

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

ANA LAYSLA FROTA MACHADO

RELAÇÃO AST/ALT EM CÃES, CORRELAÇÕES BIOQUÍMICAS SÉRICAS E VALOR
PROGNÓSTICO

BELO HORIZONTE/MG

2021

ANA LAYSLA FROTA MACHADO

RELAÇÃO AST/ALT EM CÃES, CORRELAÇÕES BIOQUÍMICAS SÉRICAS E VALOR
PROGNÓSTICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Ciência Animal

Orientadora: Profa. Dra. Fabiola de Oliveira Paes Leme

M149r Machado, Ana Laysla Frota, 1992 -
Relação AST/ALT em cães, correlações bioquímicas séricas, e valor prognóstico/ Ana Laysla Frota Machado. -2021.

59 f.:il.

Orientadora: Fabiola de Oliveira Paes Leme
Dissertação (Mestrado) apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.
Área de concentração: Ciência Animal.

1. Cão - Teses - 2. Fígado – doenças - Teses - 3. Ciência animal - Teses - I. Leme, Fabiola de Oliveira Paes - II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – III. Título.

CDD – 636.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

ANA LAYSLA FROTA MACHADO

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Medicina e Cirurgia Veterinária.

Aprovado(a) em 28 de maio de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Fabíola de Oliveira Paes Leme - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Débora da Silva Freitas Ribeiro

Dr.(a). Rubens Antônio Carneiro



Documento assinado eletronicamente por **Fabiola de Oliveira Paes Leme, Professora do Magistério Superior**, em 31/05/2021, às 16:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rubens Antonio Carneiro, Professor do Magistério Superior**, em 31/05/2021, às 22:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Debora da Silva Freitas Ribeiro, Usuário Externo**, em 02/06/2021, às 15:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0704579** e o código CRC **720BFF23**.

DEDICATÓRIA

Dedico à minha irmã, Anislay Maria (*in memoriam*) por me mostrar todos os dias o amor de Deus nas nossas vidas. Por sempre estar presente me dando força e foco para concluir mais esse sonho.
É nosso irmãzinha!

AGRADECIMENTOS

Sou apenas a porta voz de um projeto em que muitas pessoas contribuíram de diversas maneiras para sua elaboração e conclusão. Agradeço a cada uma dessas pessoas.

Minha família: Lúcia Frota, José Machado e Anislay Maria (*in memoriam*) por ser minha base e meu porto seguro. Sei que independente de qual for meu caminho, tenho um lar para voltar em vocês.

Aos meus avôs Francisco Frota (*in memoriam*) e Antônio Linhares, e avós Ilnir Dias (*in memoriam*) e Maria Irismá por toda boa lembrança de infância que tenho. Aos meus tios, tias, primos e primas que ficaram no meu Ceará torcendo, vibrando e rezando por mim. Que sempre nas férias, a cada retorno a cidade natal, me receberam da forma mais aconchegante possível fazendo com que me sinta em casa novamente.

A minha companheira Marcela Lorenzo, que com paciência e amor, soube entender esse momento importante do meu crescimento profissional. Seu carinho e apoio me proporcionaram a força para continuar.

A professora Fabiola Paes Leme que sempre foi muito além do seu papel como orientadora, me guiando a uma evolução profissional e pessoal. Saiba que seu apoio e sensibilidade foram essenciais nesse momento pessoal da minha vida. Tenho muita honra de ser sua (des)orientada.

A banca examinadora Debora Freitas, Ana Paula, Rubens Carneiro e Júlio César por gentilmente aceitarem participar da minha orientação acrescentando de forma positiva ao projeto que irei apresentar.

Juntos, somos mais e quando digo juntos eu agradeço a Laura Bastos, que sem sua atuação certamente esse projeto não seria tão grandioso. Você foi INCRÍVEL! A Mariah por sempre estar presente e ser tão solícita comigo. Seu potencial é assustador! A Alessandra por aguentar meus choramingos e suportar junto comigo essa fase tão desafiadora.

Aos fieis e corajosos amigos Sara, Mariana, Thay, Alessandra, Pâmela, Aline, Priscila, Ana Claudia, Sarah Fraça, Oscar, Bruno, Bea, Sette. Calma amigos! Estou voltando e em breve iremos comemorar mais essa vitória para nosso grupo. Logo que esse momento passe vamos nos reencontrar e comemorar do jeito que só a gente consegue.

A Universidade Federal de Minas Gerais e CAPES por acreditarem no meu potencial e fomentar um crescimento profissional e pessoal inimaginável.

