada, mas requer acesso ao escaneamento densitométrico para a quantificação das frações de lipoproteínas (BAUER, 1995).

O fígado possui um papel central no metabolismo de lipídios como também dos carboidratos e proteínas. Os lipídios são sintetizados no fígado e transportados para os tecidos periféricos. O fígado também incorpora e cataboliza os lipídios trazidos dos tecidos periféricos e regula o metabolismo da lipoproteína no sangue por meio da biossíntese e secreção das enzimas

relacionadas ao metabolismo lipídico. Consequentemente, vários distúrbios metabólicos ocorrem em diferentes doenças do fígado e estas foram relatadas. Em tais distúrbios, altas concentrações sanguíneas de colesterol total e fosfolipídeos acompanhados por icterícia obstrutiva foram relatadas, despertando atenção para a relação deles com a variação das lipoproteínas. Depois que foi observado o aumento da LDL, a diminuição da HDL também foi relatada (TSUCHIYA et al., 2001).

O VLDL é sintetizado principalmente pelo fígado sendo secretado pelos hepatócitos dentro dos sinusóides hepáticos; a síntese intestinal também ocorre. Ácidos graxos livres são o principal substrato na produção de VLDL. A formação de VLDL é um mecanismo importante para que o fígado possa remover o excesso de ácidos graxos do plasma e mobilizar para estoque em outro local. Defeitos neste mecanismo poderão causar acúmulo de gordura no fígado (ROGERS et al., 1975).

Bolton (1994) classifica os distúrbios das lipoproteínas em três grupos: defeitos em uma apolipoproteína envolvida na síntese ou metabolismo de lipoproteínas; defeitos em um receptor celular que reconhece uma apolipoproteína; defeitos em uma enzima que afetem o metabolismo de lipoproteínas.

Desta forma, uma hiperlipoproteinemia é uma entidade clínica na qual uma ou mais lipoproteínas estão elevadas ao exame laboratorial (BARCELLINI & MARTINEZ, 1990).

Hiperlipoproteinemia frequentemente é observada na prática clínica, e não é uma manifestação de uma única doença, mas representa a expressão clínica de uma variedade de anormalidades no transporte lipídico (SHEPHERD & PACKARD, 1986).

Em cães, a hiperlipoproteinemia em jejum é frequentemente encontrada na pancreatite aguda, *diabetes mellitus*, hipotireoidismo, doença hepática, doença renal, hipopituitarismo, infecções, gota e algumas lipidoses. A hiperlipoproteinemia pode ocorrer como um distúrbio hereditário. (ROGERS et al., 1975; JONES et al., 1983).

A quantidade plasmática de LDL é baixa em cães hígidos; portanto a alta concentração de LDL nestes demonstra frequentemente sinais clínicos evidentes na hipertrigliceridemia idiopática (BAUER, 1995).

Em cães normais, os valores definitivos de referência não estão ainda bem definidos, pois vários fatores demonstram afetar os perfis lipídico e lipoprotéico; como exemplo a dieta, diferença entre cães de experimento e estimação, idade, raça, hormônios sexuais em machos e fêmeas (CRISPIN et al., 1992; DOWNS et al., 1997b).

O cão é peculiarmente resistente ao desenvolvimento da aterosclerose espontânea. Entretanto, alterações significativas no estado nutricional e fisiológico são necessárias para a produção significativa e o crescimento de deposição ateromatosa, isto é, somente após longos períodos de hipercolesterolemia grave (DOWNS et al., 1993).

O mecanismo exato pelo quais as partículas de LDL resultam na formação de placas ateroscleróticas – ou os meios pelos quais as partículas de HDL protegem contra a sua formação – não é conhecido. A forma como o LDL transporta o colesterol para a parede das artérias e como o HDL a remove, não está estabelecida (BARON, 2003).

Estudos prévios têm demonstrado que as lipoproteínas possuem valores de densidade similares no cão e homem, em jejum. A metodologia desenvolvida para o fracionamento de lipoproteínas em humanos é, portanto, aplicável à amostra de cão (DOWNS et al., 1993).

O nível de HDL-C (lipoproteína de alta densidade-colesterol) nos cães é aproximadamente três vezes superior ao de humanos, e a concentração de LDL-C (lipoproteína de baixa densidade-colesterol) é cerca de 1/3 do nível dos humanos. Estas duas frações são muito relatadas como fator de desenvolvimento da aterosclerose: HDL negativamente e LDL positivamente. Este perfil é compatível e, no entanto conhecido pela resistência espontânea ao ateroma (DOWNS et al., 1993).

No cão, o principal carreador de colesterol no plasma é o HDL, contrastando com os humanos, onde o HDL é considerado aproximadamente 1/3 ou menos do colesterol total transportado (DOWNS et al., 1993).

A maior parte do colesterol sérico está presente na fração LDL. As LDLs são os remanescentes ricos em colesterol do veículo de transporte do lipídio VLDL. Como tem uma meia-vida mais longa (três a quatro dias) que o seu precursor VLDL, a LDL predomina no sangue. É catabolizada principalmente no fígado. As VLDLs são importantes carreadores de triglicerídeos. A

degradação de VLDL é uma importante fonte de LDL. Ácidos graxos circulantes formam triglicerídeos no fígado, onde são adicionados a apolipoproteína e colesterol, para serem remetidos para o sangue como VLDL. Por conseguinte, a LDL é o exame de preferência em virtude de sua vida mais longa e do fato de que as VLDLs são extremamente difíceis de medir (FISCHBACH, 2002).

A HDL é secretada tanto pelo fígado quanto pelos intestinos como partículas em forma de disco que contêm colesterol e fosfolipídeos. Acredita-se que a HDL seja o veículo para o transporte reverso do colesterol, o processo pelo qual o colesterol excedente é removido dos tecidos periféricos e transportado de volta para o fígado para reutilização ou excreção na bile (BACHORIK et al., 1999).

Pacientes com doença hepática parenquimatosa não-colestática e disfunção hepática possuem anormalidades na estrutura e metabolismo dos lipídios plasmáticos, das apolipoproteínas e lipoproteínas. Estas anormalidades são relacionadas às apolipoproteínas e produção de lipídios e enzimas. Portanto, a diminuição plasmática dos níveis de lipídios e apolipoproteínas são positivamente correlacionadas com a gravidade da insuficiência hepática (SPÓSITO et al., 1997).

Em contraste com o humano, onde as origens metabólicas da hiperlipidemia estão bem estabelecidas, os defeitos no metabolismo lipoprotéico que causam a hiperlipidemia no cão ainda não estão bem definidos (BARRIE et al., 1993).

3 Objetivos

O presente trabalho teve como objetivos:

- Avaliar os achados laboratoriais dos perfis hematológico, hepático, lipídico e lipoprotéico de cães com doença hepática.
- Comparar diferentes técnicas laboratoriais de análise dos perfis lipídico e lipoprotéico em cães com doença hepática, por meio da bioquímica sérica, química seca com sangue total fresco e eletroforese de lipoproteínas.

4 Material e métodos

4.1 Delineamento experimental

4.1.1 Local

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório Clínico Veterinário do Departamento de Clínica Médica, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) e no Laboratório Clínico, da Faculdade de Medicina (FM) - UNESP, Campus de Botucatu.

4.1.2 Animais

O presente trabalho está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado sob o protocolo Nº 97/2007-CEEA, pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da FMVZ - UNESP - Botucatu - SP.

Foram utilizados 34 cães, adultos, machos e fêmeas, aparentemente não obesos ou com sobrepeso, sem suspeita de endocrinopatias, sem histórico de tratamento com corticosteróides, anticonvulsivantes, anestésicos, tranqüilizantes, nutrição parenteral ou enteral, soluções eletrolíticas com glicose em sua composição, sem história clínica e sinais de prenhez ou estro e foram excluídas os cães de raças predispostas a dislipidemias como o Schnauzer Miniatura.

Os cães utilizados foram provenientes dos atendimentos do Hospital Veterinário da FMVZ - UNESP - Campus de Botucatu e do canil da mesma instituição.

4.1.3 Grupos

Constituíram-se dois grupos experimentais de acordo com os valores encontrados na determinação da atividade sérica da ALT (UI/L), por meio da realização prévia da bioquímica sérica, sendo o Grupo I (controle) composto por 14 animais, aparentemente hígidos, de acordo com a anamnese, exame físico e exames laboratoriais (hemograma, contagem de plaquetas, proteína

plasmática total e ALT) e o Grupo II (hepatopatia) composto por 20 animais, caracterizado pela elevação da atividade sérica da ALT, devido a sua especificidade e caracterização de lesão ativa de hepatócitos, associada ou não a alterações na anamnese e/ou ao exame físico.

GRUPO I (controle): animais hígidos, com valor de ALT inferior a 58 UI/L, dentro dos valores de referência para a espécie (MEYER & HARVEY, 1998).

GRUPO II (hepatopatia): animais com suspeita de doença hepática e valor de ALT superior a 100 UI/L, acima do valor de referência para a espécie (MEYER & HARVEY, 1998).

4.1.4 Momento

As amostras de sangue para a realização de hemograma, contagem de plaquetas e proteínas plasmáticas totais, perfil hepático (ALT, AST, FA, GGT, proteína total sérica, albumina e globulinas), perfil lipídico (colesterol e triglicerídeos) e perfil lipoprotéico (HDL, Lp(a), VLDL e LDL) foram colhidas em um único momento. Para a realização dos perfis hepático, lipídico e lipoprotéico, os animais foram submetidos a jejum alimentar por um período superior a 12 horas.

4.1.5 Valores de referência

No presente trabalho, utilizaram-se os valores de referência para cão adulto, demonstrados nas tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Valores de referência do hemograma em cães*.

Variáveis	Intervalos
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5.5 - 8.5
Hemoglobina (g/dL)	12 - 18
Volume globular (%)	37 - 55
Volume corpuscular médio (fL)	60 - 77
Concentração de hemoglobina corpuscular média (%)	32 - 36
Leucócitos/ μL	6.000 - 17.000
Neutrófilos/ μL	3.000 - 11.500
Bastonetes/ μL	0 - 300
Linfócitos/ μL	1.000 - 4.800
Eosinófilos/ μL	100 - 1.250
Basófilos/ μL	Raros
Monócitos/ μL	150 - 1.350
Proteína plasmática total (g/dL)	6 - 8
Plaquetas/ μL	200.000 - 500.000

* JAIN, N.C. Comparative hematology of common domestic animals. In: _____. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia : Lea & Febinger, 1993. p.19-53.

Tabela 2. Valores de referência dos testes de perfil hepático em cães.

Variáveis	Intervalos
ALT (UI/L)*	15 - 58
AST (UI/L)&	23 - 66
FA (UI/L)&	20 - 156
GGT (UI/L)&	1,2 - 6,4
Proteína total (sérica) (g/dL)&	5,4 - 7,1
Albumina (g/dL)&	2,6 - 3,3
Globulinas (g/dL)&	2,7 - 4,4

* MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Appendix: reference intervals and conversion tables. In: _____. **Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis**. 2.ed. Philadelphia : W. B. Saunders, 1998. p.343-359.

& KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Appendixes. In: _____. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego : Academic Press, 1997. p.885-905.

Tabela 3. Valores de referência dos testes de perfil lipídico em cães*.

Variáveis	Intervalos
Colesterol total (mg/dL)	135 - 270
Triglicerídeos (mg/dL)	20 - 112

* KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Appendixes. In: _____. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego : Academic Press, 1997. p.885-905.

4.2 Colheita de sangue total

As amostras de sangue foram colhidas por meio de punção das veias jugulares ou cefálicas, com agulha hipodérmica e seringas plásticas descartáveis. As amostras foram acondicionadas de acordo com o exame laboratorial a ser realizado, sendo:

- Hemograma, contagem de plaquetas e proteína plasmática total: cerca de 2mL de sangue em tubo contendo EDTA a 8%¹ como anticoagulante.

- Bioquímica sérica (ALT, AST, FA, GGT, PT (sérica), albumina, globulinas, colesterol total, triglicerídeos, HDL-colesterol, VLDL-colesterol, LDL-colesterol e a eletroforese de lipoproteínas (HDL, Lp(a), VLDL, LDL): 4mL de sangue em tubo sem anticoagulante e com gel ativador da coagulação², para separação do soro por centrifugação.

- Química seca com sangue total fresco (colesterol e triglicerídeos): uma gota de sangue total fresco para cada determinação.

4.3 Exames laboratoriais

4.3.1 Hemograma e contagem de plaquetas

A contagem do número total de hemácias e leucócitos foi realizada em contador semi-automático de células³. A determinação da hemoglobina foi realizada pelo método da cianometahemoglobina⁴ e o volume globular, pelo método do microhematócrito⁵. O cálculo dos índices hematimétricos foi realizado segundo Jain (1993) e a morfologia e a contagem diferencial de leucócitos foram realizadas em 100 células em esfregaços sanguíneos corados pelo corante hematológico instantâneo⁶.

A contagem total de plaquetas foi realizada em câmara de Neubauer⁷ imediatamente após a colheita do sangue, utilizando solução de oxalato de amônio 1% (líquido de Brecher) como diluente. A contagem foi realizada em microscópio óptico⁸ em aumento de 400x e conferida em esfregaço sanguíneo.

4.3.2 Proteína plasmática total

A determinação da proteína plasmática total foi realizada conforme Jain (1986) por refratometria⁹.

¹ Vacuette® - Greiner Bio-one

² Vacutainer® - Becton Dickinson

³ Celm® - CC510 - Brasil

⁴ Celm® - HB520 - Brasil

⁵ Centrífuga MH - Celm® - Brasil

⁶ Corante Panótipo Rápido - Laborclin® Produtos para Laboratório Ltda - Brasil

⁷ Câmara de Neubauer - Loptik labor®

⁸ Microscópio Jenamed 2® - Carl Zeiss

⁹ Refratômetro Atago® - SPR-T2

4.3.3 Bioquímica sérica

Após a separação do soro por centrifugação a 3000 rpm durante oito minutos, imediatamente após a colheita do sangue total, cada amostra foi separada em três alíquotas de 1mL e estocada em tubos cônicos de polietileno, congelados imediatamente e armazenados em freezer a -80°C, até o momento do processamento das amostras. As alíquotas das amostras do soro foram descongeladas em temperatura ambiente no momento da realização dos testes e processadas imediatamente.

4.3.3.1 ALT, AST, FA e GGT

Para as determinações da ALT¹⁰ e AST¹¹, os testes foram realizados pelo método cinético - UV, e as determinações da FA¹² e GGT¹³ pelo método cinético, todas em aparelho semi-automático¹⁴.

4.3.3.2 Proteína total (sérica), albumina e globulinas

A determinação da proteína total (sérica)¹⁵ foi realizada pelo método colorimétrico-biureto, e a determinação da albumina¹⁶ foi realizada pelo método colorimétrico, ambas em aparelho semi-automático¹⁴, sendo que o valor das globulinas foi determinado por meio da subtração do valor de albumina da proteína total (sérica).

4.3.3.3 Colesterol total, triglicerídeos, HDL-colesterol, VLDL-colesterol e LDL-colesterol

As análise de colesterol total¹⁷, triglicerídeos¹⁸ e HDL-colesterol¹⁹ foram realizadas pelo método enzimático colorimétrico em química seca, em aparelho automático²⁰, e os valores de VLDL-colesterol e LDL-colesterol foram obtidos

¹⁰ Kit ALT - Laborlab® Produtos para Laboratório Ltda - Brasil

¹¹ Kit AST - Laborlab® Produtos para Laboratório Ltda - Brasil

¹² Kit FA - Katal® Biotecnológica Ind. Com. Ltda - Brasil

¹³ Kit GGT - Katal® Biotecnológica Ind. Com. Ltda - Brasil

¹⁴ Celm® SB-190 - Brasil

¹⁵ Kit Proteínas Totais - Gold Analisa® Diagnóstica Ltda - Biosystems S/A - Espanha

¹⁶ Kit Albumina - Gold Analisa® Diagnóstica Ltda - Biosystems S/A - Espanha

¹⁷ Kit CHOL - Ortho-Clinical Diagnostics (Johnson & Johnson) - Vitros® Chemistry Products - U.K.

¹⁸ Kit TRIG - Ortho-Clinical Diagnostics (Johnson & Johnson) - Vitros® Chemistry Products - U.K.

¹⁹ Kit dHDL - Ortho-Clinical Diagnostics (Johnson & Johnson) - Vitros® Chemistry Products - U.K.

²⁰ Ortho-Clinical Diagnostics (Johnson & Johnson) - System Vitros® Chemistry-950 - U.K.

por meio do resultado da Fórmula de Friedwald, após a obtenção dos valores de colesterol total (C) e triglicerídeos (TG), sendo os valores expressos em mg/dL (SCHMIDT et al., 2004; FISCHBACH, 2002).

Fórmula de Friedwald:

$$\text{VLDL} = \text{TG} \div 5$$

$$\text{LDL} = \text{C} - [\text{HDL} + \text{VLDL}]$$

Quando o valor de triglicerídeos foi superior a 400mg/dL, o LDL²¹ foi determinado diretamente, conforme Barcellini & Martinez (1990) e Fischbach (2002), pelo método enzimático colorimétrico em aparelho automático²².

4.3.4 Química seca com sangue total fresco

O colesterol total²³ e triglicerídeos²⁴ foram determinados com o auxílio do aparelho portátil semi-automático²⁵ e de tiras teste individuais e específicos para cada tipo de exame, aplicou-se uma gota de sangue total fresco sobre a referida tira teste e após alguns minutos, o resultado foi demonstrado.

4.3.5 Eletroforese de lipoproteínas

Após a separação do soro por centrifugação a 3000 rpm durante oito minutos, imediatamente após a colheita, cada amostra foi transferida e estocada em tubo cônico de polietileno, em uma alíquota de 1mL e refrigerada imediatamente em temperatura de 4 a 6°C (geladeira), até o momento do processamento das amostras, que não poderia ultrapassar três dias da coleta. O HDL, Lp(a), VLDL e LDL foram determinadas em agarose gel²⁶, em aparelho semi-automático²⁷ (Figura 1).

²¹ Kit LDL-C Select FS - DiaSys Diagnostic Systems GmbH - Biosys® - Germany

²² Cobas Mira S® - Roche - Germany

²³ Colesterol - Roche® Diagnostics GmbH - Germany

²⁴ Triglicerídeos - Roche® Diagnostics GmbH - Germany

²⁵ Accutrend® GCT - Roche Diagnostics GmbH - Germany

²⁶ Kit eletroforese de lipoproteínas - Hydragel 7 LIPO + Lp(a)® - SEBIA - France

²⁷ HYDRASYS® - SEBIA - France

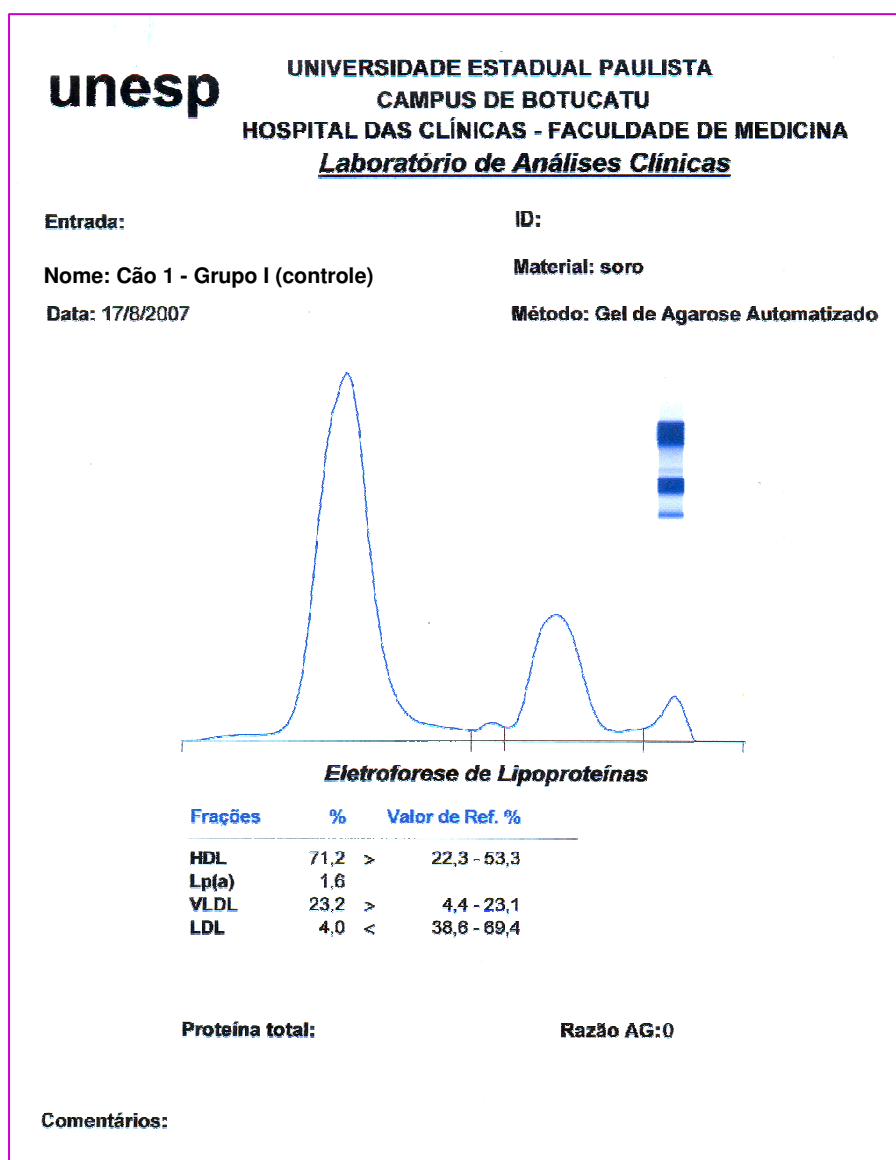


Figura 1. Eletroforese de lipoproteínas do cão 1 - Grupo I (controle).