RESUMO

A relação entre as duas transaminases aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase (AST/ALT), também conhecida como relação *De Ritis*, é calculada com base nos valores séricos das atividades destas enzimas, bastante utilizada na medicina para direcionar o diagnóstico diferencial entre hepatopatias e doenças extra-hepáticas e, dessa forma estabelecer um prognóstico. Na Medicina Veterinária o seu uso não é corriqueiro e a sua importância ainda é desconhecida. Este estudo objetivou avaliar a relação *De Ritis* em cães saudáveis e em diagnósticos de hepatopatias e outras doenças extra-hepáticas observadas na rotina médica veterinária. Foi realizado um estudo retrospectivo, com dados de 302 cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG, Belo Horizonte (MG), e que tiveram exames bioquímicos realizados no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária entre os meses de janeiro e maio de 2019. Dois experimentos foram conduzidos de maneira complementar, sendo incluídos nas análises os animais “saudáveis”, “hepatopatas agudos e crônicos” e portadores de doenças extra-hepáticas (piometra, trauma/fraturas, intoxicação/ envenenamento, leishmaniose, hemoparasitose, nefropatia). Foram analisados os resultados de exames hematológicos e bioquímicos séricos, avaliando o comportamento das enzimas hepáticas e médias da relação AST/ALT em dois momentos, momento zero (M0) e 48 horas após o M0 (M48). No experimento 1, animais portadores de hepatopatia aguda apresentaram atividades médias de ALT e AST muito acima do limite superior dos intervalos de referência para a espécie. A relação AST/ALT mostrou-se inversamente proporcional a gama glutamil transferase (GGT), ALT, fosfatase alcalina (ALP) e albumina. No experimento 2, para avaliar o efeito da relação AST/ALT sobre o desfecho, foi ajustado um modelo de regressão logística adequado a dados dicotômicos (vivo/óbito). Para análise do efeito do tratamento pelo tempo, foi calculada a média da relação AST/ALT dos grupos que apresentavam pacientes com resultados no M0 e M48. Animais portadores de hepatopatias crônicas apresentaram a maior média da relação AST/ALT, e apesar de apenas 19,74% dos animais terem sido classificados como portadores de hepatopatia crônica, os achados deste estudo sugerem que a relação *De Ritis* seja mais eficaz para a sua identificação do que para hepatopatias agudas. A determinação da relação *De Ritis* nos momentos M0 e M48 se mostrou uma importante ferramenta para a avaliação da eficácia na conduta terapêutica adotada para o paciente. Animais alocados nos grupos “piometra”, “intoxicação/envenenamento” e “fratura/trauma” apresentaram médias altas para a relação AST/ALT (2,67, 2,54, e 2,21, respectivamente). A correlação entre a relação AST/ALT em avaliações seriadas (M0 e M48) e a resposta prognóstica de sobrevivência, mostrou que quando animais dobram o valor da relação *De Ritis* do M0 para o M48, estes tendem a apresentar uma probabilidade 2,5 vezes maior de vir a óbito. Dessa forma, concluiu-se que a relação AST/ALT deva ser incluída na rotina clínica e utilizada na avaliação da evolução da doença em cães.

Palavras-chave: Biomarcador, relação *De Ritis*, doença extra-hepática, hepatopatia, transaminases.

ABSTRACT

The relationship between the transaminases aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase (AST/ALT), also known as the *De Ritis* ratio, is calculated based on the serum values of the activities of these enzymes. This relationship is widely used in human medicine to conduct differential diagnosis between liver diseases and extra hepatic diseases and to establish a prognosis. In Veterinary Medicine, its use is not common and its importance is still unknown. This study aimed to evaluate the *De Ritis* ratio in healthy dogs and in diagnoses of liver diseases and other extrahepatic diseases observed in the veterinary medical routine. A retrospective study was carried out, with data from 302 dogs from the Veterinary Hospital of UFMG, Belo Horizonte (MG), and who had biochemistry evaluation performed at the Laboratory of Veterinary Clinical Pathology, between the months of January and May 2019. Two experiments were conducted in a complementary manner, including “healthy” animals, “acute and chronic liver disease” and patients with extrahepatic diseases (pyometra, trauma/fractures, intoxication/poisoning, leishmaniasis, hemoparasitosis, and nephropathy). The results of serum hematological and biochemical tests were analyzed, evaluating the behavior of liver enzymes and averages of the AST/ALT ratio at two times, moment zero (M0) and 48 hours after M0 (M48). In the experiment 1, animals with acute liver disease presented ALT and AST mean activities well above the upper limit of the reference intervals for the specie. The AST/ALT ratio was inversely proportional to the gamma glutamyl transferase (GGT), ALT, alkaline phosphatase (ALP) and albumin. In the experiment 2, to assess the effect of the AST/ALT ratio on the outcome, a logistic regression model was adjusted to suit dichotomous data (live/death). To analyze the effect of treatment over time, the average of the AST/ALT ratio of the groups presented patients with results in M0 and M48 was calculated. Animals with chronic liver diseases had the greatest average of the AST/ALT ratio, and although only 19.74% of the animals were classified as having chronic liver disease, the findings of this study suggest that *De Ritis* ratio is more effective for their identification than acute liver diseases. The determination of the *De Ritis* ratio at moments M0 and M48 proved to be an important tool for the evaluation of the efficacy in the therapeutic approach adopted for the patient. Animals allocated to the “pyometra”, “intoxication/poisoning” and “fracture/trauma” groups presented higher averages for the AST/ALT ratio (2.67, 2.54, and 2.21, respectively). The correlation between the AST/ALT relationship in serial evaluations (M0 and M48) and the prognostic response for survival, showed that when animals double *De Ritis ratio* from M0 to M48, they tend to have a probability 2.5 times greater of dying. Thus, it is concluded that the AST/ALT ratio should be included in the clinical routine and used to assess the evolution of the disease in dogs.