4.4 Análise estatística

Para cada grupo, foram calculados as médias e os desvios-padrão em todas as análises realizadas.

Para cada variável quantitativa avaliada no experimento, quando a distribuição dos dados foi normal, utilizou-se o teste t de Student para comparação das médias dos dois grupos. No entanto, quando a normalidade e a homogeneidade de variância dos dados não ocorreram, adotou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney para comparação dos dois grupos (CALLEGARI-JACQUES, 2003). O mesmo procedimento foi adotado para a

comparação entre as técnicas (bioquímica sérica e química seca com sangue total fresco). O nível de significância adotado nas comparações de médias foi de 5%.

A análise descritiva foi utilizada para a comparação das técnicas de fracionamento de lipoproteínas, por meio da bioquímica sérica e eletroforese de lipoproteínas, devido à diferença de unidades em que os resultados são expressos.

5 Resultados e discussão

5.1 Hematologia

5.1.1 Eritrograma, contagem de plaquetas e proteína plasmática total

Na avaliação dos valores médios da contagem total de hemácias, concentração de hemoglobina, volume globular e metarrubríctos, observaram-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos (Tabela 4 e Figura 2, 3 e 4).

No Grupo II (hepatopatia), exceto para os metarrubríctos, as variáveis descritas anteriormente apresentaram os valores médios abaixo dos valores de referência para a espécie e também valores inferiores quando comparados ao Grupo I (controle).

Com base nos achados laboratoriais acima, observou-se que os animais do Grupo II (hepatopatia) apresentaram-se anêmicos.

No entanto, os valores médios do volume corpuscular médio, da concentração de hemoglobina corpuscular média, contagem de plaquetas e da proteína plasmática total não demonstraram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos (Tabela 4 e Figura 5, 6, 7 e 8). Ambos os grupos apresentaram os valores médios das variáveis citadas, dentro da normalidade segundo Jain (1993).

Sendo assim a anemia demonstrada pelos valores médios de VCM e CHCM no Grupo II (hepatopatia) é classificada como normocítica e normocrômica. O mesmo foi relato por Hall (1985), Zawie (1988), Johnson (1992), Center (1996), Johnson & Sherding (1998) em cães com doença hepática.

No presente trabalho, o achado laboratorial de anemia também pode estar associado à ulceração do trato gastrointestinal e/ou à coagulopatia que são comuns nos casos de doença hepática como também citam Hall (1985), Zawie (1988), Johnson (1992), Center (1996), Johnson & Sherding (1998).

Na avaliação dos valores médios de metarrubríctos, observou-se que o Grupo II (hepatopatia) apresentou o valor médio superior ($p < 0,05$) ao Grupo I (controle) em que não foram encontrados metarrubríctos. A presença de metarrubríctos no Grupo II (hepatopatia) foi observada em oito cães, correspondendo a 40% do grupo, entretanto não é possível identificar o tipo de

resposta a anemia destes animais, pois a contagem de reticulócitos não foi realizada. Diante disto, a classificação da anemia em cães com doença hepática deve ser realizada individualmente, não tendo um padrão de resposta a anemia.

Na contagem de plaquetas no Grupo II (hepatopatia), observou-se uma discreta trombocitopenia, constatada pelo valor médio inferior ao valor de referência.

Defeitos plaquetários quantitativos podem estar associados a distúrbios hepatobiliares, embora tais problemas não tenham sido bem caracterizados. A trombocitopenia pode ocorrer, devido ao seqüestro, aumento da destruição plaquetária ou redução da produção medular, de acordo com Center (1996) e Center (1997).

Zawie (1988) relata a trombocitopenia como um evento secundário ao hiperesplenismo em cães da raça Doberman portadores de hipertensão portal decorrente da hepatite crônica. Johnson (1992) cita a trombocitopenia correlacionada com a coagulação intravascular disseminada (CID) ou seqüestro esplênico.

Não foram observadas alterações na morfologia dos eritrócitos nos cães do Grupo II (hepatopatia). A observação obtida no presente trabalho difere de algumas informações encontradas na literatura em que o relato de anormalidades na morfologia dos eritrócitos (poiquilocitose) é um achado relativamente comum em animais com doença hepática, sendo a principal alteração morfológica a presença de acantócitos, conforme referem Rebar et al (1981), Sherlock & Dooley (1993) e Nelson & Couto (2006).

A ausência de alterações morfológicas dos eritrócitos no presente estudo, pode ser devido a maioria dos animais utilizados, demonstrarem doença hepática em fase aguda, associada a lesão ativa, caracterizada pela elevação da atividade sérica da ALT.

Tabela 4. Valores das médias e desvios-padrão (DP) da contagem total de hemácias/ μL , dos níveis de hemoglobina (g/dL), volume globular (%), volume corpuscular médio (fL), concentração de hemoglobina corpuscular média (%), contagem de metarrubríctos/100 leucócitos, contagem de plaquetas/ μL e proteína plasmática total (g/dL) dos grupos (n=34) e resultados da análise estatística.

GRUPOS	VARIÁVEIS							
	Hemácias/ μL	Hemoglobina (g/dL)	Volume Globular (%)	Volume Corpuscular Médio (fL)	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (%)	Metarrubríctos/100 leucócitos	Plaquetas/ μL	Proteína Plasmática Total (g/dL)
	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$
Grupo I (controle)	7.047.143 $\pm$ 730.715 (b)	16,9 $\pm$ 1,6 (b)	48 $\pm$ 4 (b)	68,47 $\pm$ 5,84 (a)	35,21 $\pm$ 1,33 (a)	0 $\pm$ 0 (b)	238.571 $\pm$ 40.876 (a)	6,8 $\pm$ 0,5 (a)
Grupo II (hepatopatia)	4.835.500 $\pm$ 1.567.430 (a)	11,5 $\pm$ 3,2 (a)	33 $\pm$ 9 (a)	70,83 $\pm$ 11,84 (a)	35,22 $\pm$ 2,88 (a)	3 $\pm$ 6 (a)	196.548 $\pm$ 103.781 (a)	7,2 $\pm$ 1,3 (a)

Letras minúsculas: comparam médias entre os grupos em cada variável.

Médias seguidas de letra minúscula diferente diferem significativamente ($p < 0,05$).

Médias seguidas de letra minúscula igual não diferem significativamente ($p > 0,05$).

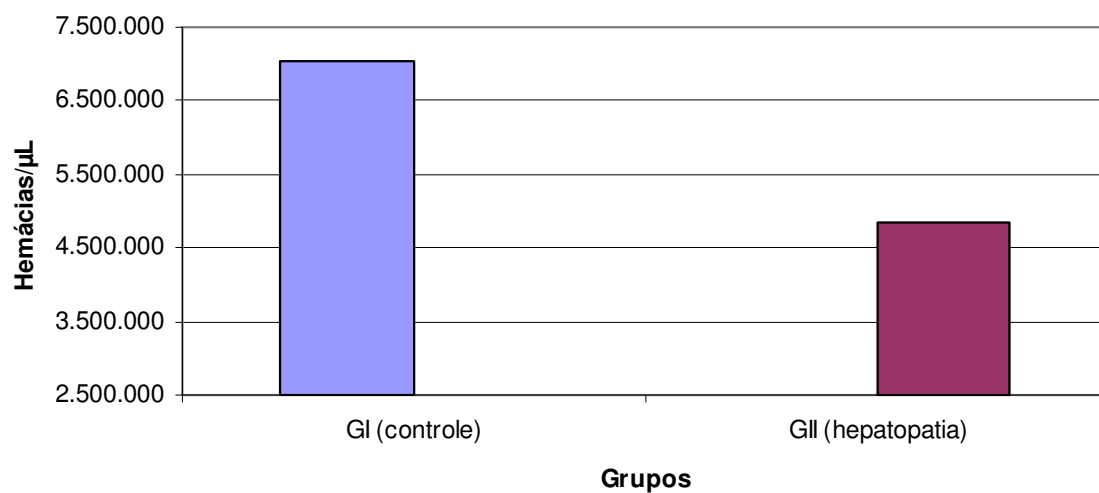


Figura 2. Médias da contagem total de hemácias/μL dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

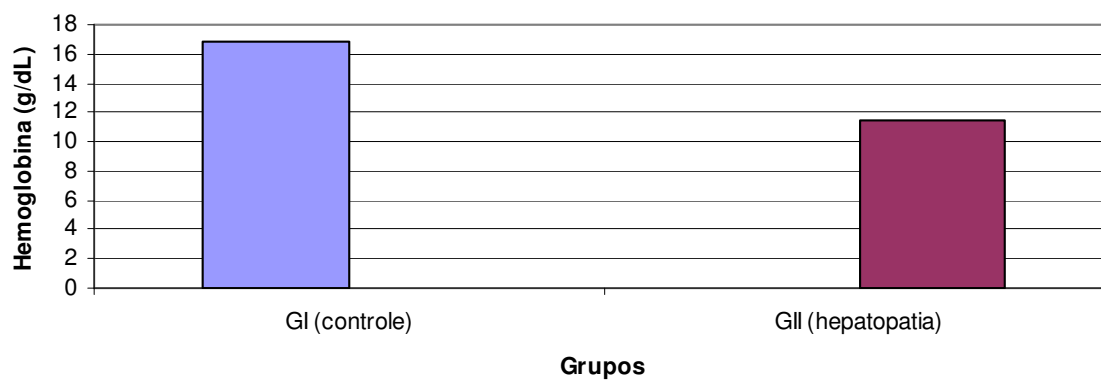


Figura 3. Médias dos níveis da concentração de hemoglobina (g/dL) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

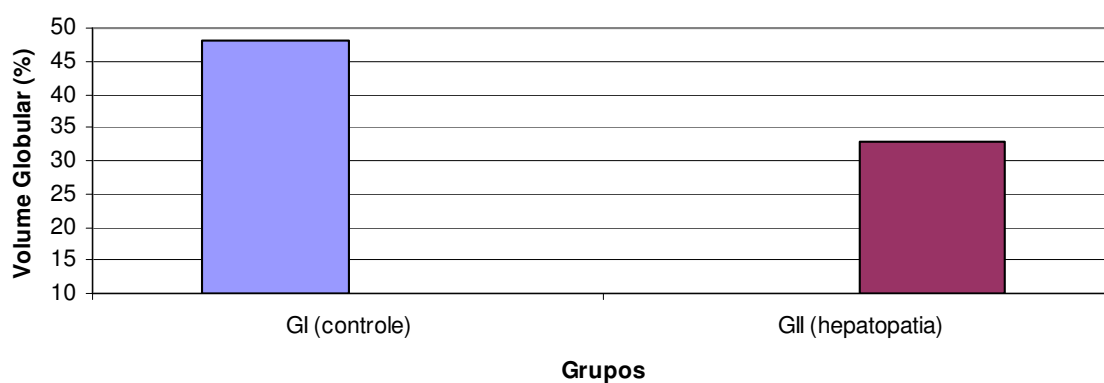


Figura 4. Médias dos níveis do volume globular (%) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

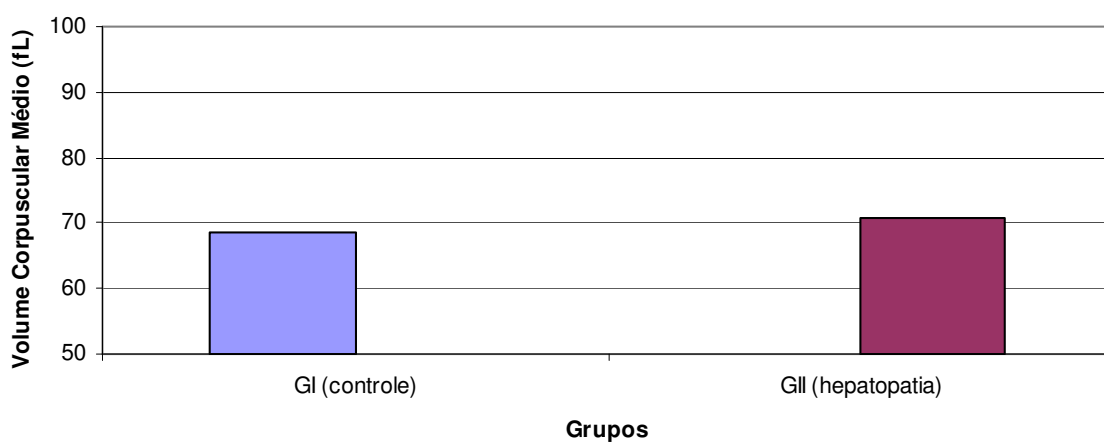


Figura 5. Médias dos níveis do volume corpuscular médio (fL) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

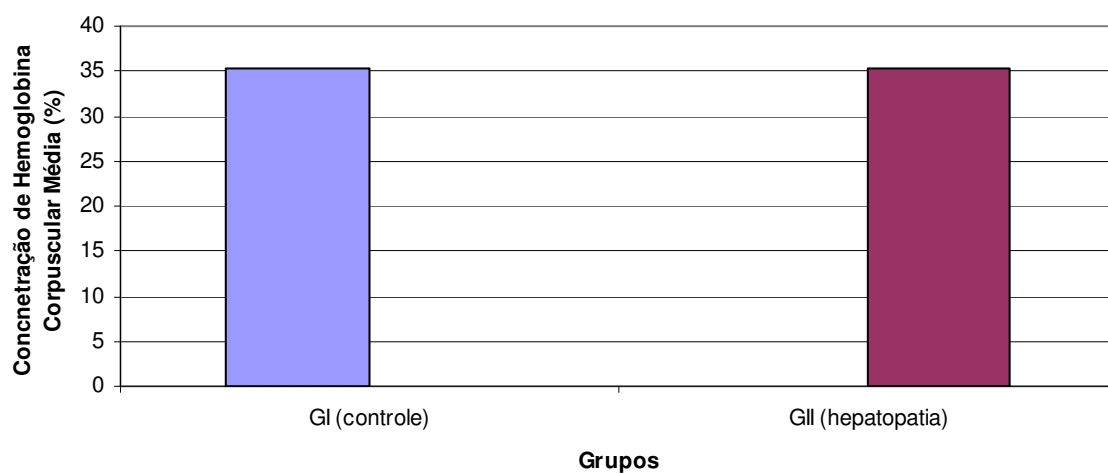


Figura 6. Médias dos níveis da concentração de hemoglobina corpuscular média (%) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

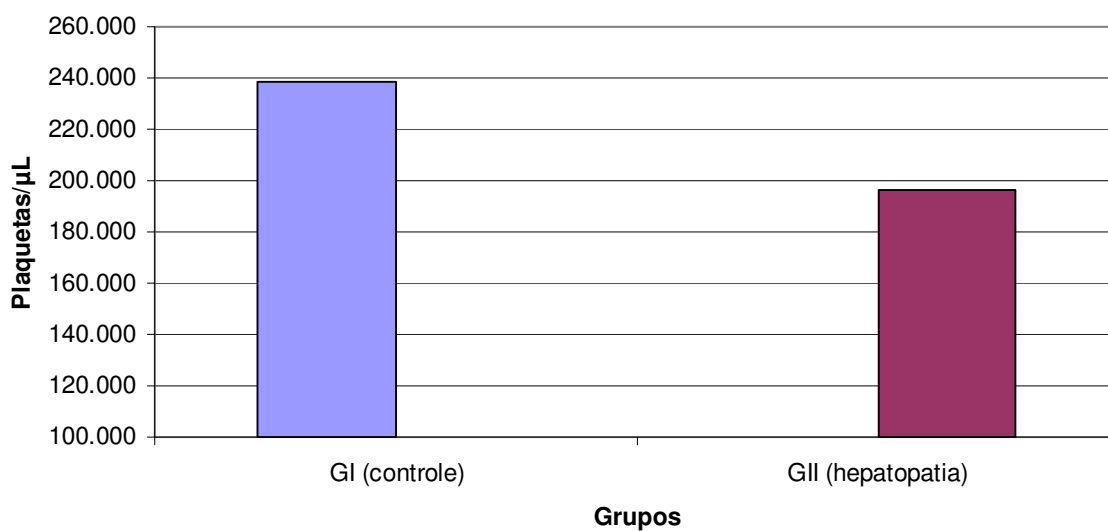


Figura 7. Médias da contagem de plaquetas/μL dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

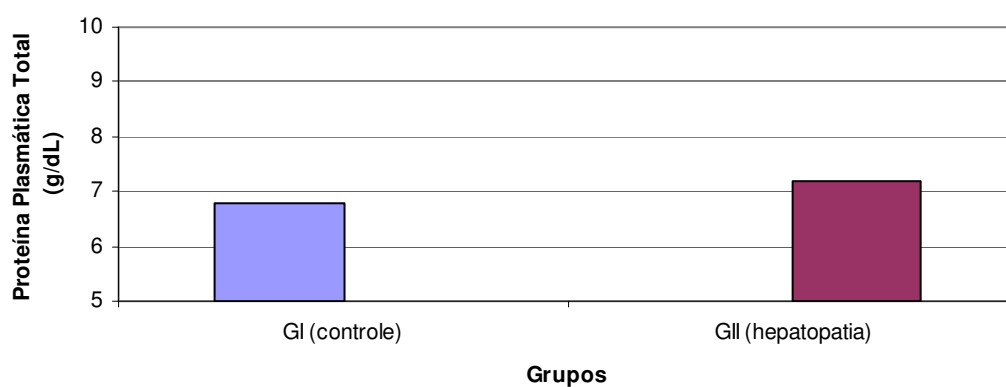


Figura 8. Médias dos níveis da proteína plasmática total (g/dL) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

5.1.2 Leucograma

Para os valores médios da contagem de leucócitos totais, bastonetes e basófilos não houve diferença significativa entre os grupos ($p>0,05$) (Tabela 5 e Figura 9 e 13).

Em ambos os grupos, os valores médios da contagem de leucócitos totais se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie, mas no Grupo II (hepatopatia), o valor médio se apresentou próximo do limite superior de referência, conforme Jain (1993) (Figura 9).

Na contagem dos bastonetes, os valores médios se mantiveram dentro da normalidade para a espécie, segundo Jain (1993), em ambos os grupos.

Ao leucograma, os basófilos são raramente visualizados e contados, e em ambos os grupos, foram observados basófilos, mas sem importância clínica.

Os valores médios da contagem de neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos demonstraram diferença significativa entre os grupos ($p<0,05$) (Tabela 5 e Figura 10, 11, 12 e 14).

Na contagem de neutrófilos, o valor médio do Grupo II (hepatopatia) apresentou-se aumentado em comparação ao valor de referência, conforme Jain (1993), caracterizando uma neutrofilia (Figura 10). No presente trabalho observou-se uma neutrofilia no Grupo II (hepatopatia) que sugere uma inflamação. Segundo Hess & Bunch (2000), não existem variações na avaliação dos leucócitos que sugiram uma doença hepatobiliar.

Os valores da contagem de linfócitos, em ambos os grupos, estavam dentro da normalidade, porém o Grupo II (hepatopatia) demonstrou valor médio significativamente ($p<0,05$) inferior ao Grupo I (controle) (Figura 11).

A diferença estatística significativa ($p<0,05$) nos valores médios da contagem de eosinófilos deve-se ao valor médio discretamente acima do limite superior de referência, enquanto no Grupo II (hepatopatia), o valor médio apresentou-se normal, sendo mais próximo do valor inferior de normalidade para a espécie. Baseando nos achados apresentados, evidenciou uma discreta eosinofilia no Grupo I (controle).

Os valores médios da contagem de monócitos, em ambos os grupos, estão dentro dos valores de referência para a espécie, porém a diferença estatística significativa ($p<0,05$) se deve ao Grupo II (hepatopatia) que apresentou valor

médio próximo do limite superior de referência enquanto o GI (controle) apresentou o valor médio mais próximo do valor do limite inferior de referência para a espécie (Figura 14).

Os achados observados ao leucograma na comparação entre os grupos, principalmente na avaliação de valores médios de neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos sugere uma resposta a inflamação e/ou ao estresse, em cães com doença hepática.

Tabela 5. Valores das médias e desvios-padrão (DP) da contagem total de leucócitos/ μL , contagem absoluta de neutrófilos/ μL , bastonetes/ μL , linfócitos/ μL , eosinófilos/ μL , basófilos/ μL e monócitos/ μL dos grupos (n=34) e resultados da análise estatística.

GRUPOS	VARIÁVEIS						
	Leucócitos/ μL	Neutrófilos/ μL	Bastonetes/ μL	Linfócitos/ μL	Eosinófilos/ μL	Basófilos/ μL	Monócitos/ μL
	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$	$\bar{x} \pm \text{DP}$
Grupo I (controle)	9.194 $\pm$ 2.477 (a)	5.313 $\pm$ 1.848 (b)	0 $\pm$ 0 (a)	2.083 $\pm$ 757 (b)	1.288 $\pm$ 849 (b)	61 $\pm$ 82 (a)	449 $\pm$ 245 (b)
Grupo II (hepatopatia)	16.229 $\pm$ 13.542 (a)	13.446 $\pm$ 12.758 (a)	86 $\pm$ 228 (a)	1.090 $\pm$ 1.025 (a)	308 $\pm$ 457 (a)	27 $\pm$ 85 (a)	1.271 $\pm$ 955 (a)

Letras minúsculas: comparam médias entre os grupos em cada variável.

Médias seguidas de letra minúscula diferente diferem significativamente ($p < 0,05$).

Médias seguidas de letra minúscula igual não diferem significativamente ($p > 0,05$).

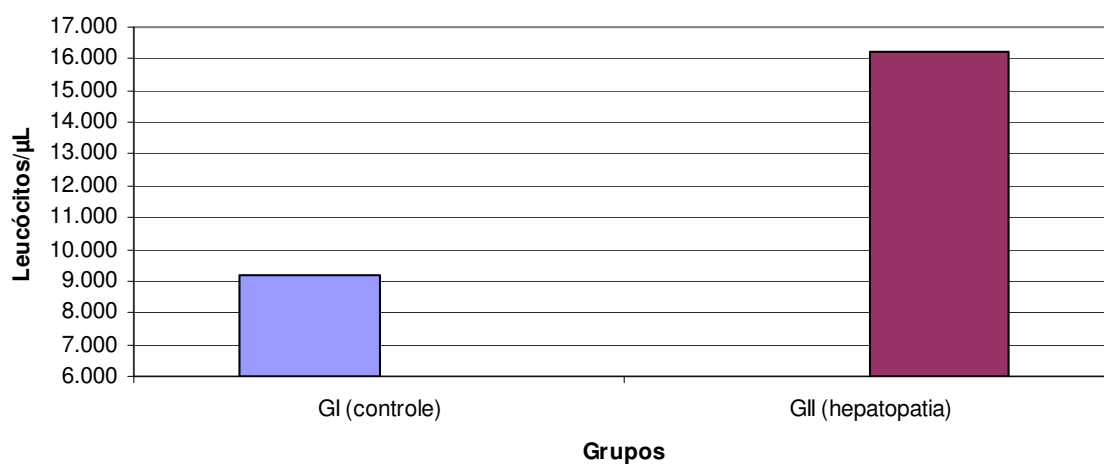


Figura 9. Médias da contagem total de leucócitos/μL dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopia).

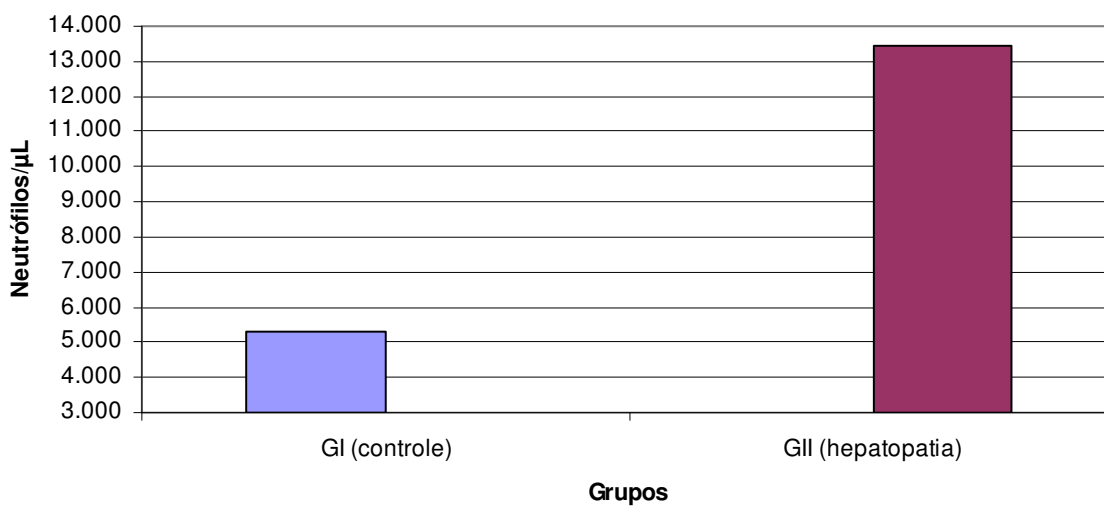


Figura 10. Médias da contagem absoluta de neutrófilos/μL dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopia).

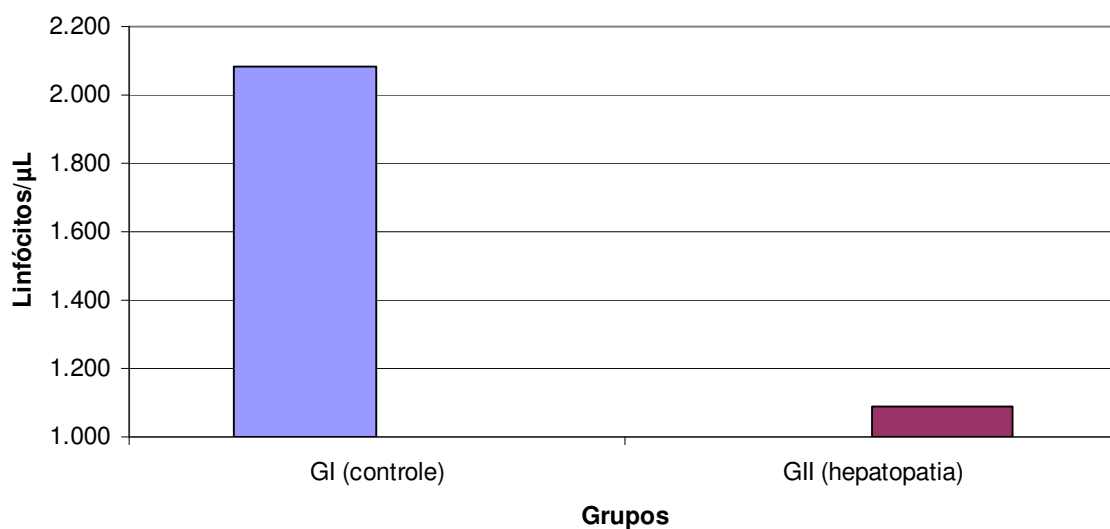


Figura 11. Médias da contagem absoluta de linfócitos/μL dos cães do Grupo I (controle) e GII (hepatopatia).

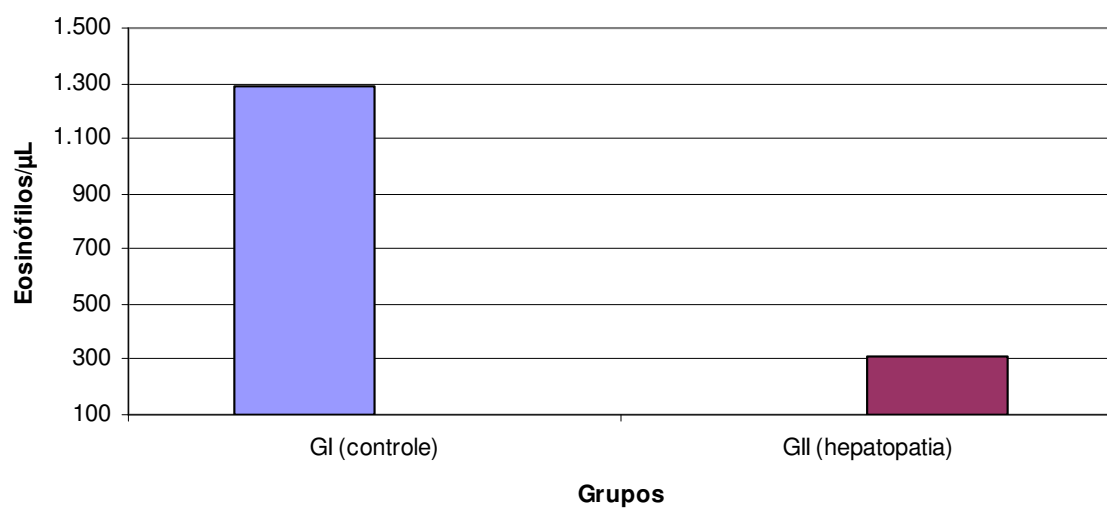


Figura 12. Médias da contagem absoluta de eosinófilos/μL dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

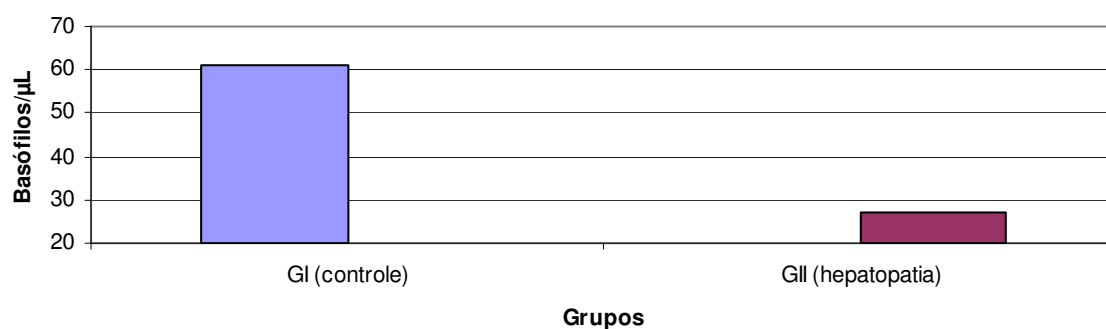


Figura 13. Médias da contagem absoluta de basófilos/μL dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

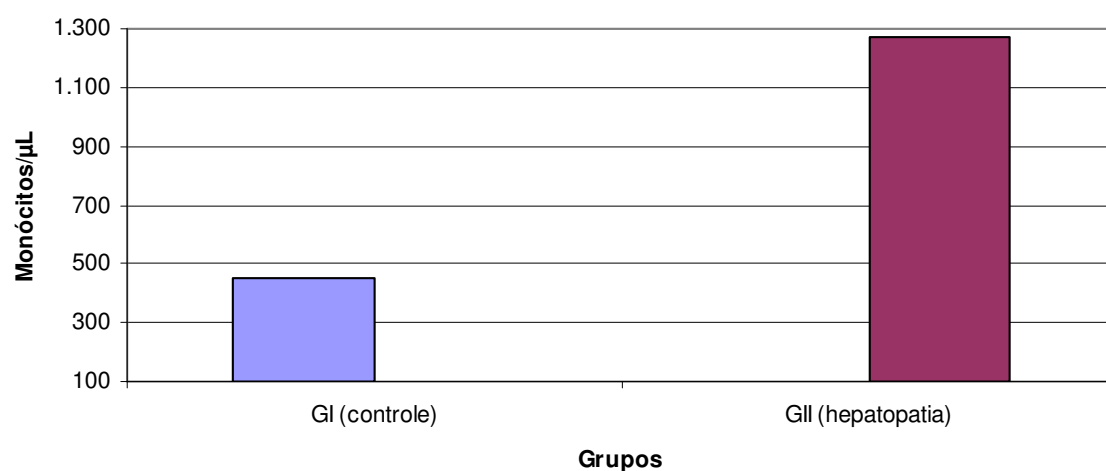


Figura 14. Médias da contagem absoluta de monócitos/μL dos cães do Grupo I (controle) e Grupos II (hepatopatia).

5.2 Perfil hepático

Na avaliação dos valores médios das variáveis ALT, AST, FA, GGT e albumina, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos (Tabela 6 e Figura 15, 16, 17, 18 e 20).

A ALT, AST, FA e GGT, no Grupo II (hepatopatia), demonstraram valores excessivamente aumentados em comparação com o Grupo I (controle) e os valores de referência para a espécie, segundo Kaneko et al (1997) e Meyer & Harvey (1998) (Figura 15, 16, 17 e 18). Os achados laboratoriais da ALT e AST indicaram que está ocorrendo uma lesão hepática ativa, com destruição dos hepatócitos e liberação destas enzimas na corrente sanguínea. Avaliou-se a FA e o GGT, que também apresentaram os valores aumentados, observou-se a presença de colestase. O aumento dos níveis séricos de ALT, AST, FA e GGT demonstraram que existe uma doença hepática ativa associada a colestase.

Em ambos os grupos, os valores médios de albumina apresentaram-se dentro dos valores de referência para a espécie, conforme Kaneko et al (1997), no entanto demonstraram diferença significativa ($p < 0,05$). O valor médio do Grupo II (hepatopatia) apresentou uma diminuição da concentração sérica de albumina quando comparado com o Grupo I (controle) (Tabela 6 e Figura 20).

Apesar do valor médio da albumina do Grupo II (hepatopatia) estar dentro dos valores de referência para a espécie, avaliando individualmente os animais, observou-se que sete cães apresentaram hipoalbuminemia, correspondendo a 35% dos cães com hepatopatia. A hipoalbuminemia, nestes cães com doença hepática, pode sugerir uma hepatopatia crônica, no entanto outros exames mais específicos devem ser realizados com o objetivo de confirmar o achado da bioquímica sérica.

Os valores médios da proteína total sérica e das globulinas não demonstraram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. A proteína total sérica e as globulinas demonstraram valores médios dentro da normalidade para a espécie, segundo Kaneko et al (1997), em ambos os grupos (Tabela 6 e Figura 19 e 21)

Avaliando os valores médios da proteína total sérica, albumina e globulinas no Grupo II (hepatopatia), observaram-se uma tendência a hipoalbuminemia e

hiperglobulinemia, conforme também observaram Thrall et al. (2007) em alguns casos de hepatopatia crônica.

Tabela 6. Valores das médias e desvios-padrão (DP) da ALT (alanina aminotransferase) (UI/L), AST (aspartato aminotransferase) (UI/L), FA (fosfatase alcalina) (UI/L), GGT (gama-glutamilttransferase) (UI/L), PT (proteína total) (sérica) (g/dL), albumina (g/dL) e globulinas (g/dL) dos grupos (n=34) e resultados da análise estatística.

GRUPOS	VARIÁVEIS						
	ALT (UI/L)	AST (UI/L)	FA (UI/L)	GGT (UI/L)	PT (sérica) (UI/L)	Albumina (UI/L)	Globulinas (UI/L)
	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$
Grupo I (controle)	34,9 ± 9,2 (b)	26 ± 8 (b)	85,4 ± 27,9 (b)	1,4 ± 0,4 (b)	6,9 ± 0,3 (a)	3,4 ± 0,2 (b)	3,5 ± 0,3 (a)
Grupo II (hepatopatia)	353,8 ± 258,8 (a)	205 ± 251 (a)	1.074,2 ± 1.265,9 (a)	17,6 ± 27,1 (a)	6,8 ± 1,4 (a)	2,7 ± 0,7 (a)	4,0 ± 1,2 (a)

Letras minúsculas: comparam médias entre os grupos em cada variável.

Médias seguidas de letra minúscula diferente diferem significativamente ($p < 0,05$).

Médias seguidas de letra minúscula igual não diferem significativamente ($p > 0,05$).

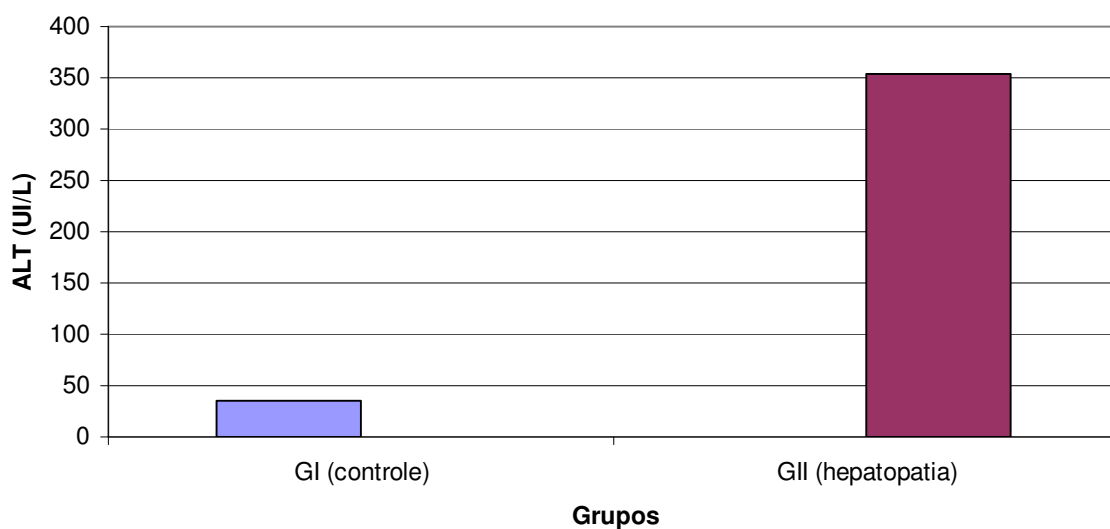


Figura 15. Médias dos níveis de ALT (UI/L) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

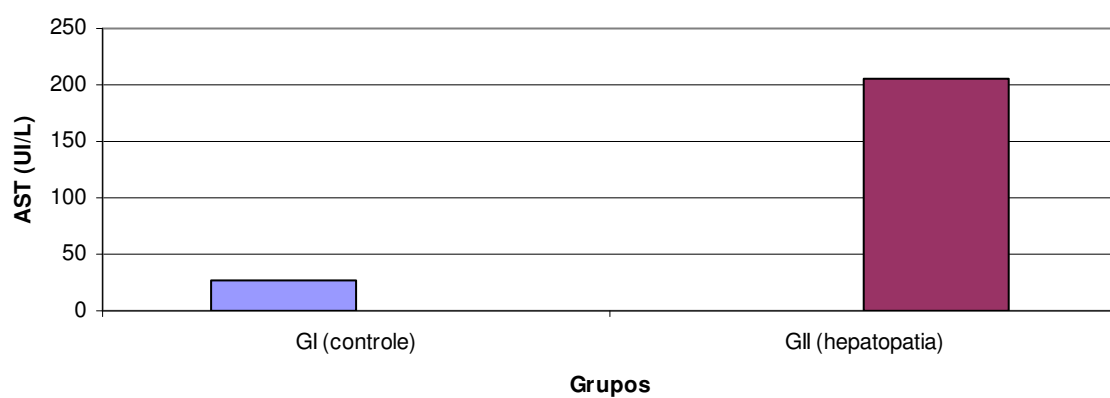


Figura 16. Médias dos níveis de AST (UI/L) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

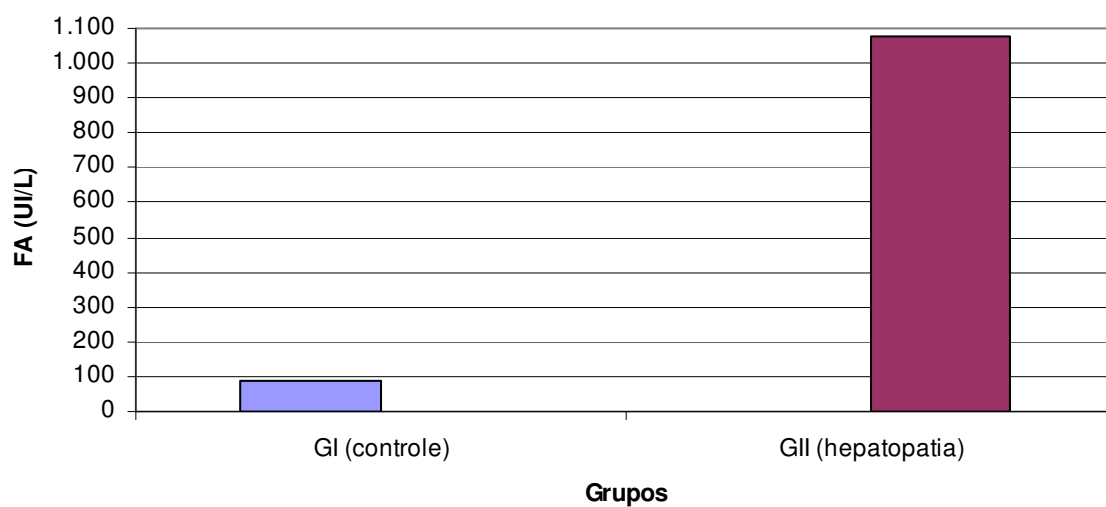


Figura 17. Médias dos níveis de FA (UI/L) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

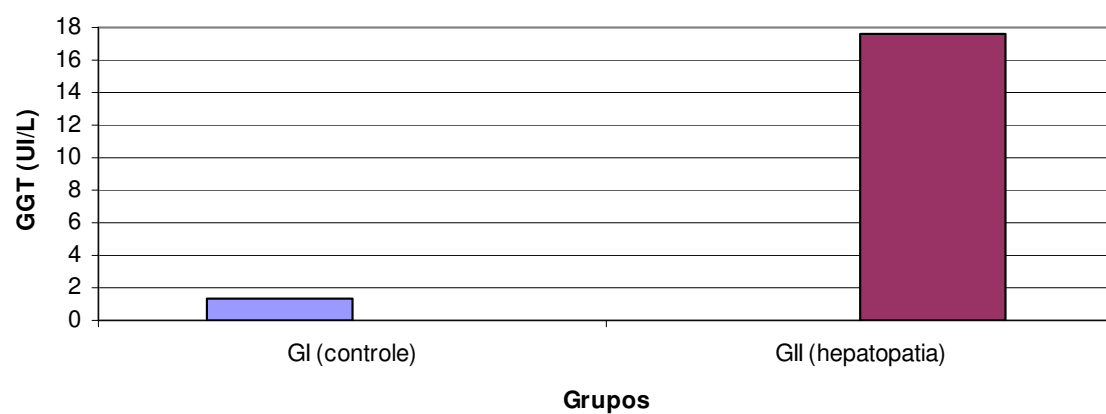


Figura 18. Médias dos níveis de GGT (UI/L) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

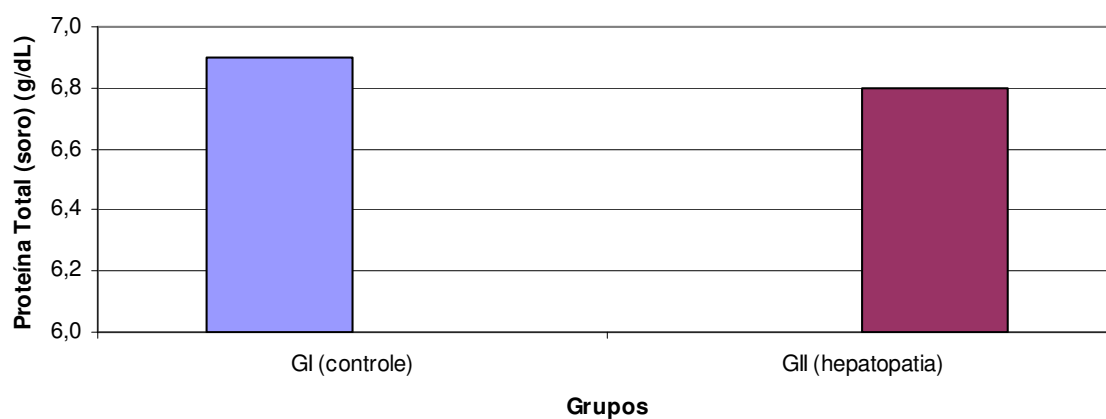


Figura 19. Médias dos níveis de proteína total (sérica) (g/dL) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

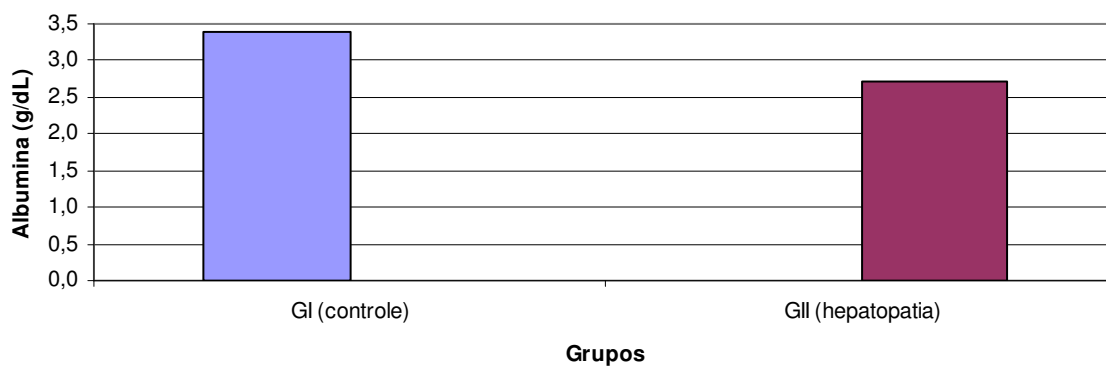


Figura 20. Médias dos níveis de albumina (g/dL) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

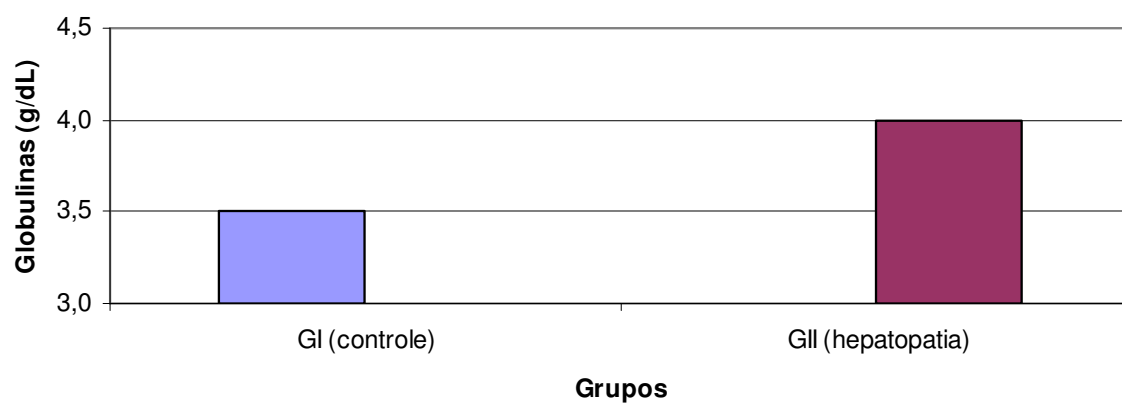


Figura 21. Médias dos níveis de globulinas (g/dL) dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

5.3 Perfil lipídico

5.3.1 Bioquímica sérica

Analisando os valores médios de colesterol, constatou-se que não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos (Tabela 7 e Figura 22). No Grupo II (hepatopatia) o valor médio está de acordo com os valores de referência para a espécie, segundo Kaneko et al. (1997).

Na literatura, existem vários relatos de hipercolesterolemia em cães com doença hepática principalmente associada à colestase ou obstrução do fluxo biliar, pois a bile é a principal via de excreção do colesterol do organismo, portanto uma colestase pode aumentar a concentração sérica do colesterol, como relatam Hess & Bunch (2000); Sato et al., (2000); Thrall et al., (2007).

O fígado é o principal órgão de síntese do colesterol. Em alguns tipos de insuficiência hepática, a menor síntese de colesterol pode ocasionar uma hipocolesterolemia conforme relatam Bruss (1997) e Thrall et al., (2007).

Conforme os relatos acima, em uma doença hepática, o animal pode apresentar tanto uma hipercolesterolemia ou hipocolesterolemia, como também relatam Hall (1985); Johnson (1992).

No Grupo II (hepatopatia), 12 animais (60%) apresentaram níveis de colesterol dentro do intervalo de referência conforme Kaneko et al (1997), sete animais (35%) demonstraram hipocolesterolemia e somente um animal (5%) apresentou hipercolesterolemia, demonstrando que, no presente trabalho, ocorreu o predomínio do nível sérico normal de colesterol. A hipocolesterolemia ocorreu possivelmente devido a diminuição na síntese de colesterol hepático ser a alteração mais importante que a hipercolesterolemia em decorrência da colestase (FA e GGT aumentados).

Os triglicerídeos demonstraram diferença significativa ($p<0,05$) na comparação dos valores médios entre os grupos (Tabela 7 e Figura 23). No Grupo II (hepatopatia) o valor médio apresentou dentro do intervalo de referência para a espécie, conforme Kaneko et al (1997), 18 animais (90%) demonstraram valor de triglicerídeos dentro do intervalo de referência e dois (10%) apresentaram hipertrigliceridemia. No presente trabalho, constataram-se a predominância do nível sérico normal de triglicerídeos, e com menor importância alguns animais com hipertrigliceridemia, ambos em cães com doença hepática.

Dentro do metabolismo dos lipídeos, a hipertrigliceridemia é sem dúvida uma das alterações mais complexas, devido ao fato de não conhecer, na maioria das vezes, qual é a origem do distúrbio, se na síntese hepática das VLDLs que são ricas em triglicerídeos, ou na degradação periférica das VLDLs pela enzima lipoproteína lipase (DELGADO et al., 1985). Para tal identificação, outros testes específicos devem ser realizados.

Xenoulis et al. (2007) relatam a hipertrigliceridemia moderada a grave ($>400\text{mg/dL}$) associada e também desenvolvendo uma alta atividade sérica das enzimas hepáticas ALT, AST, FA e GGT em cães da raça Schnauzer Miniatura. A etiologia destas alterações relatadas não foi confirmada no presente estudo, no entanto os autores referem que em humanos, a hipertrigliceridemia está associada à infiltração gordurosa no fígado e ao aumento sérico assintomático da atividade das enzimas hepáticas.

Não foram observadas alterações laboratoriais significativas quanto ao metabolismo dos lipídeos (colesterol e triglicerídeos) no presente estudo. Os animais com doença hepática não apresentaram o quadro de insuficiência hepática, constatado pela determinação da albumina sérica, apesar da presença da colestase, a mesma não foi suficiente para causar uma hiperlipidemia. Ocorreu a predominância de níveis séricos normais de colesterol e triglicerídeos em cães com doença hepática.

5.3.2 Química seca com sangue total fresco

As variáveis colesterol total e triglicerídeos determinados pela química seca com sangue total fresco não demonstraram diferença significativa ($p>0,05$) na comparação dos valores médios entre os grupos (Tabela 7 e Figura 24 e 25).

Apesar de não existir diferença estatística entre os grupos, o valor médio dos triglicerídeos no Grupo II (hepatopatia) estava acima do valor de referência para a espécie, segundo Kaneko et al (1997), constatando a hipertrigliceridemia em cães com doença hepática. No Grupo II (hepatopatia), cinco animais (25%) apresentaram hipertrigliceridemia, conforme o valor de referência para a espécie segundo Kaneko et al (1997) e 15 animais (75%) demonstraram valor de triglicerídeos dentro do intervalo de referência.

Não existe valor de referência, para a espécie canina, padronizado no aparelho Accutrend GCT[®] - Roche (química seca com sangue total fresco), pois foi desenvolvido para humano. No entanto, o fabricante indica a utilização do referido aparelho em animais. Na interpretação dos resultados o aparelho mostrou uma limitação na faixa de valores em que consegue realizar a leitura do nível sérico do colesterol e dos triglicerídeos, sendo que quando o valor do colesterol se encontrava <150mg/dL e dos triglicerídeos <70mg/dL, o mesmo não realizava a leitura demonstrando como resultado a descrição LO (*low*) e quando o valor do colesterol se apresentava >300mg/dL e triglicerídeos >600mg/dL, a leitura do resultado era demonstrada como HI (*high*).

5.3.3 Comparação entre as técnicas de bioquímica sérica e química seca com sangue total fresco

Na comparação dos valores médios da variável colesterol, tanto para o Grupo I (controle) quanto para o Grupo II (hepatopatia), não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre as duas técnicas (Tabela 7).

Houve diferença significativa ($p<0,05$) na comparação dos valores médios dos triglicerídeos entre as duas técnicas, no Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia) (Tabela 7).

Observou-se na técnica de química seca com sangue total fresco os valores médios superiores, no Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia), quando comparado ($p<0,05$) com a técnica de bioquímica sérica.

O valor médio dos triglicerídeos no Grupo II (hepatopatia), utilizando-se a técnica de química seca com sangue total fresco, apresentou-se superior ao valor de referência, no entanto na bioquímica sérica, o valor médio dos triglicerídeos, no Grupo II (hepatopatia), apresentou o valor médio dentro da referência para a espécie, segundo Kaneko et al (1997), demonstrando por meio dos valores médios, o aumento sérico do nível dos triglicerídeos, em cães com doença hepática ativa associada a colestase.

Devido à restrição do intervalo de leitura dos níveis de colesterol e triglicerídeos, por meio da química seca com sangue total fresco utilizando o aparelho Accutrend GCT[®] - Roche notou-se, que a utilização do mesmo na

mensuração do colesterol é indicada, apenas quando o cão apresenta os valores dentro do intervalo de referência para a espécie.

Na mensuração dos triglicerídeos, o aparelho Accutrend GCT[®] - Roche, não possui a sensibilidade adequada, pois o aparelho não realiza a leitura quando o valor dos triglicerídeos está <70mg/dL, já que nos cães o valor de referência do limite inferior é de 20mg/dL conforme relata Kaneko et al. (1997).

O aparelho Accutrend GCT[®] - Roche é mais sensível, na detecção do nível sérico de triglicerídeos aumentados do que na detecção da diminuição, de acordo com os valores de referência para a espécie, sendo que, na comparação das técnicas, o aparelho Accutrend GCT[®] - Roche, detectou maior número de cães com hipertrigliceridemia e a bioquímica sérica constatou diferença significativa ($p<0,05$) entre os grupos somente pelo valor médio maior no Grupo II (hepatopatia).

A comodidade e a rapidez da obtenção dos resultados dos testes quando utilizado o aparelho portátil Accutrend GCT[®] - Roche é importante na rotina hospitalar veterinária, principalmente em casos emergenciais e locais de difícil acesso aos laboratórios de patologia clínica veterinária, mas quando constatado o resultado do teste fora do intervalo de leitura do aparelho, deve-se realizar o exame de bioquímica sérica devido à melhor exatidão deste. O teste de bioquímica sérica possui a vantagem de ter baixo custo e fácil acesso, sendo indicado e muito utilizado na rotina hospitalar veterinária.

Tabela 7. Valores das médias e desvios-padrão (DP) do colesterol (mg/dL) e triglicerídeos (mg/dL), determinados por meio da bioquímica sérica e química seca com sangue total fresco, dos grupos (n=34) e resultados da análise estatística.

GRUPOS	VARIÁVEIS			
	Bioquímica sérica		Química seca com sangue total fresco	
	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)
	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$
Grupo I (controle)	179 $\pm$ 32 (a; A)	37 $\pm$ 10 (b; A)	199 $\pm$ 38 (a; A)	89 $\pm$ 164 (a; B)
Grupo II (hepatopatia)	180 $\pm$ 68 (a; A)	87 $\pm$ 108 (a; A)	212 $\pm$ 54 (a; A)	127 $\pm$ 97 (a; B)

Letras minúsculas: comparam médias entre os grupos em cada variável.

Médias seguidas de letra minúscula diferente diferem significativamente ($p < 0,05$).

Médias seguidas de letra minúscula igual não diferem significativamente ($p > 0,05$).

Letras maiúsculas: comparam médias de diferentes técnicas de uma variável no mesmo grupo.

Médias seguidas de letra maiúscula diferente diferem significativamente ($p < 0,05$).

Médias seguidas de letra maiúscula igual não diferem significativamente ($p > 0,05$).

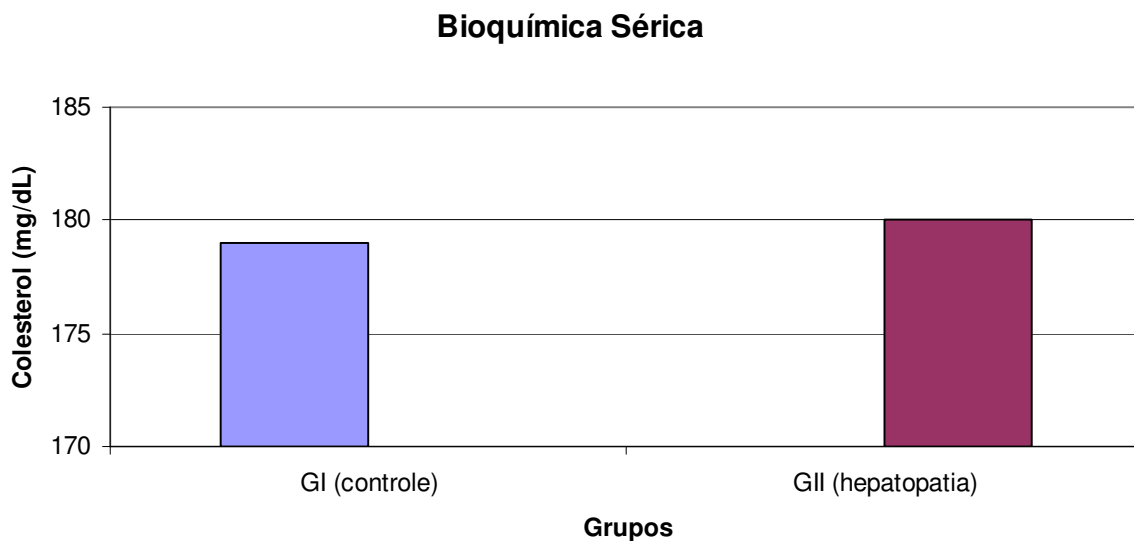


Figura 22. Médias dos níveis de colesterol (mg/dL), determinadas pela bioquímica sérica dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

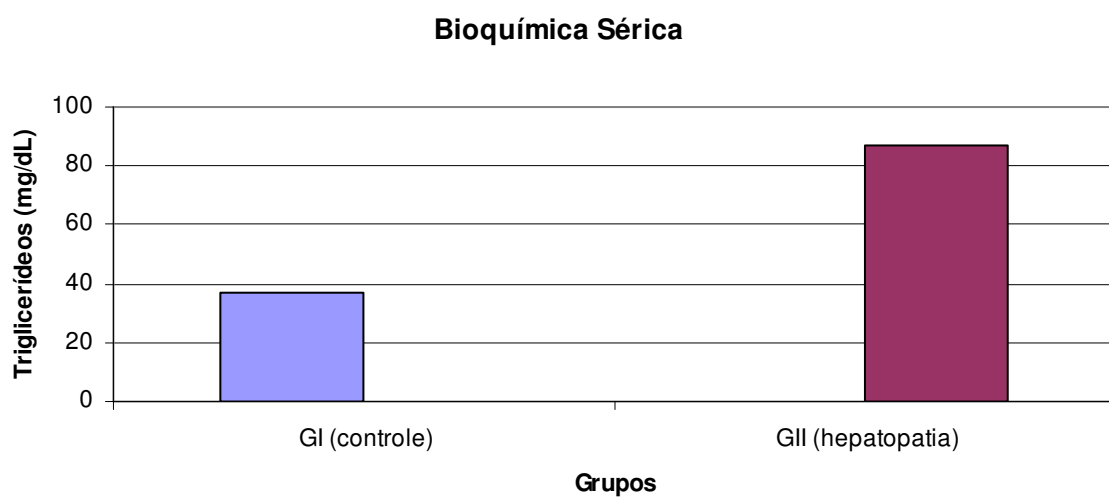


Figura 23. Médias dos níveis de triglicerídeos (mg/dL), determinadas pela bioquímica sérica dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia).

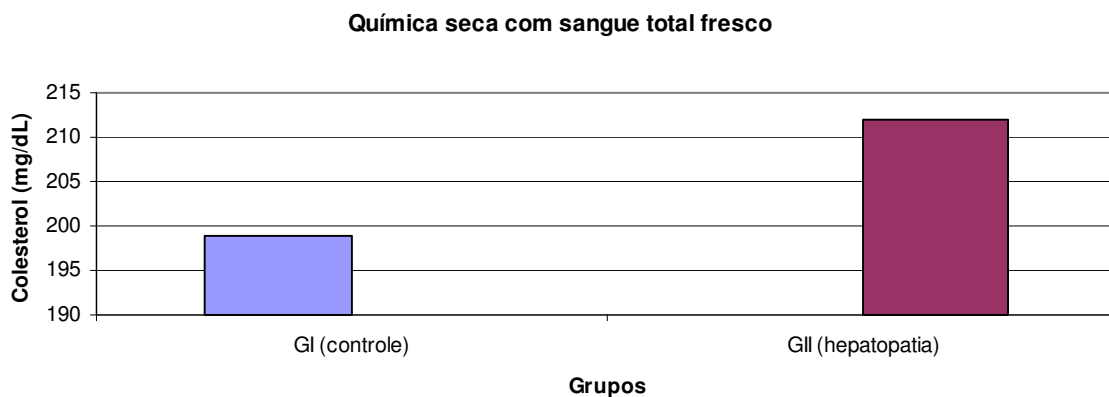


Figura 24. Médias dos níveis de colesterol (mg/dL), determinados pela química seca com sangue total fresco dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopia).

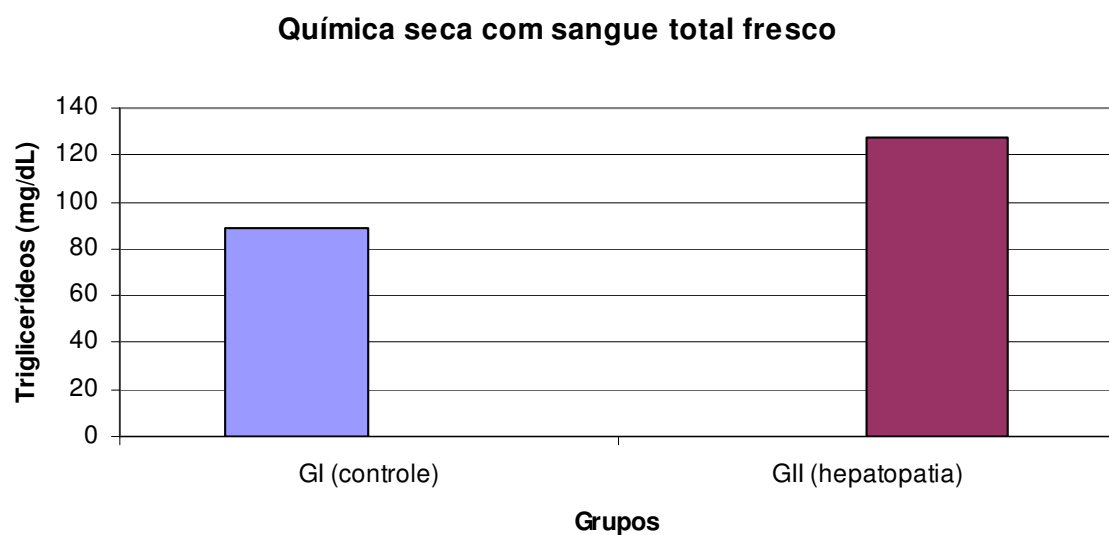


Figura 25. Médias dos níveis de triglicerídeos (mg/dL), determinados pela química seca com sangue total fresco dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopia).

5.4 Perfil lipoprotéico

5.4.1 Bioquímica sérica

As variáveis HDL, VLDL e LDL apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) na comparação dos valores médios entre os grupos (Tabela 8 e Figura 26, 27 e 28).

Para o HDL, o valor médio do Grupo II (hepatopatia) foi inferior ao Grupo I (controle), ocorrendo o inverso para VLDL e LDL, em que os valores médios do Grupo II (hepatopatia) foram superiores ao Grupo I (controle).

Em humanos, Fischbach (2002) cita que as doenças hepatocelulares é um dos fatores causadores de diminuição do HDL sérico. O mesmo foi observado no presente estudo com cães com doença hepática.

O valor médio de VLDL apresentou-se elevado no Grupo II (hepatopatia), provavelmente é devido a alteração no metabolismo de lipídeos e lipoproteínas provocada pela doença hepática, constatada pelo aumento do nível sérico dos triglicerídeos.

Delgado et al., (1985) referem que a hipertrigliceridemia deve-se ao distúrbio na síntese hepática das VLDLs que são ricas em triglicerídeos, ou na degradação periférica das VLDLs pela enzima lipoproteína lipase.

O valor médio de VLDL aumentado, demonstrado no presente estudo em cães com doença hepática, constatou que a avaliação do perfil das lipoproteínas é mais precoce que a determinação da albumina sérica na detecção de disfunção hepática.

A lipase hepática é sintetizada nos hepatócitos de onde é transportada para a superfície das células endoteliais hepáticas. A lipase hepática converte principalmente os triglicerídeos plasmáticos em VLDL e o restante é utilizado na produção de LDLs, além de converter os triglicerídeos em HDLs (BRUSS, 1997; STOCKHAM & SCOTT, 2002).

A LDL apresenta nível elevado na obstrução biliar ou doença hepática em humanos (FISCHBACH, 2002). No presente estudo, também foi detectado o aumento do valor de LDL nos cães com doença hepática, que também apresentam colestase (FA e GGT aumentados) como no estudo em humanos.

A quantidade plasmática de LDL é baixa em cães hígidos; portanto a alta concentração de LDL demonstra frequentemente sinais clínicos evidentes em

cães com hipertrigliceridemia idiopática (BAUER, 1995). Concordando com a tendência a hipertrigliceridemia e aumento do nível de LDL nos cães com doença hepática, no presente estudo.

No metabolismo de lipoproteínas, o colesterol e os triglicerídeos possuem fundamental importância, pois o HDL possui, em sua composição, uma grande concentração de colesterol e pouca de triglicerídeos. No presente estudo, o Grupo II (hepatopatia) demonstrou a predominância do nível de colesterol normal e em seguida de hipocolesterolemia em cães com doença hepática, o que justifica o nível de HDL diminuído, e notou-se o aumento sérico de triglicerídeos, concordando com os níveis médios de VLDL e LDL aumentados, pois essas lipoproteínas possuem, na sua composição, maior concentração de triglicerídeos.

As observações acima podem ter sido influenciadas devido à tendência a hipocolesterolemia e hipertrigliceridemia em alguns cães com doença hepática, conforme demonstrada nos valores individuais do colesterol e triglicerídeos mensurados por meio da bioquímica sérica. Tais achados laboratoriais confirmam a presença de distúrbio ou anormalidade no metabolismo de lipoproteínas em cães com doença hepática.

Não existem, na literatura, os valores de referência para cães, das lipoproteínas HDL, VLDL e LDL, dificultando a interpretação dos achados laboratoriais.

5.4.2 Eletroforese de lipoproteínas

Observou-se nos valores médios de HDL, VLDL e LDL diferença significativa ($p < 0,05$) na comparação entre os grupos (Tabela 8 e Figura 29, 31 e 32).

Para o HDL, o valor médio do Grupo II (hepatopatia) foi inferior ao Grupo I (controle), ocorrendo o inverso para VLDL e LDL, em que os valores médios do Grupo II (hepatopatia) foram superiores ao Grupo I (controle).

Para a variável Lp(a), não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos, apesar do valor médio do Grupo II (hepatopatia) apresentar-se superior ao Grupo I (controle) (Tabela 8 e Figura 30).

A Lp(a) é sintetizada no fígado, mas detalhes do seu metabolismo são muito mal compreendidos. Suspeita-se que em virtude da sua similaridade com o

plasminogênio, pode interferir na trombólise normal, a qual pode ser responsável pela associação entre níveis elevados de Lp(a) e doença cardiovascular em humanos (BOLTON, 1994, BACHORICK et al., 1999 e BACHORICK et al., 2001).

Em humanos, correlações diretas têm sido encontradas entre a alta concentração de Lp(a) plasmática e doença cardíaca coronariana, derrame cerebral e no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas. A concentração plasmática de Lp(a) parece ser independente da idade e da dieta, e não é afetada pela maioria das drogas para diminuir o LDL. Portanto, variações nos níveis de Lp(a) são relatadas em alguns estados patológicos, especialmente nos distúrbios do fígado como a cirrose, em que a concentração sérica de Lp(a) pode estar muito reduzida (BEAUDEUX et al., 1994).

No presente estudo o Grupo II (hepatopatia), demonstrou aumento do valor médio de Lp(a), discordando com a afirmação relatada por Beaudeau et al (1994).

O fabricante do kit utilizado no presente estudo estabelece como valores de referência, em humanos, a LDL: 38,6 a 69,4%, VLDL: 4,4 a 23,1% e HDL: 22,3 a 53,3%, relatando que a Lp(a) normalmente não aparece no lipidograma de indivíduos sadios, salientando que cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Bachorick et al. (1999) e Bachorick et al. (2001), referem que as concentrações de Lp(a) em humanos normais pode variar de <20 a 1.500mg/dL ou mais e os níveis elevados são familiares com uma transmissão autossômica dominante. Quando as concentrações plasmáticas são superiores a 200 a 300mg/dL, a Lp(a) aparece eletroforeticamente.

Segundo Whitney et al. (1987), o padrão da eletroforese de lipoproteínas plasmáticas em cães saudáveis em jejum está bem caracterizado. Tal exame indica frequentemente anormalidades no metabolismo de lipídeos, até mesmo quando a concentração sérica de triglicerídeos e colesterol estão dentro dos valores de referência para a espécie.

Comparando o perfil dos valores encontrados na eletroforese de lipoproteínas em cães no presente estudo, com a referência utilizada em humanos, constata-se que cães apresentam o predomínio da fração HDL o que não ocorre em humanos, e a Lp(a) é encontrada tanto em cães hígidos quanto com doença hepática.

5.4.3 Comparação entre as técnicas de bioquímica sérica e a eletroforese de lipoproteínas

Em ambas as técnicas notou-se que existe uma anormalidade no metabolismo das lipoproteínas em cães com doença hepática, caracterizada pela diminuição dos valores do HDL e aumento dos valores de VLDL e LDL (Tabela 8).

A bioquímica sérica é indicada quando se necessita determinar o nível sérico exato de cada lipoproteína, no entanto a eletroforese de lipoproteínas é indicada para determinar a relação das frações das lipoproteínas, pois o resultado é demonstrado em porcentagem. Como relatado acima, o animal poderá apresentar os valores do colesterol e triglicerídeos dentro dos valores de referência, e possuir alterações das lipoproteínas, neste caso, a eletroforese de lipoproteínas é o teste de escolha e mais sensível para o diagnóstico de distúrbios no metabolismo das lipoproteínas.

Ambas as técnicas são realizadas facilmente, no entanto a eletroforese de lipoproteínas possui o custo mais elevado. Para uma perfeita avaliação do perfil lipoprotéico, a associação das técnicas é muito interessante, pois a bioquímica sérica apresenta os resultados de forma quantitativa e a eletroforese de lipoproteínas fornece as frações de forma quantitativa e qualitativa.

A utilização das duas técnicas combinadas pode trazer informações mais exatas quanto ao metabolismo das lipoproteínas, facilitando o diagnóstico, monitorização da terapia do cão com doença hepática e distúrbios no metabolismo de lipoproteínas.

A avaliação do metabolismo de lipídeos e lipoproteínas deve ocorrer de forma completa, isto é, avaliando os lipídeos (colesterol e triglicerídeos) e as lipoproteínas (HDL, VLDL e LDL), a normalidade de lipídeos não descarta uma possível alteração de lipoproteínas. Ambas as técnicas de avaliação das lipoproteínas (bioquímica sérica e a eletroforese de lipoproteínas) são mais sensíveis que somente a avaliação dos lipídeos na detecção de distúrbios do metabolismo de lipídeos e lipoproteínas em cães com doença hepática.

A relação entre a taxa de HDL e LDL é muito importante para determinar o grau do risco do desenvolvimento da aterosclerose em humanos. No cão, o valor de HDL é maior que a de LDL resultando em baixo risco de ocorrer a aterosclerose. No presente trabalho, constatou-se que o cão com doença

hepática possui o valor de HDL menor que a de LDL, isto é, ocorreu a inversão da fração destas lipoproteínas, predispondo a aterosclerose ou outras doenças decorrentes de distúrbio no metabolismo de lipoproteínas.

Devido a diferenças das técnicas e conseqüentemente a forma em que os valores são apresentados, a bioquímica sérica em mg/dL e a eletroforese de lipoproteínas em %, não foi possível realizar a análise estatística, sendo realizada a análise descritiva.

Ambas as técnicas, foram capazes de detectar a inversão das frações, isto é a diminuição dos valores médios de HDL e o aumento de VLDL e LDL, demonstrando a presença de distúrbio no metabolismo das lipoproteínas (Tabela 8). Tais alterações foram detectadas antes de se evidenciar a insuficiência hepática (hipoalbuminemia) em cães com doença hepática, sendo um indicador mais precoce de perda de função hepática.

No presente estudo, a eletroforese de lipoproteínas demonstrou ser mais sensível que a bioquímica sérica na detecção da diminuição da HDL e aumento de VLDL e LDL, devido ao maior número de animais com alterações no valor individual. A diminuição da fração HDL deve ter ocorrido devido a diminuição do metabolismo hepático em cães com doença hepática, pois a molécula de HDL é produzida no fígado. O aumento das frações VLDL e LDL estão associados à elevação do valor médio de triglicerídeos em relação ao Grupo I (controle), apesar de apenas dois animais terem apresentando valor acima da referência para a espécie, segundo Kaneko et al. (1997).

Schaefer & Levy (1985) referem que a eletroforese de lipoproteínas em gel de agarose é útil na determinação de qual classe de lipoproteínas está alterada, constatada também no presente estudo.

Tabela 8. Valores das médias e desvios-padrão (DP) do HDL (lipoproteína de alta densidade) (mg/dL e %), Lp(a) (lipoproteína (a) (%), VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) (mg/dL e %) e LDL (lipoproteína de baixa densidade) (mg/dL e %), determinados por meio da bioquímica sérica e pela eletroforese de lipoproteínas, dos grupos (n=34) e resultados da análise estatística.

GRUPOS	VARIÁVEIS						
	Bioquímica sérica			Eletroforese de lipoproteínas			
	HDL (mg/dL) $\bar{x} \pm DP$	VLDL (mg/dL) $\bar{x} \pm DP$	LDL (mg/dL) $\bar{x} \pm DP$	HDL (%) $\bar{x} \pm DP$	Lp(a) (%) $\bar{x} \pm DP$	VLDL (%) $\bar{x} \pm DP$	LDL (%) $\bar{x} \pm DP$
Grupo I (controle)	133 ± 9 (a)	7,3 ± 2,1 (a)	39,3 ± 26,5 (a)	72,9 ± 13,7 (a)	2,3 ± 5,7 (a)	12,5 ± 7,3 (a)	12,3 ± 8,0 (a)
Grupo II (hepatopatia)	100 ± 32 (b)	17,3 ± 21,6 (b)	70,1 ± 46,7 (b)	47,6 ± 20,2 (b)	5,4 ± 8,6 (a)	22,2 ± 14,0 (b)	24,8 ± 13,6 (b)

Letras minúsculas: comparam médias entre os grupos em cada variável.

Médias seguidas de letra minúscula diferente diferem significativamente ($p < 0,05$).

Médias seguidas de letra minúscula igual não diferem significativamente ($p > 0,05$).

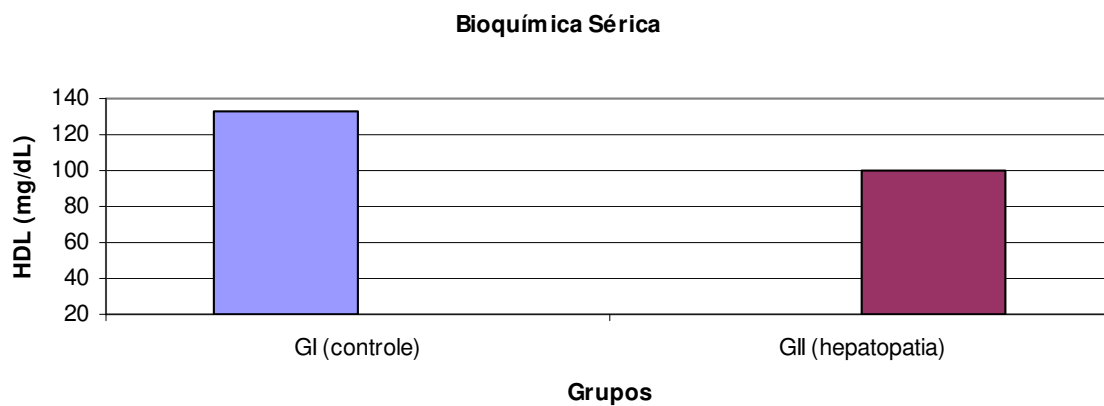


Figura 26. Médias dos níveis de HDL (mg/dL), determinadas pela bioquímica sérica dos cães do Grupo I (controle) e GII (hepatopatia).

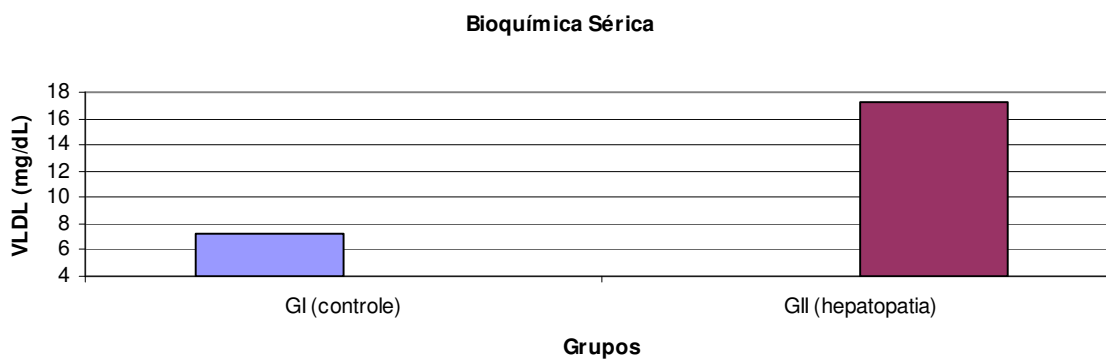


Figura 27. Médias dos níveis de VLDL (mg/dL), determinadas pela bioquímica sérica dos cães do Grupo I (controle) e GII (hepatopatia).

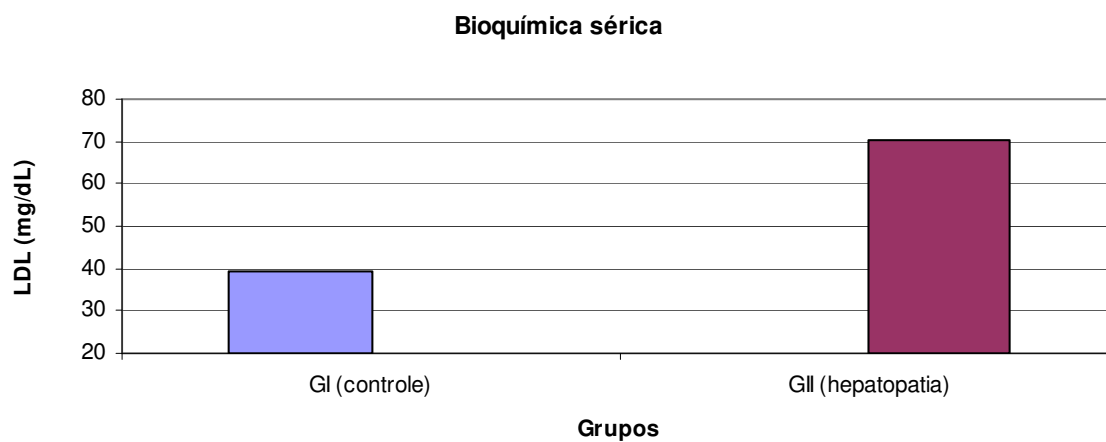


Figura 28. Médias dos níveis de LDL (mg/dL), determinadas pela bioquímica sérica dos cães do Grupo I (controle) e GII (hepatopatia).

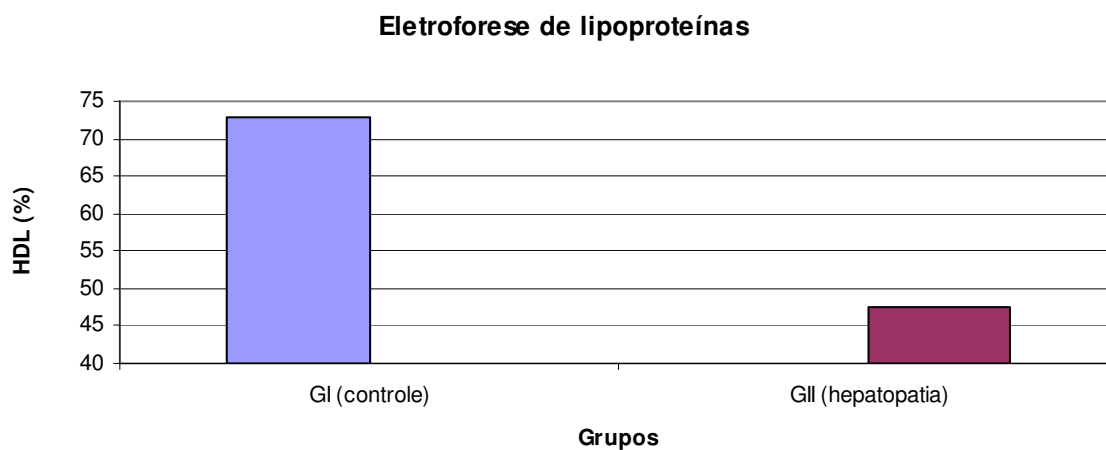


Figura 29. Médias dos níveis de HDL (%), determinadas pela eletroforese de lipoproteínas dos cães do Grupo I (controle) e GII (hepatopatia).

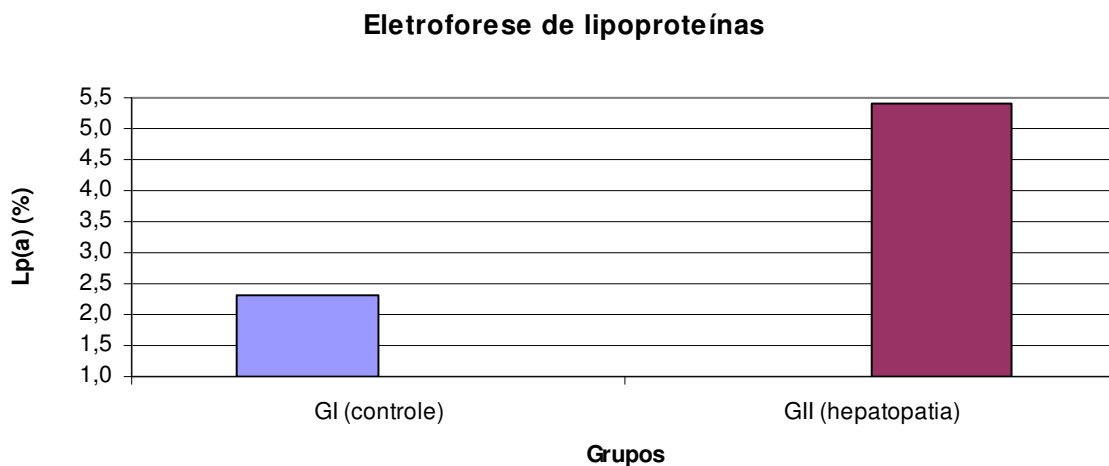


Figura 30. Médias dos níveis de Lp(a) (%), determinadas pela eletroforese de lipoproteínas dos cães do Grupo I (controle) e GII (hepatopatia).

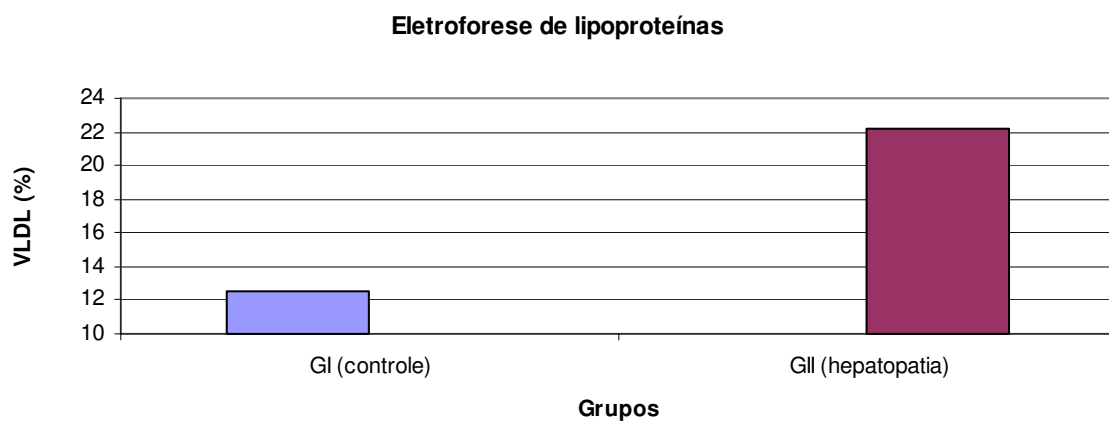


Figura 31. Médias dos níveis de VLDL (%), determinadas pela eletroforese de lipoproteínas dos cães do Grupo I (controle) e GII (hepatopatia).

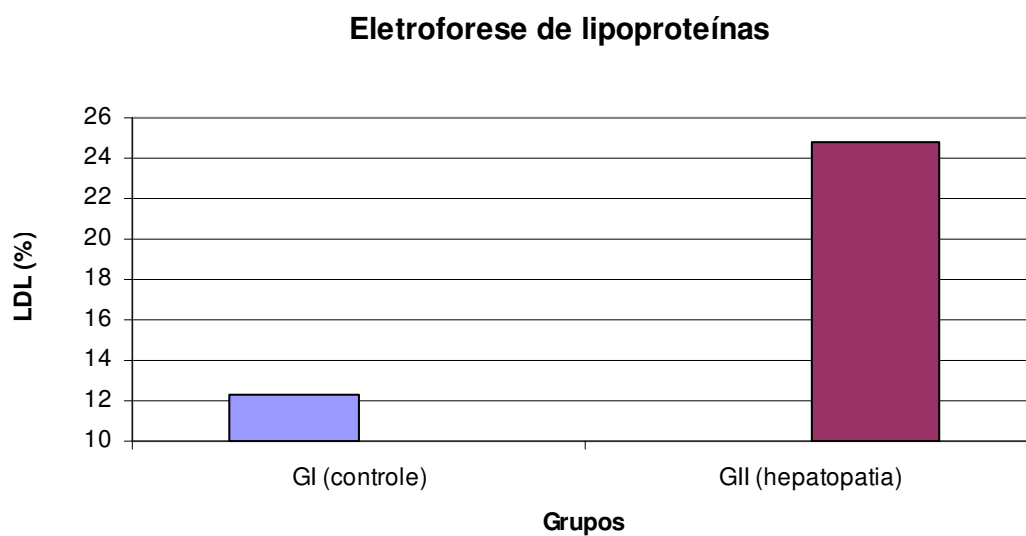


Figura 32. Médias dos níveis de LDL (%), determinadas pela eletroforese de lipoproteínas dos cães do Grupo I (controle) e GII (hepatopatia).

6 Conclusões

Com base nos resultados observados no presente experimento em diferentes grupos e técnicas laboratoriais, e nas condições em que o mesmo foi realizado, conclui-se que:

1. Os cães com doença hepática apresentam anemia e discreta trombocitopenia e neutrofilia.
2. O nível sérico do colesterol em cães com doença hepática ativa e colestase, não é um marcador sensível, na detecção de alteração no metabolismo de lipídeos.
3. O nível sérico de triglicerídeos aumenta em cães com doença hepática ativa.
4. Cães com doença hepática ativa, mas sem perda da função hepática apresentam diminuição de HDL e aumento de VLDL e LDL.
5. Cães com doença hepática apresentam valor de Lp(a) maior que cães hígidos.
6. A avaliação do perfil lipoprotéico é mais sensível que do perfil lipídico na detecção das alterações do metabolismo de lipídeos em cães com doença hepática.
7. O perfil lipoprotéico é mais precoce que a albumina na detecção da disfunção hepática em cães.
8. Para o aparelho Accutrend GCT[®] - Roche (química seca com sangue total fresco) existe a necessidade de valores de referência específicos, e não possui a sensibilidade adequada na mensuração do nível sérico de triglicerídeos.

9. A eletroforese de lipoproteínas em gel de agarose é mais sensível que a bioquímica sérica, demonstrando alterações no perfil qualitativo e quantitativo das frações das lipoproteínas em cães com doença hepática.
10. Na avaliação dos lipídeos e lipoproteínas em cães com doença hepática deve-se preconizar a realização do perfil bioquímico associado a eletroforese de lipoproteínas.

7 Referências*

BACHORIK, P.S.; RIFKIND, B.M.; KWITEROVICH JR, P.O. Lipídeos e dislipoproteinemias. In: HENRY, J.B. (Ed.). **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 19.ed. São Paulo : Manole, 1999. p.208-236.

BACHORIK, P.S.; DENKE, M.A.; STEIN, E.A.; RIFKIND, B.M. Lipidis and dyslipoproteinemia. In: HENRY, J.B. (Ed.). **Clinical diagnosis and management by laboratory methods**. 20.ed. Philadelphia : W.B. Saunders company, 2001. p.224-248.

BARCELLINI, A.; MARTINEZ, T.L.R. Lipídeos plasmáticos. In: GUIMARÃES, R.X.; GUERRA, C.C.C. (Eds.). **Clínica e laboratório interpretação clínica das provas laboratoriais**. 4.ed. São Paulo : Sarvier, 1990. p.7-18.

BARON, R.B. Lipid abnormalities. In: TIERNEY JR, L.M.; McPHEE, S.J.; PAPADAKIS, M.A. (Eds.). **Current medical diagnosis & treatment 2003**. 42.ed. New York : McGraw-Hill, 2003. p.1199-1211.

BARRIE, J.; WATSON, T.D.G.; STEAR, M.J.; NASH, A.S. Plasma cholesterol and lipoprotein concentrations in the dog: the effects of age, breed, gender and endocrine disease. **J. Small Anim. Pract.**, v.34, p.507-512, 1993.

BASS, V.D.; HOFFMANN, V.E.; DORNER, J.L. Normal canine lipid profiles and effects of experimentally induced pancreatitis and hepatic necrosis on lipids. **Am. J. Vet. Res.**, v.37, n.11, p.1355-1357, 1976.

BAUER, J.E. Evaluation and dietary considerations in idiopathic hyperlipidemia in dogs. **JAVMA**, v.206, n.11, p.1684-1688, 1995.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023** : informação e documentação - Referências - Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.
NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **List of journals indexed in Index Medicus**. Washington, 1997. 240p.

BEAUDEUX, J.; PEYNET, J.; FLOURIE, F.; KEDDAD, K.; DELATTRE, J.; ROUSSELET, F.; LEGRAND, A. Discrepancies between lipoprotein(a) concentrations in icteric sera measured by immunonephelometry and electroimmunodiffusion. **Clin. Biochem.**, v.27, n.1, p.7-11, 1994.

BOLTON, C.H. Lipid disorders. In: HOLTON, J.B. (Ed.). **The inherited metabolic diseases**. 2.ed. New York : Churchill Livingstone, 1994. p.461-489.

BORGES, D.R. Exames bioquímicos e hematológicos. In: KALIL, A.N.; COELHO, J.; STRAUSS, E. (Eds.). **Fígado e vias biliares: clínica e cirurgia**. Rio de Janeiro : Revinter, 2001. p.11-18.

BORGES, D.R. Testes hepáticos e testes de função hepática. In: MINCIS, M. (Ed.) **Gastroenterologia & hepatologia: diagnóstico e tratamento**. 3.ed. São Paulo : Editorial Lemos, 2002. p.595-604.

BRUSS, M.L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W. (Eds.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego : Academic Press, 1997. p.83-115.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística princípios e aplicações**. Porto Alegre : Artmed, 2003. 255p.

CENTER, S.A. Diagnostic procedures for evaluation of hepatic disease. In: GUILFORD, W.G.; CENTER, S.A.; STROMBECK, D.R.; WILLIAMS, D.A.; MEYER, D.J. (Eds.). **Strombeck's small animal gastroenterology**. 3.ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1996. p.130-188.

CENTER, S.A. Fisiopatologia, diagnóstico laboratorial e afecções do fígado. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds.). **Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e do gato**. 4.ed. São Paulo : Manole, 1997. v.2, p.1745-1816.

CHAIT, A.; BRUNZELL, J.D. Chylomicronemia syndrome. **Adv. Intern. Med.**, v.37, p.249-273, 1991.

COLICHON, Y.A.; TOREZAN FILHO, M.A.; STRAUSS, E. Métodos diagnósticos: provas de função hepática. In: GAYOTTO, L.C.C.; ALVES, V.A.F. (Eds.). **Doenças do fígado e vias biliares**. São Paulo : Atheneu, 2001. v.1, p.139-150.

COOPER, A.D. Role of the liver in the degradation of lipoproteins. **Gastroenterology**, v.88, p.192-205, 1985.

COOPER, A.D.; ELLSWORTH, J.L. Lipoprotein metabolism. In: ZAKIM, D.; BOYER, T.D. (Eds.). **Hepatology: a textbook of liver disease**. 3.ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1996. v.1, p.92-130.

CRISPIN, S.M.; BOLTON, C.H.; DOWNS, L.G. Plasma lipid and lipoprotein profile of working and pet border collies. **Vet. Rec.**, v.130, p.185-186, 1992.

DELGADO, M.; TORRES, M.A.; BELLOD, P.; RUBIO, M.J.; AZPEITIA, J.G.; NUÑO, J. OYA, M. Hipertrigliceridemias. **Rev. Clín. Esp.**, v.177, n.5, p.203-208, 1985.

DOWNS, L.G.; BOLTON, C.H.; CRISPIN, S.M.; WILLS, J.M. Plasma lipoprotein lipids in five different breeds of dogs. **Res. Vet. Sci.**, v.54, p.63-67, 1993.

DOWNS, L.G.; CRISPIN, S.M.; LeGRANDE-DEFRETIN, V.; PÉREZ-CAMARGO, G.; McCAPPIN, T.; BOLTON, C.H. The effect of dietary changes on plasma lipids and lipoproteins of six labrador retrievers. **Res. Vet. Sci.**, v.63, p.175-181, 1997a.

DOWNS, L.G.; CRISPIN, S.M.; LeGRANDE-DEFRETIN, V.; PÉREZ-CAMARGO, G.; McCAPPIN, T.; BOLTON, C.H. The influence of lifestyles and diet on the lipoprotein profile of border collies. **Res. Vet. Sci.**, v.63, p.35-42, 1997b.

DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. Aparelho digestório. In:_____. **Tratado de anatomia veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro : Elsevier, 2004. p.99-145.

ELLIOT, D.A. Dietary and medical considerations in hyperlipidemia. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds.). **Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat**. 6.ed. Missouri : Elsevier Saunders, 2005. v.1, p.592-595.

ELLIOT, D.A. Distúrbios do metabolismo. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. (Eds.). **Medicina interna de pequenos animais**. 3.ed. Rio de Janeiro : Elsevier, 2006. p.781-792.

ENGELKING, L.R.; ANWER, M.S. Liver and biliary tract. In: ANDERSON, N.V.; SHERDING, R.G.; MERRIT, A.M.; WHITLOCK, R.H. (Eds.). **Veterinary gastroenterology**. 2.ed. Pennsylvania : Lea & Febiger, 1992. p.211-274.

FILHO, J.G. Anatomia, fisiologia e anomalias congênitas do fígado. In: CASTRO, L.P.; COELHO, L.G.V. (Eds.). **Gastroenterologia**. Rio de Janeiro : Medsi, 2004. v.2, p.1641-1660.

FISCHBACH, F. Exames bioquímicos. In:_____. **Manual de enfermagem: Exames laboratoriais & diagnósticos**. 6.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2002. p.168-247.

FORD, R.B. Hiperlipidemia canina. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds.). **Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e do gato**. 4.ed. São Paulo : Manole, 1997. v.2, p.1957-1963.

FRIEDMAN, L.S.; MARTIN, P.; MUNÓZ, S.J. Liver function tests and the objective evaluation of the patient with liver disease. In: ZAKIM, D.; BOYER, T.D. (Eds.). **Hepatology: a textbook of liver disease**. 3.ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1996, v.1, p.791-833.

FUENTEALBA, C.; GUEST, S.; HAYWOOD, S.; HORNEY, B. Chronic hepatitis: a retrospective study in 34 dogs. **Can. Vet. J.**, v.38, p.365-373, 1997.

GUIMARÃES, R.X. Provas laboratoriais nas doenças hepatobiliares. In: GUIMARÃES, R.X.; GUERRA, C.C.C. (Eds.). **Clínica e laboratório interpretação clínica das provas laboratoriais**. 4.ed. São Paulo : Sarvier, 1990. p.188-211.

HALL, R.L. Laboratory evaluation of liver disease. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.15, n.1, p.3-19, 1985.

HESS, P.R.; BUNCH, S.E. Diagnostic approach to hepatobiliary disease. In: BONAGURA, J.D. (Ed.). **Kirk's current veterinary therapy XIII: small animal practice**. 13.ed. Philadelphia : W. B. Saunders, 2000. p.659-664.

JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 4.ed. Philadelphia : Lea & Febinger, 1986. 1221p.

JAIN, N.C. Comparative hematology of common domestic animals. In:_____. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia : Lea & Febinger, 1993. p.19-53.

JEUSETTE, I.C.; LHOEST, E.T.; ISTASSE, L.P.; DIEZ, M.O. Influence of obesity on plasma lipid and lipoprotein concentrations in dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v.66, p.81-86, 2005.

JOHNSON, S.E. Insuficiência hepática aguda. In: KIRK, R.W. (Ed.). **Atualização terapêutica veterinária: pequenos animais**. 9.ed. São Paulo : Manole, 1988. v.2, p.1194-1204.

JOHNSON, S.E. Liver and biliary tract. In: ANDERSON, N.V.; SHERDING, R.G.; MERIT, A.M.; WHITLOCK, R.H. (Eds.). **Veterinary gastroenterology**. 2.ed. Pennsylvania : Lea & Febiger, 1992. p.504-569.

JOHNSON, S.E.; SHERDING, R.G. Hepatopatias e doenças do trato biliar. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING R.G. (Eds.). **Manual Saunders: clínica de pequenos animais**. São Paulo : Roca, 1998. p.812-856.

JONES, B.R.; WALLACE, A.; HARDING, D.R.K.; HANCOCK, W.S.; CAMPBELL, C.H. Occurrence of idiopathic, familial hyperchylomicronemia in a cat. **Vet. Rec.**, v.112, p.543-547, 1983.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Appendixes. In:_____. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego : Academic Press, 1997. p.885-905.

KAPLAN, M.M. Laboratory tests. In: SCHIFF, L.; SCHIFF, E.R. (Eds.). **Diseases of the liver**. 7.ed. Philadelphia : J.B. Lippincott Company, 1993. v.1, p.108-144.

MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Appendix: reference intervals and conversion tables. In:_____. **Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis**. 2.ed. Philadelphia : W. B. Saunders, 1998. p.343-359.

MIES, S.; ALFIERI JR, F. Anatomia e fisiologia do fígado. In: KALIL, A.N.; COELHO, J.; STRAUSS, E. (Eds.). **Fígado e vias biliares: clínica e cirurgia**. Rio de Janeiro : Livraria e Editora Revinter Ltda, 2001. p.3-10.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Doenças hepatobiliares no cão. In:_____. **Medicina interna de pequenos animais**. 3.ed. Rio de Janeiro : Elsevier, 2006. p.507-525.

PEREIRA, L.B.; FILHO, R.M.; ALENCAR, L.C.A. Testes de função hepática. In: CASTRO, L.P.; COELHO, L.G.V. (Eds.). **Gastroenterologia**. Rio de Janeiro : Medsi, 2004. v.2, p.1661-1667.

PEREIRA-LIMA, J.; PEREIRA-LIMA, J.C. Colestase. In: MINCIS, M. (Ed.). **Gastroenterologia & hepatologia: diagnóstico e tratamento**. 3.ed. São Paulo : Editorial Lemos, 2002. p.615-634.

PINCUS, M.R.; SCHAFFNER, J.A. Avaliação da função hepática. In: HENRY, J.B. (Ed.). **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 19.ed. São Paulo : Manole, 1999. p.253-267.

QUINN, D.; SHIRAI, K.; JACKSON, R.L. Lipoprotein lipase: mechanism of action and role in lipoprotein metabolism. **Prog. Lipid. Res.**, v.22, p.35-78, 1982.

REBAR, A.H.; MACWILLIAMS, P.S.; FELDMAN, B.F.; METZGER JR, F.L.; POLLOCK, R.V.H.; ROCHE, J. **Guia de hematologia para cães e gatos**. São Paulo : Roca, 2003. 291p.

REBAR, A.H.; LEWIS, H.B.; DENICOLA, D.B.; HALLIWELL, W.H.; BOON, G.D. Red cell fragmentation in the dog: an editorial review. **Vet. Pathol.**, v.18, p.415-426, 1981.

ROGERS, W.A.; DONOVAN, E.F.; KOCIBA, G.J. Lipids and lipoproteins in normal dogs and in dogs with secondary hyperlipoproteinemia. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.166, p.1092-1100, 1975.

ROSEN, C.R.; PIMENTEL, S. Anatomia e fisiologia do fígado. In: COELHO, J.C.U. (Ed.). **Aparelho digestivo: clínica e cirurgia**. São Paulo : Atheneu, 2006. p.1185-1192.

ROTHUIZEN, J. Hepatopatias e doenças do trato biliar. In: DUNN, J.K. (Ed.). **Tratado de medicina de pequenos animais**. São Paulo : Roca, 2001. p.444-493.

SATO, K.; AGOH, H.; KANESHIGE, T.; HIKASA, Y.; KAGOTA, K. Hypercholesterolemia in shetland sheepdogs. **J. Vet. Med. Sci.**, v.62, n.12, p.1297-1301, 2000.

SCHAEFER, E.J.; LEVY, R.I. Pathogenesis and management of lipoprotein disorders. **N. Engl. J. Med.**, v.312, n.20, p.1300-1310, 1985.

SCHMIDT, C.; LOPES, M.D.; SILVA, M.C.; FIGHERA, R.A.; SOUZA, T.M. Perfil lipoprotéico de cadelas submetidas à ovário-histerectomia com e sem reposição estrogênica. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.56, n.4, p.449-456, 2004.

SHEPHERD, J.; PACKARD, C.J. The pathogenesis of hyperlipoproteinaemia. **Scott. Med. J.**, v.31, p.154-161, 1986.

SHERLOCK, S.; DOOLEY, J. Assessment of liver function. In:_____. **Diseases of the liver and biliary system**. 9.ed. London : Blackwell Scientific Publications, 1993. p.17-32.

SILVA, A.O.; CARDOZO, V.D.S.; ROCHA, B.S.; NÉSPOLI, P.R.; AIELLO, D.V.B.; RACY, D.J.; PEDROSO, M.H.N.I.; D'ALBUQUERQUE, L.A.C. Conduta diagnóstica em pacientes com doença hepatobiliar. In: DANI, R. (Ed.). **Gastroenterologia essencial**. 3.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2006. p.515-524.

SPÓSITO, A.C.; VINAGRE, C.G.; PANDULLO, F.L.; MIES, S.; RAIA, S.; RAMIRES, J.A.F. Apolipoprotein and lipid abnormalities in chronic liver failure. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.30, p.1287-1290, 1997.

STEIN, E.A.; MYERS, G.L. Lipídeos, apolipoproteínas e lipoproteínas. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. (Eds.). **Tietz fundamentos de química clínica**. 4.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1998. p.364-388.

STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. Enzymes. In:_____. **Fundamentals of veterinary clinical pathology**. Iowa : Blackwell Publishing Company, 2002. p.433- 459.

TENNANT, B.C. Hepatic function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W. (Eds.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego : Academic Press, 1997. p.327-352.

THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DeNICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WEISER, G. Avaliação laboratorial do fígado. In:_____. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo : Roca, 2007. p.335-354.

TILLEY, L.P.; SMITH, F.W.K. Diagnostics laboratory tests: lipids, hyperlipidemia. In: _____. **The 5-minute veterinary consult canine and feline**. 2.ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p.290-291.

TSUCHIYA, A.; HAGA, S.; WATANABE, O.; KUMAZAWA, K.; KAJIWARA, T. Experimental study on lipid and bilirubin metabolism after biliary drainage for obstructive jaundice. **J. Surg. Res.**, v.96, p.50-51, 2001.

WATSON, T.D.G.; BARRIE, J. Lipoprotein metabolism and hyperlipidaemia in the dog and cat: a review. **J. Small Anim. Pract.**, v.34, p.479-487, 1993.

WHITNEY, M.S.; BOON, G.D.; REBAR, A.H.; FORD, R.B. Effects of acute pancreatitis on circulating lipids in dog. **Am. J. Vet. Res.**, v.48, n.10, p.1492-1497, 1987.

XENOULIS, P.G.; SUCHODOLSKI, J.S.; LEVINSKI, M.D.; STEINER, J.M. Investigation of hypertriglyceridemia in healthy miniature schnauzers. **J. Vet. Intern. Med.**, v.21, p.1224-1230, 2007.

ZAWIE, D.A. Hepatite crônica nos doberman pinschers. In: KIRK, R.W. (Ed.). **Atualização terapêutica veterinária: pequenos animais**. 9.ed. São Paulo : Manole, 1988. v.2, p.1184-1187.

ZERBE, C.A. Hiperlipidemias caninas. In: KIRK, R.W. (Ed.). **Atualização terapêutica veterinária: pequenos animais**. 9.ed. São Paulo : Manole, 1988. v.2, p.1319-1329.

8 Anexos

Encontram-se a seguir os dados individuais dos animais, os resultados dos hemogramas, testes de perfil hepático, testes de perfil de lipídeos e lipoproteínas dos cães do Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia), utilizados no presente trabalho e suas respectivas médias e desvios-padrão.

Tabela 1. Dados individuais dos animais do Grupo I (controle).

Cão	1	2	3	4	5	6	7
Idade	Adulta	Adulta	Adulta	Adulta	Adulta	Adulta	Adulta
Sexo	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Raça	SRD	SRD	SRD	SRD	SRD	SRD	SRD

Cão	8	9	10	11	12	13	14
Idade	Adulta	Adulto	Adulta	Adulta	Adulto	Adulta	Adulto
Sexo	Fêmea	Macho	Fêmea	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho
Raça	SRD	SRD	SRD	SRD	SRD	SRD	SRD

Tabela 2. Dados individuais dos animais do Grupo II (hepatopatia).

Cão	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Idade	6 anos	11 anos	5 anos	10 anos	12 anos	6 anos	7 anos	8 anos	6 anos, 10 meses	4 anos
Sexo	Macho	Fêmea	Fêmea	Macho	Fêmea	Fêmea	Macho	Fêmea	Fêmea	Fêmea
Raça	SRD	SRD	SRD	Poodle	Poodle	SRD	SRD	Pastor Alemão	Boxer	Pitt Bull

Cão	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Idade	Adulta	12 anos	7 anos	7 anos	7 anos, 7 meses	5 anos	7 anos	8 anos	9 anos	12 anos
Sexo	Fêmea	Fêmea	Macho	Macho	Fêmea	Macho	Macho	Macho	Fêmea	Macho
Raça	SRD	Pastor Alemão	SRD	SRD	Cocker Spaniel	SRD	Pinscher	SRD	SRD	Pastor Alemão

Tabela 3. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) da contagem total de hemácias/ μL , dos níveis de hemoglobina (g/dL), volume globular (%), volume corpuscular médio (fL), concentração de hemoglobina corpuscular média (%), contagem de metarrubríctos/100 leucócitos, contagem de plaquetas/ μL e proteína plasmática total (g/dL) dos cães do Grupo I (controle).

Cão	Hemácias/ μL	Hemoglobina (g/dL)	Volume Globular (%)	Volume Corpuscular Médio (fL)	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (%)	Metarrubríctos/100 leucócitos	Plaquetas/ μL	Proteína Plasmática Total (g/dL)
1	7.940.000	17,3	51	64,23	33,92	0	195.000	6,2
2	7.390.000	17,7	48	64,95	36,87	0	180.000	7,0
3	6.280.000	14,7	42	66,87	35,00	0	320.000	6,2
4	7.920.000	17,5	51	64,39	34,31	0	195.000	7,4
5	8.310.000	18,4	49	58,96	37,55	0	285.000	6,4
6	6.530.000	18,5	51	78,10	36,27	0	240.000	7,4
7	6.520.000	18,8	51	78,22	36,86	0	255.000	7,0
8	7.410.000	18,6	52	70,17	35,76	0	210.000	6,8
9	6.130.000	15,4	46	75,04	33,47	0	270.000	6,4
10	6.750.000	16,4	49	72,59	33,46	0	240.000	6,4
11	6.540.000	14,0	41	62,69	34,14	0	265.000	7,0
12	7.670.000	18,4	52	67,79	35,38	0	205.000	7,0
13	7.130.000	15,8	46	64,51	34,34	0	210.000	6,4
14	6.140.000	15,3	43	70,03	35,58	0	270.000	7,8
Média	7.047.143	16,9	48	68,47	35,21	0	238.571	6,8
DP	730.715	1,6	4	5,84	1,33	0	40.876	0,5

Tabela 4. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) da contagem total de hemácias/ μL , dos níveis de hemoglobina (g/dL), volume globular (%), volume corpuscular médio (fL), concentração de hemoglobina corpuscular média (%), contagem de metarrubríctos/100 leucócitos, contagem de plaquetas/ μL e proteína plasmática total (g/dL) dos cães do Grupo II (hepatopatia).

Cão	Hemácias/ μL	Hemoglobina (g/dL)	Volume Globular (%)	Volume Corpuscular Médio (fL)	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (%)	Metarrubríctos/100 leucócitos	Plaquetas/ μL	Proteína Plasmática Total (g/dL)
1	6.680.000	12,7	40	59,88	31,75	0	53.025	9,8
2	5.960.000	13,1	41	68,79	31,95	3	155.000	9,0
3	3.990.000	9,0	26	65,16	34,61	0	285.000	8,0
4	6.800.000	16,7	46	67,64	36,30	0	181.800	7,6
5	4.900.000	10,9	31	63,26	35,16	0	424.400	7,8
6	6.130.000	14,0	39	63,62	35,89	0	310.000	7,4
7	5.710.000	16,0	43	75,30	37,20	0	78.275	4,8
8	4.390.000	10,6	32	72,89	33,12	2	101.000	4,8
9	4.950.000	13,4	38	76,76	35,26	0	68.175	6,8
10	5.700.000	13,4	38	66,66	35,26	0	240.000	6,4
11	5.920.000	14,5	42	70,94	34,52	0	165.000	8,0
12	5.090.000	10,9	34	66,79	32,05	0	320.000	8,8
13	2.740.000	7,3	21	76,64	34,76	6	185.000	7,4
14	1.550.000	6,4	14	90,32	45,71	27	78.275	8,6
15	1.080.000	4,3	12	111,11	35,83	9	210.000	8,0
16	3.640.000	8,2	24	65,93	34,16	1	195.000	6,4
17	5.880.000	14,0	39	66,32	35,89	0	335.000	6,4
18	4.960.000	11,2	33	66,53	33,93	7	160.000	6,4
19	4.820.000	10,3	29	60,16	35,51	1	101.000	5,8
20	5.820.000	12,8	36	61,85	35,55	0	285.000	6,6
Média	4.835.500	11,5	33	70,83	35,22	3	196.548	7,2
DP	1.567.430	3,2	9	11,84	2,88	6	103.781	1,3

Tabela 5. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) da contagem total de leucócitos/ μL , contagem absoluta de neutrófilos/ μL , bastonetes/ μL , linfócitos/ μL , eosinófilos/ μL , basófilos/ μL e monócitos/ μL dos cães do Grupo I (controle).

Cão	Leucócitos/ μL	Neutrófilos/ μL	Bastonetes/ μL	Linfócitos/ μL	Eosinófilos/ μL	Basófilos/ μL	Monócitos/ μL
1	8.600	4.300	0	2.064	1.376	0	860
2	8.900	4.539	0	2.225	1.513	178	445
3	9.100	5.733	0	1.001	1.911	91	364
4	15.400	10.626	0	3.234	924	0	616
5	10.900	5.886	0	1.308	3.488	109	109
6	6.300	4.284	0	1.260	378	0	378
7	8.700	3.828	0	3.045	1.044	0	783
8	7.200	3.528	0	2.304	1.080	144	144
9	9.200	5.612	0	2.668	644	92	184
10	6.000	2.940	0	2.100	420	0	540
11	12.100	6.413	0	2.783	2.299	242	363
12	10.200	6.120	0	1.836	1.428	0	816
13	9.300	5.394	0	2.511	1.116	0	279
14	6.820	5.183	0	818	409	0	409
Média	9.194	5.313	0	2.083	1.288	61	449
DP	2.477	1.848	0	757	849	82	245

Tabela 6. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) da contagem total de leucócitos/ μL , contagem absoluta de neutrófilos/ μL , bastonetes/ μL , linfócitos/ μL , eosinófilos/ μL , basófilos/ μL e monócitos/ μL dos cães do Grupo II (hepatopatia).

Cão	Leucócitos/ μL	Neutrófilos/ μL	Bastonetes/ μL	Linfócitos/ μL	Eosinófilos/ μL	Basófilos/ μL	Monócitos/ μL
1	7.300	4.964	0	876	146	0	1.314
2	7.669	6.211	0	230	0	0	1.227
3	14.600	11.680	146	1.314	0	0	1.460
4	4.300	2.666	0	860	344	0	430
5	18.800	16.356	0	564	376	0	1.504
6	6.300	5.040	0	378	63	0	819
7	19.900	17.910	0	597	0	0	1.393
8	40.686	37.024	406	406	0	0	2.848
9	7.000	5.810	0	910	0	0	280
10	6.500	5.395	0	715	195	65	130
11	10.400	5.616	104	3.640	624	104	312
12	12.800	10.240	0	384	896	0	1.280
13	16.981	12.396	0	1.867	1.867	0	849
14	54.803	52.062	0	1.644	0	0	1.096
15	24.128	18.337	965	3.619	0	0	1.206
16	10.198	7.954	0	407	407	0	1.427
17	6.200	4.030	0	1.364	372	0	434
18	4.859	3.790	97	194	0	0	777
19	14.356	11.628	0	0	143	0	2.584
20	36.800	29.808	0	1.840	736	368	4.048
Média	16.229	13.446	86	1.090	308	27	1.271
DP	13.542	12.758	228	1.025	457	85	955

Tabela 7. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) dos níveis de ALT (alanina aminotransferase) (UI/L), AST (aspartato aminotransferase) (UI/L), FA (fosfatase alcalina) (UI/L), GGT (gama-glutamilttransferase) (UI/L), PT (proteína total) (sérica) (g/dL), albumina (g/dL) e globulinas (g/dL) dos cães do Grupo I (controle).

Cão	ALT (UI/L)	AST (UI/L)	FA (UI/L)	GGT (UI/L)	PT (sérica) (g/dL)	Albumina (g/dL)	Globulinas (g/dL)
1	39,8	30	70,5	1,0	6,8	3,7	3,1
2	39,8	26	117,4	1,4	7,3	3,7	3,6
3	26,2	16	92,3	1,4	7,0	3,3	3,7
4	28,3	16	111,8	2,1	7,4	3,3	4,1
5	21,0	30	47,0	2,1	6,6	2,9	3,7
6	42,4	26	64,0	1,0	7,2	3,7	3,5
7	43,0	26	47,8	1,0	6,8	3,5	3,3
8	29,9	24	55,1	2,1	6,9	3,6	3,3
9	26,2	46	94,0	1,0	6,7	3,3	3,4
10	49,2	23	118,3	1,4	6,4	3,5	2,9
11	32,5	31	78,6	1,0	6,9	3,3	3,6
12	25,1	19	115,8	1,4	6,9	3,4	3,5
13	35,1	25	62,4	1,0	7,0	3,2	3,8
14	49,8	21	119,9	1,0	7,1	3,4	3,7
Média	34,9	26	85,4	1,4	6,9	3,4	3,5
DP	9,2	8	27,9	0,4	0,3	0,2	0,3

Tabela 8. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) dos níveis de ALT (alanina aminotransferase) (UI/L), AST (aspartato aminotransferase) (UI/L), FA (fosfatase alcalina) (UI/L), GGT (gama-glutamilttransferase) (UI/L), PT (proteína total) (sérica) (g/dL), albumina (g/dL) e globulinas (g/dL) dos cães do Grupo II (hepatopatia).

Cão	ALT (UI/L)	AST (UI/L)	FA (UI/L)	GGT (UI/L)	PT (sérica) (g/dL)	Albumina (g/dL)	Globulinas (g/dL)
1	120,0	34	397,7	4,2	9,2	2,7	6,5
2	835,5	209	2.765,0	51,6	8,4	2,9	5,5
3	565,5	186	794,6	42,3	7,8	2,0	5,8
4	118,4	31	133,6	7,7	7,6	3,4	4,2
5	573,5	440	5.400,0	98,2	6,3	3,0	3,3
6	235,7	28	447,2	9,1	7,4	3,9	3,5
7	953,5	310	1.079,0	13,4	5,3	3,1	2,2
8	275,0	505	646,4	4,9	3,4	1,5	1,9
9	198,5	197	1.336,6	3,5	6,2	2,2	4,0
10	214,2	38	395,2	2,1	6,0	2,2	3,8
11	534,5	131	831,0	2,8	7,7	3,3	4,4
12	406,0	79	499,0	4,9	8,1	3,2	4,9
13	122,0	49	620,4	4,2	7,6	2,6	5,0
14	639,0	895	2.560,0	74,0	7,3	2,7	4,6
15	193,3	86	244,6	4,2	7,8	3,2	4,6
16	106,9	32	755,0	3,5	6,1	2,1	4,0
17	258,2	36	113,4	4,9	6,5	3,7	2,8
18	513,5	730	1.855,0	11,2	5,4	2,0	3,4
19	100,6	46	162,0	2,1	4,7	1,8	2,9
20	112,6	32	448,8	3,1	6,3	2,9	3,4
Média	353,8	205	1.074,2	17,6	6,8	2,7	4,0
DP	258,8	251	1.265,9	27,1	1,4	0,7	1,2

Tabela 9. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) dos níveis de colesterol (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL), HDL (lipoproteína de alta densidade) (mg/dL), VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) (mg/dL) e LDL (lipoproteína de baixa densidade) (mg/dL), determinados pela bioquímica sérica dos cães do Grupo I (controle).

Cão	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	HDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)
1	145	52	120	10,4	14,6
2	162	45	127	9,0	26,0
3	257	56	139	11,2	106,8
4	189	30	142	6,0	41,0
5	166	34	126	6,8	33,2
6	165	36	139	7,2	18,8
7	144	25	128	5,0	11,0
8	169	28	140	5,6	23,4
9	176	32	130	6,4	39,6
10	177	25	134	5,0	38,0
11	163	29	128	5,8	29,2
12	179	29	120	5,8	53,2
13	174	39	134	7,8	32,2
14	243	51	150	10,2	82,8
Média	179	37	133	7,3	39,3
DP	32	10	9	2,1	26,5

Tabela 10. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) dos níveis de colesterol (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL), HDL (lipoproteína de alta densidade) (mg/dL), VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) (mg/dL) e LDL (lipoproteína de baixa densidade) (mg/dL), determinados pela bioquímica sérica dos cães do Grupo II (hepatopatia).

Cão	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	HDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)
1	120	30	93	6,0	21,0
2	206	67	98	13,4	94,6
3	214	56	85	11,2	117,8
4	102	30	99	6,0	34,0
5	251	78	110	15,6	125,4
6	176	42	133	8,4	34,6
7	124	81	66	16,2	41,8
8	60	60	30	12,0	18,0
9	230	54	113	10,8	106,2
10	121	56	79	11,2	30,8
11	170	29	126	5,8	38,2
12	330	68	150	13,6	166,4
13	243	46	76	9,2	157,8
14	96	293	40	58,6	17,0
15	234	48	143	9,6	81,4
16	234	66	121	13,2	99,8
17	100	35	97	7,0	37,0
18	188	479	89	95,8	44,0
19	191	46	129	9,2	52,8
20	212	70	114	14,0	84,0
Média	180	87	100	17,3	70,1
DP	68	108	32	21,6	46,7

Tabela 11. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) dos níveis de colesterol (mg/dL) e triglicerídeos (mg/dL) dos cães do Grupo I (controle), determinados pela química seca com sangue total fresco.

Cão	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)
1	162	107
2	173	103
3	291	108
4	209	99
5	170	96
6	187	108
7	160	70
8	177	70
9	194	82
10	202	70
11	197	70
12	204	74
13	193	91
14	272	101
Média	199	89
DP	38	16

Tabela 12. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) dos níveis de colesterol (mg/dL) e triglicerídeos (mg/dL) dos cães do Grupo II (hepatopatia), determinados pela química seca com sangue total fresco.

Cão	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)
1	150	70
2	226	124
3	230	204
4	150	98
5	282	107
6	196	84
7	150	136
8	150	70
9	254	105
10	150	89
11	186	90
12	300	79
13	277	70
14	150	281
15	250	82
16	285	109
17	150	87
18	223	478
19	232	70
20	240	106
Média	212	127
DP	54	97

Tabela 13. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) do HDL (lipoproteína de alta densidade) (%), Lp(a) (lipoproteína (a)) (%), VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) (%) e LDL (lipoproteína de baixa densidade) (%) dos cães do Grupo I (controle), mensurados pela eletroforese de lipoproteínas.

Cão	HDL (%)	Lp(a) (%)	VLDL (%)	LDL (%)
1	71,2	1,6	23,2	4,0
2	73,5	0,0	21,8	4,7
3	63,6	0,0	19,2	17,2
4	73,7	0,0	9,9	16,4
5	72,7	0,0	7,9	19,4
6	95,7	0,0	1,8	2,5
7	94,6	0,0	1,1	4,3
8	95,5	0,0	2,2	2,3
9	50,0	19,9	16,9	13,2
10	74,5	10,1	10,6	4,8
11	65,6	0,0	15,3	19,1
12	62,2	0,0	17,7	20,1
13	65,7	0,0	11,6	22,7
14	62,1	0,0	16,1	21,8
Média	72,9	2,3	12,5	12,3
DP	13,7	5,7	7,3	8,0

Tabela 14. Valores individuais, médias e desvios-padrão (DP) do HDL (lipoproteína de alta densidade) (%), Lp(a) (lipoproteína (a)) (%), VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) (%) e LDL (lipoproteína de baixa densidade) (%) dos cães do Grupo II (hepatopatia), mensurados pela eletroforese de lipoproteínas.

Cão	HDL (%)	Lp(a) (%)	VLDL (%)	LDL (%)
1	49,0	0,0	17,3	33,7
2	31,8	14,9	27,9	25,4
3	19,0	0,0	52,8	28,2
4	78,0	0,0	5,2	16,8
5	24,8	17,4	40,2	17,6
6	71,4	0,0	9,4	19,2
7	63,4	3,5	16,4	16,7
8	70,1	0,0	1,2	28,7
9	57,8	0,0	25,4	16,8
10	70,2	0,0	7,0	22,8
11	56,0	20,1	16,3	7,6
12	35,4	18,2	25,0	21,4
13	25,4	0,0	41,7	32,9
14	18,7	0,0	31,0	50,3
15	39,1	25,0	18,7	17,2
16	36,2	9,8	28,0	26,0
17	68,2	0,0	11,0	20,8
18	31,1	0,0	5,3	63,6
19	72,5	0,0	25,3	2,2
20	33,1	0,0	38,5	28,4
Média	47,6	5,4	22,2	24,8
DP	20,2	8,6	14,0	13,6

9 Trabalho científico

Trabalho a ser enviado para a revista ciência rural.

Perfis hematológico, hepático, lipídico e lipoprotéico de cães com doença hepática.

Hematologic, hepatic, lipids and lipoproteins profiles in dogs with liver disease.

Eunice Akemi Kitamura¹ Danielle Passarelli² Luciano Barbosa³ Regina Kiomi Takahira⁴

RESUMO

A doença hepática é frequentemente incluída como diagnóstico diferencial dos casos atendidos na clínica médica de pequenos animais. Os cães com suspeita de doença hepática podem apresentar sinais clínicos específicos e/ou inespecíficos e possuir característica de doença aguda ou crônica. Os exames laboratoriais auxiliam na identificação de lesão dos hepatócitos, colestase ou perda da função hepática, o perfil hepático pode ser avaliado por meio de diversos testes, inclusive avaliando o metabolismo de lipídeos e lipoproteínas, pois uma das funções do fígado é o metabolismo de lipídeos. O presente trabalho teve por objetivo avaliar os perfis hematológico, hepático, lipídico e lipoprotéico de cães com doença hepática. Foram utilizados 34 cães, adultos, machos e fêmeas, divididos em dois grupos, sendo: Grupo I (controle) e Grupo II (hepatopatia), e submetidos a jejum alimentar superior a 12 horas para a realização dos exames do perfil lipídico e lipoprotéico. Na avaliação hematológica do Grupo

¹ Médica Veterinária, Doutoranda do Depto. de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), 18618-000, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: eakitamura@yahoo.com.br Autor para correspondência.

² Médica Veterinária, Residente do Depto. de Clínica Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP.

³ Matemático, Prof. Ass. Dr. do Depto. de Bioestatística, IBB, UNESP, Botucatu, SP.

⁴ Médica Veterinária, Profa. Ass. Dra. da Área de Patologia Clínica Veterinária, Depto. de Clínica Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP.

II (hepatopatia) observou-se anemia e discreta trombocitopenia e neutrofilia; o perfil hepático demonstrou presença de lesão ativa em hepatócitos, associado a colestase e ausência de insuficiência hepática; o perfil lipídico revelou colesterol sérico normal e aumento do valor de triglicerídeos; e no perfil lipoprotéico observou-se diminuição de HDL e aumento de VLDL e LDL. A avaliação do perfil lipoprotéico é mais sensível, que o perfil lipídico na detecção de alterações no metabolismo de lipídeos, e também é mais precoce que a albumina na detecção da disfunção hepática em cães.

Palavras-chave: cão; doença hepática; hematologia; lipídeos; lipoproteínas.

ABSTRACT

Liver disease is frequently included as a differential diagnosis of clinical cases attended at small animals clinics. Dogs presenting a suspected case of liver disease can show specific and/or unspecific clinical signs and reveal characteristics of acute or chronic disease. The laboratory profile is useful in the identification of hepatocellular lesions, colestasis or loss of the hepatic function; the hepatic profile can be composed by several tests, including the evaluation of the metabolism of lipids and lipoproteins, since one of the liver functions is the metabolism of lipids. The objective of the present work was to evaluate the lipids and lipoproteins profile of dogs with liver disease. Thirty-four adult dogs, males and females were divided in two groups: Group I (control) and Group II (liver disease), and were submitted to a 12 hours fasting period previously to the lipid and lipoprotein profiles. In the Group II (liver disease) hematological evaluation revealed anemia, mild thrombocytopenia and neutrophilia; the hepatic profile demonstrated lesion in hepatocytes, associated with colestasis and absence of hepatic insufficiency; the profile lipid revealed cholesterol normal and increase of the

triglycerides value and in the profile lipoprotein; it was observed decrease of HDL and increase of VLDL and LDL. The evaluation of the lipoprotein profile is more sensitive, that the lipid profile in the detection of alterations in the lipids metabolism; and it is also more precocious than the albumin in the detection of the hepatic dysfunction in dogs.

Key words: dog; liver disease; hematology; lipids; lipoproteins

INTRODUÇÃO

Avaliar um paciente com suspeita de doença hepatobiliar primária raramente é um processo simples porque não existe atualmente um único teste diagnóstico que possua sensibilidade e especificidade perfeitas (HESS & BUNCH, 2000). Desta forma torna-se necessário, ao tentar avaliar a função hepato-celular, utilizar um conjunto abrangente de testes laboratoriais. As alterações hematológicas associadas à doença hepática incluem a ocorrência de anemia, morfologia anormal dos eritrócitos, redução do número ou função das plaquetas e detecção de plasma ictérico ou lipêmico (CENTER, 1997).

Nos testes de bioquímica sérica, as aminotransferases são indicadores que refletem a lesão hepato-celular e dentre os testes de perfil hepático, as mesmas são as mais solicitadas, sendo a ALT (alanina aminotransferase) e AST (aspartato aminotransferase) as mais frequentemente mensuradas. O aumento sérico da atividade da FA (fosfatase alcalina) foi descrita em várias doenças em cães associadas com a colestase. A GGT (gama glutamiltransferase) é considerada um marcador sérico principalmente nas doenças do sistema hepatobiliar associada com colestase e a sua utilização é comum para o diagnóstico de doenças hepáticas (TENNANT, 1997). A concentração sérica das proteínas totais é influenciada pelas hepatopatias por diversos modos. A deficiência da síntese pode estar

associada à redução da capacidade hepática de síntese de albumina, fibrinogênio, proteínas da coagulação e globulinas, demonstrando a perda de função (CENTER, 1997).

O fígado é também muito importante na produção e metabolismo dos lipídeos e das lipoproteínas plasmáticas, exercendo um papel central na regulação da síntese, degradação e armazenamento dos mesmos, sendo a principal fonte das lipoproteínas plasmáticas com exceção dos quilomícrons, que são sintetizados pelo intestino. Anormalidades na concentração plasmática de lipídeos e lipoproteínas são freqüentes na doença hepática (FRIEDMAN et al., 1996). As lipoproteínas são classificadas em cinco classes principais de acordo com a densidade: quilomícrons, VLDL (*very low density lipoprotein*), IDL (*intermediate density lipoprotein*), LDL (*low density lipoprotein*) e HDL (*high density lipoprotein*) (STEIN & MYERS, 1998). O principal responsável pela síntese do colesterol e pela sua excreção para o organismo é o fígado, sendo os ácidos biliares produzidos a partir do colesterol. A doença hepática pode provocar tanto o aumento quanto a diminuição da concentração sérica de colesterol (HALL, 1985; JOHNSON, 1992).

Na literatura médica veterinária existe um limitado número de trabalhos científicos avaliando o perfil lipídico e lipoprotéico em cães, e quando se trata da associação da mesma com a doença hepática, a escassez de dados epidemiológicos, clínicos, laboratoriais, terapêuticos e prognóstico, torna-se mais crítica. Apesar da semelhança no metabolismo de lipídeos e lipoproteínas entre o cão e o homem, existem particularidades inter-espécies, diante disto a avaliação das mesmas deve ser realizada de forma mais criteriosa, preferencialmente utilizando-se como referência a literatura médica veterinária. A ausência de valores de referência, de exames laboratoriais como das lipoproteínas séricas (HDL, VLDL e LDL) para o cão impedem muitas vezes a solicitação da análise das mesmas, devido à dificuldade de interpretação, prejudicando e dificultando a conduta clínica, terapêutica e o prognóstico. O

presente trabalho teve como objetivo avaliar os perfis hematológico, hepático, lipídico e lipoprotéico de cães com doença hepática.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 34 cães, adultos, machos e fêmeas, aparentemente não obesos ou com sobrepeso, sem suspeita de endocrinopatias, sem histórico de tratamento com corticosteróides, anticonvulsivantes, anestésicos, tranquilizantes, nutrição parenteral ou enteral, soluções eletrolíticas com glicose em sua composição e sem história clínica e sinais de prenhez ou estro e foram excluídos os cães de raças predispostas a dislipidemias como o Schnauzer Miniatura.

Constituíram-se dois grupos, sendo: Grupo I (controle) com 14 cães hígidos e ALT inferior a 58 UI/L, dentro dos valores de referência para a espécie, e Grupo II (hepatopatia) com 20 cães com suspeita de doença hepática e ALT superior a 100 UI/L, acima do valor de referência para a espécie (MEYER & HARVEY, 1998). Todos os cães foram submetidos a jejum alimentar superior a 12 horas para a realização dos exames dos perfis lipídico (colesterol e triglicerídeos) e lipoprotéico (HDL, VLDL e LDL), anteriormente foram realizados os exames dos perfis hematológico e hepático. Os cães utilizados foram provenientes dos atendimentos do Hospital Veterinário da FMVZ - UNESP - Campus de Botucatu e do canil da mesma instituição.

A contagem do número total de hemácias e leucócitos foi realizada em contador semi-automático de células (Celm[®]-CC510). A determinação da hemoglobina foi realizada pelo método da cianometahemoglobina (Celm[®]-HB520) e o volume globular, pelo método do microhematócrito (MH-Celm[®]). As determinações da ALT, AST, FA e GGT, proteína total (sérica), foram realizadas por espectrofotometria (Celm[®] SB-190), com a utilização de kits

comerciais, e as globulinas, por meio da subtração do valor de albumina da proteína total (sérica).

O colesterol total, triglicerídeos e HDL-colesterol foram realizados pelo método enzimático colorimétrico em química seca, em aparelho automático (Vitros[®] Chemistry-950), e os valores de VLDL-colesterol e LDL-colesterol foram obtidos por meio do resultado da Fórmula de Friedwald, após a obtenção dos valores de colesterol total (C) e triglicerídeos (TG). A fórmula de Friedwald: $VLDL = TG \div 5$ e para $LDL = C - [HDL + VLDL]$ (FISCHBACH, 2002). Quando o valor de triglicerídeos foi superior a 400mg/dL, o LDL (Biosys[®]) foi determinado diretamente, conforme FISCHBACH (2002), pelo método enzimático colorimétrico em aparelho automático (Cobas Mira S[®]-Roche).

Para cada variável quantitativa avaliada no experimento, quando a distribuição dos dados foi normal, utilizou-se o teste t de Student para comparação das médias dos dois grupos. No entanto, quando a normalidade e a homogeneidade de variância dos dados não ocorreram, adotou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney para comparação dos dois grupos (CALLEGARI-JACQUES, 2003). O nível de significância adotado nas comparações de médias foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação dos valores médios da contagem total de hemácias, concentração de hemoglobina, volume globular e metarrubríctos, observaram-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos. No Grupo II (hepatopatia), exceto para os metarrubríctos, as variáveis descritas anteriormente apresentaram os valores médios abaixo dos valores de referência para a espécie, segundo JAIN (1993) e também valores inferiores quando comparados ao Grupo I (controle), demonstrando a presença de anemia.

No entanto, os valores médios do volume corpuscular médio, da concentração de hemoglobina corpuscular média, contagem de plaquetas e da proteína plasmática total não demonstraram diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos, e apresentaram os valores médios, dentro dos valores de referência para a espécie, segundo JAIN (1993). A anemia observada no Grupo II (hepatopatia) é normocítica e normocrômica, e pode estar associada à ulceração do trato gastrointestinal e/ou à coagulopatia que são comuns na doença hepática, como referem HALL (1985), JOHNSON (1992) e CENTER (1996).

Na contagem de plaquetas no Grupo II (hepatopatia), observou-se uma discreta trombocitopenia, que pode ocorrer devido ao seqüestro, aumento da destruição plaquetária ou redução da produção medular, referida por CENTER (1996) e CENTER (1997).

Para os valores médios da contagem de leucócitos totais, bastonetes e basófilos não houve diferença significativa entre os grupos ($p>0,05$). Os valores médios da contagem de neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos demonstraram diferença significativa entre os grupos ($p<0,05$). Na contagem de neutrófilos, o valor médio do Grupo II (hepatopatia) apresentou-se aumentado em comparação ao valor de referência, conforme JAIN (1993), caracterizando uma neutrofilia, sugerindo uma inflamação. Segundo HESS & BUNCH (2000), não existem variações na avaliação dos leucócitos que sugiram uma doença hepatobiliar.

No Grupo II (hepatopatia), o valor médio dos linfócitos demonstrou valor médio significativamente ($p<0,05$) inferior ao Grupo I (controle), e o inverso nos monócitos. Os achados observados ao leucograma na comparação entre os grupos, principalmente na avaliação de valores médios de neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos sugere uma resposta a inflamação e/ou ao estresse, em cães com doença hepática.

Na avaliação dos valores médios das variáveis ALT, AST, FA, GGT e albumina, houve diferença significativa ($p<0,05$) entre os grupos. A ALT, AST, FA e GGT, no Grupo II (hepatopatia), demonstraram valores excessivamente aumentados em comparação com o

Grupo I (controle) e os valores de referência para a espécie, segundo KANEKO et al. (1997) e MEYER & HARVEY (1998). Os achados laboratoriais da ALT e AST indicaram que está ocorrendo uma lesão hepática ativa, com destruição dos hepatócitos e liberação destas enzimas na corrente sanguínea. Avaliou-se a FA e o GGT, que também apresentaram os valores aumentados, observou-se a presença de colestase, demonstrando uma doença hepática ativa associada à colestase.

Os valores médios de albumina apresentaram-se dentro dos valores de referência para a espécie, conforme KANEKO et al. (1997), no entanto demonstraram diferença significativa ($p < 0,05$), pois o Grupo II (hepatopatia) apresentou uma diminuição da concentração sérica de albumina quando comparado com o Grupo I (controle). Apesar do valor médio da albumina do Grupo II (hepatopatia) estar dentro dos valores de referência para a espécie, avaliando individualmente os animais, observou-se que sete cães apresentaram hipoalbuminemia, correspondendo a 35% dos cães com hepatopatia. A hipoalbuminemia, nestes cães com doença hepática, pode sugerir uma hepatopatia crônica.

Os valores médios da proteína total sérica e das globulinas não demonstraram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. A proteína total sérica e as globulinas demonstraram valores médios dentro da normalidade para a espécie, segundo KANEKO et al. (1997). Avaliando os valores médios da proteína total sérica, albumina e globulinas no Grupo II (hepatopatia), observaram-se uma tendência a hipoalbuminemia e hiperglobulinemia, relatado também por THRALL et al.. (2007) em alguns casos de hepatopatia crônica.

Analisando os valores médios de colesterol, constatou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. No Grupo II (hepatopatia) o valor médio está de acordo com os valores de referência para a espécie, segundo KANEKO et al.. (1997) (Tabela 1). A hipercolesterolemia pode ocorrer em cães com doença hepática associada à colestase ou obstrução do fluxo biliar, pois a bile é a principal via de excreção do colesterol pelo

organismo, portanto uma colestase pode aumentar a concentração sérica do colesterol, como relatam HESS & BUNCH (2000) e THRALL et al., (2007). O fígado é o principal órgão de síntese do colesterol, e em alguns tipos de insuficiência hepática, a diminuição da síntese de colesterol, pode ocasionar uma hipocolesterolemia, conforme relatam BRUSS (1997) e THRALL et al., (2007). Portanto, na doença hepática, o cão pode apresentar hipercolesterolemia ou hipocolesterolemia, como referem HALL (1985) e JOHNSON (1992).

No Grupo II (hepatopatia), 12 animais (60%) apresentaram níveis de colesterol dentro do intervalo de referência, conforme KANEKO et al. (1997), sete animais (35%) demonstraram hipocolesterolemia e somente um animal (5%) apresentou hipercolesterolemia, constatando que, no presente trabalho, ocorreu o predomínio do nível sérico normal de colesterol. A hipocolesterolemia ocorreu possivelmente devido a diminuição na síntese de colesterol hepático ser a alteração mais importante que a hipercolesterolemia em decorrência da colestase, o nível sérico de colesterol normal é o achado mais importante no presente trabalho, discordando com os dados da literatura.

Os triglicerídeos demonstraram diferença significativa ($p < 0,05$) na comparação dos valores médios entre os grupos (Tabela 1). No Grupo II (hepatopatia) o valor médio apresentou dentro do intervalo de referência para a espécie, conforme KANEKO et al. (1997), 18 animais (90%) demonstraram valor de triglicerídeos dentro do intervalo de referência e dois (10%) apresentaram hipertrigliceridemia. No presente trabalho, constataram-se a predominância do nível sérico normal de triglicerídeos, e com menor importância alguns animais com hipertrigliceridemia.

Dentro do metabolismo dos lipídeos, a hipertrigliceridemia é sem dúvida uma das alterações mais complexas, devido ao fato de não conhecer, na maioria das vezes, qual é a origem do distúrbio, se na síntese hepática da VLDL que é rico em triglicerídeos, ou na degradação periférica da VLDL pela enzima lipoproteína lipase (DELGADO et al., 1985).

Não foram observadas alterações laboratoriais significativas quanto ao metabolismo dos lipídeos (colesterol e triglicerídeos) no presente trabalho. Os animais com doença hepática não apresentaram o quadro de insuficiência hepática, constatado pela determinação da albumina sérica, apesar da presença da colestase, a mesma não foi suficiente para causar uma hiperlipidemia. Ocorreu a predominância de níveis séricos normais de colesterol e triglicerídeos em cães com doença hepática ativa.

As variáveis HDL, VLDL e LDL apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) na comparação dos valores médios entre os grupos. Para o HDL, o valor médio do Grupo II (hepatopatia) foi inferior ao Grupo I (controle), ocorrendo o inverso para VLDL e LDL, em que os valores médios do Grupo II (hepatopatia) foram superiores ao Grupo I (controle) (Tabela 1). Em humanos, FISCHBACH (2002) cita que as doenças hepatocelulares é uma das causas de diminuição do HDL sérico, que também foi observado no presente trabalho, em cães com doença hepática.

O valor médio de VLDL apresentou-se elevado no Grupo II (hepatopatia), provavelmente é devido a alteração no metabolismo de lipídeos e lipoproteínas provocada pela doença hepática, constatada pelo aumento do nível sérico dos triglicerídeos. O valor médio de VLDL aumentado, demonstrado no presente trabalho em cães com doença hepática, constatou que a avaliação do perfil das lipoproteínas é mais precoce que a determinação da albumina sérica na detecção de disfunção hepática.

A lipase hepática é sintetizada nos hepatócitos de onde é transportada para a superfície das células endoteliais hepáticas. A lipase hepática converte principalmente os triglicerídeos plasmáticos em VLDL e o restante é utilizado na produção de LDL, além de converter os triglicerídeos em HDL (BRUSS, 1997).

A LDL apresenta nível elevado na obstrução biliar ou doença hepática em humanos (FISCHBACH, 2002). No presente trabalho, também foi detectado o aumento do valor de

LDL nos cães com doença hepática, que também apresentam colestase como em humanos. A quantidade plasmática de LDL é baixa em cães hígidos; portanto a alta concentração de LDL demonstra freqüentemente sinais clínicos evidentes em cães com hipertrigliceridemia idiopática (BAUER, 1995). Concordando com a tendência a hipertrigliceridemia e aumento do nível de LDL nos cães com doença hepática, no presente trabalho.

No metabolismo de lipoproteínas, o colesterol e os triglicerídeos possuem fundamental importância, pois o HDL possui, em sua composição, uma grande concentração de colesterol e pouca de triglicerídeos. No presente trabalho, o Grupo II (hepatopatia) demonstrou a predominância do nível de colesterol normal e em seguida de hipocolesterolemia em cães com doença hepática, o que justifica o nível de HDL diminuído, e notou-se o aumento sérico de triglicerídeos, concordando com os níveis médios de VLDL e LDL aumentados, pois essas lipoproteínas possuem, na sua composição, maior concentração de triglicerídeos.

As observações acima podem ter sido influenciadas devido à tendência a hipocolesterolemia e hipertrigliceridemia em alguns cães com doença hepática, conforme constatada nos valores individuais do colesterol e triglicerídeos mensurados por meio da bioquímica sérica. Tais achados laboratoriais confirmam a presença de distúrbio ou anormalidade no metabolismo de lipoproteínas em cães com doença hepática.

Não existem, na literatura, os valores de referência para cães, das lipoproteínas HDL, VLDL e LDL, dificultando a interpretação dos achados laboratoriais.

CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos no presente trabalho concluiu-se que cães com doença hepática, apresentam anemia e discreta trombocitopenia e neutrofilia; o nível sérico do colesterol em cães com doença hepática ativa e colestase, não é um marcador sensível, na

detecção de alteração no metabolismo de lipídeos; o nível sérico de triglicerídeos aumenta em cães com doença hepática ativa; cães com doença hepática ativa, mas sem perda da função hepática apresentam diminuição de HDL e aumento de VLDL e LDL; a avaliação do perfil lipoprotéico é mais sensível que do perfil lipídico na detecção das alterações do metabolismo de lipídeos em cães com doença hepática; e o perfil lipoprotéico é mais precoce que a albumina na detecção da disfunção hepática em cães.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

O presente trabalho, sob o protocolo nº 97/2007-CEEA, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da FMVZ - UNESP - Botucatu.

REFERÊNCIAS

- BAUER, J.E. Evaluation and dietary considerations in idiopathic hyperlipidemia in dogs. **Jornal American Veterinary Medical Association**, v.206, n.11, p.1684-1688, 1995.
- BRUSS, M.L. Lipids and ketones. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W. (Eds.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego : Academic Press, 1997. p.83-115.
- CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística princípios e aplicações**. Porto Alegre : Artmed, 2003. 255p.
- CENTER, S.A. Diagnostic procedures for evaluation of hepatic disease. In: GUILFORD, W.G.; CENTER, S.A.; STROMBECK, D.R.; WILLIAMS, D.A.; MEYER, D.J. (Eds.). **Strombeck's small animal gastroenterology**. 3.ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1996. p.130-188.

CENTER, S.A. Fisiopatologia, diagnóstico laboratorial e afecções do fígado. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds.). **Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e do gato**. 4.ed. São Paulo : Manole, 1997. v.2, p.1745-1816.

DELGADO, M. et al. Hipertrigliceridemias. **Revista Clínica Espanõla.**, v.177, n.5, p.203-208, 1985.

FISCHBACH, F. Exames bioquímicos. In:_____. **Manual de enfermagem: Exames laboratoriais & diagnósticos**. 6.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2002. p.168-247.

FRIEDMAN, L.S. et al. Liver function tests and the objective evaluation of the patient with liver disease. In: ZAKIM, D.; BOYER, T.D. (Eds.). **Hepatology: a textbook of liver disease**. 3.ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1996, v.1, p.791-833.

HALL, R.L. Laboratory evaluation of liver disease. **Veterinary Clinical North America Small Animal Practice**, v.15, n.1, p.3-19, 1985.

HESS, P.R.; BUNCH, S.E. Diagnostic approach to hepatobiliary disease. In: BONAGURA, J.D. (Ed.). **Kirk's current veterinary therapy XIII: small animal practice**. 13.ed. Philadelphia : W. B. Saunders, 2000. p.659-664.

JAIN, N.C. Comparative hematology of common domestic animals. In:_____. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia : Lea & Febinger, 1993. p.19-53.

JOHNSON, S.E. Liver and biliary tract. In: ANDERSON, N.V.; SHERDING, R.G.; MERIT, A.M.; WHITLOCK, R.H. (Eds.). **Veterinary gastroenterology**. 2.ed. Pennsylvania : Lea & Febiger, 1992. p.504-569.

KANEKO, J.J. et al. Appendixes. In:_____. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego : Academic Press, 1997. p.885-905.

MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Appendix: reference intervals and conversion tables. In:_____. **Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis**. 2.ed. Philadelphia : W. B. Saunders, 1998. p.343-359.

STEIN, E.A.; MYERS, G.L. Lipídeos, apolipoproteínas e lipoproteínas. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. (Eds.). **Tietz fundamentos de química clínica**. 4.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1998. p.364-388.

TENNANT, B.C. Hepatic function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W. (Eds.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego : Academic Press, 1997. p.327-352.

THRALL, M.A. et al. Avaliação laboratorial do fígado. In:_____. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo : Roca, 2007. p.335-354.

Tabela 1. Valores das médias e desvios-padrão (DP) do colesterol (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL), HDL (lipoproteína de alta densidade) (mg/dL), VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) (mg/dL) e LDL (lipoproteína de baixa densidade) (mg/dL), determinados por meio determinados da bioquímica sérica, dos grupos (n=34) e resultados da análise estatística.

VARIÁVEIS					
GRUPOS	Bioquímica sérica				
	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	HDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)
	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$
Grupo I (controle)	179 $\pm$ 32 (a)	37 $\pm$ 10 (b)	133 $\pm$ 9 (a)	7,3 $\pm$ 2,1 (a)	39,3 $\pm$ 26,5 (a)
Grupo II (hepatopatia)	180 $\pm$ 68 (a)	87 $\pm$ 108 (a)	100 $\pm$ 32 (b)	17,3 $\pm$ 21,6 (b)	70,1 $\pm$ 46,7 (b)

Letras minúsculas: comparam médias entre os grupos em cada variável.

Médias seguidas de letra minúscula diferente diferem significativamente ($p < 0,05$).

Médias seguidas de letra minúscula igual não diferem significativamente ($p > 0,05$).

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica editados em idioma Português ou Inglês, todas as linhas deverão ser numeradas e paginados no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm, com no máximo, 28 linhas em espaço duplo, as margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman, tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigos científicos, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e ilustrações.** Cada figura e ilustração deverá ser enviado em arquivos separados e constituirá uma página (cada tabela também constituirá uma página). **Tabelas, gráficos e figuras não poderão estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, quando for necessário o uso deve aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os trabalhos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.** (Modelo .doc, .pdf).

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, devem aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os trabalhos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.** (Modelo .doc, .pdf).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) ou Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal, caso existam devem aparecer antes das referências. **Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os trabalhos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.** (Modelo .doc, .pdf).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estão disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave e resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al.. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro: JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al.. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria: GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria: COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90. TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo: AUDE, M.I.S. et al.. (Mais de 2 autores) Época de plantio e seus efeitos na produtividade e teor de sólidos solúveis no caldo de cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.22, n.2, p.131-137, 1992.

9.5. Resumos: RIZZARDI, M.A.; MILGIORANCA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação: COSTA, J.M.B. **Trabalho comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim: ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal: Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos: MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow dysplasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadros. As figuras devem ser enviadas à parte, cada uma sendo considerada uma página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 800 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderão ser utilizados.

13. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

14. A taxa de tramitação é de US\$ 15,00 (dólares) e a de publicação de US\$ 20,00 (dólares) por página impressa. **Os pagamentos deverão ser feitos em reais (R\$), de acordo com a taxa de câmbio comercial do dia.** Essas taxas deverão ser pagas no Banco do Brasil, Agência 1484-2, Conta Corrente 250945-8 em nome da FATECIENS - Projeto 96945. Os pagamentos poderão ser por cartão de crédito VISA (.doc ou .pdf) ou ainda por solicitação de fatura (.doc ou .pdf). **A submissão do artigo obrigatoriamente deve estar acompanhada da taxa de tramitação**, podendo ser enviada via fax (55 32208695), ou anexando o comprovante de depósito bancário escaneado ou ainda enviado por email (cienciarural@mail.ufsm.br) para que se possa fazer a verificação e prosseguir com a tramitação do artigo (Em ambos os casos o nome e endereço completo são obrigatórios para a emissão da fatura). **A taxa de tramitação é obrigatória para todos os trabalhos, independentemente do autor ser assinante da Revista. A taxa de publicação somente deverá ser paga (e o comprovante anexado) após a revisão final das provas do manuscrito pelos autores.** Professores do Centro de Ciências Rurais e os Programas de Pós-graduação do Centro têm os seus artigos previamente pagos pelo CCR, estando isentos da taxa de publicação. Trabalhos submetidos por esses autores, no entanto, devem pagar a taxa de tramitação. **No caso de impressão colorida, todos os trabalhos publicados deverão pagar um adicional de US\$ 120,00 (dólares) por página colorida impressa, independentemente do número de figuras na respectiva página.** Este pagamento também deverá ser realizado até a publicação do artigo rubricado obedecendo uma das formas previamente mencionadas.

15. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

16. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

17. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.