Keywords: Biomarker, *De Ritis ratio*, extrahepatic disease, liver disease, transaminases.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Análise estatística da variável Relação AST/ALT do grupo Saudáveis a partir da característica física do soro.....	378
Figura 2 - Relação AST/ALT de cães considerados clínica-laboratorialmente Saudáveis e com Hepatopatia e subgrupo Hepatopatia aguda e Hepatopatia Crônica.....	40
Figura 3 - Apresentação do gráfico de análise multivariada entre as variáveis que melhor representam os cães do grupo Saudáveis.....	43
Figura 4 - Apresentação dos gráficos de análise multivariada do grupo Hepatopatia e subgrupo Hepatopatia agudo.	44
Figura 5 - Apresentação do gráfico de análise multivariada do subgrupo Hepatopatia crônica.	45
Figura 6 - A análise multivariada entre as variáveis que melhor representam o subgrupo de cães apresentando Insuficiência Renal Aguda (IRA).	49
Figura 8 - Correlação entre a Relação AST/ALT com probabilidade de óbito. $p < 0,001$	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios e desvio padrão dos exames bioquímicos de cães saudáveis e hepatopatas, subdivididos em agudo e crônico.	35
Tabela 2 - Valores médios e desvio padrão dos exames hematológicos de cães controle e hepatopatas, subdivididos em agudo e crônico.	37
Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão da Relação AST/ALT encontrada em cães considerados clínica-laboratorialmente Saudáveis e portadores de Hepatopatia, subdivididos em aguda e crônica.	38
Tabela 4 - Correlação observada entre a Relação AST/ALT com GGT, ALT, ALP e albumina séricas de 76 cães com hepatopatia aguda e crônica.	41
Tabela 5 - Número de exames relacionados, média e desvio padrão da relação AST/ALT dos grupos analisados no estudo.	47
Tabela 6 - Média e desvio padrão da relação AST/ALT de cães dos grupos piometra e intoxicação/envenenamento analisados no tempo 0h e 48h.	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALB	Albumina
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
AT	Atividade de antitrombina
Bast	Neutrófilo em bastão
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CK	Creatina fosfoquinase
COVID-19	Corona Virus Disease 2019
Creat	Creatinina
GGT	Gama glutamil transferase
Glic	Glicose
Glob	Globulina
Ht	Hematócrito
HV	Hospital veterinário
ID	Número de identificação
IRA	Insuficiência renal aguda
LeuTot	Leucócitos totais
M0	Momento zero
M48	48 horas após o momento zero
N.	Neutrófilo
Plaq	Plaquetas
PT	Proteínas totais
PT-ALB	Globulinas
RDW	Amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos
TP	Tempos de protrombina
TTPA	Tromboplastina parcial ativada
U/L	Unidade por litro
UNIUBE	Universidade de Uberaba
VCM	Volume corpuscular médio
VR	Valor de referência

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1 Fisiologia do fígado	16
3.2 Exames Laboratoriais para avaliação hepática.....	17
3.2.1 Exames bioquímicos.....	13
3.2.1.1 Enzimas de extravasamento	17
3.2.1.2 Enzimas de indução	19
3.2.1.3 Avaliação funcional do fígado.....	21
3.2.2 Avaliações hematológicas e urinárias.....	21
3.3 Fisiopatogenia das hepatopatias	25
3.3.1 Insuficiência hepática aguda.....	22
3.3.2 Doença hepática crônica.....	23
3.4 Relação <i>De Ritis</i>	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 Análises das amostras	31
4.2 Análises estatísticas	32
4.2.1 Experimento 1.....	28
4.2.2 Experimento 2.....	29

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 EXPERIMENTO 1- DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO AST/ALT EM CÃES CONTROLE E HEPATOPATAS.....	30
5.2 EXPERIMENTO II- RELAÇÃO AST/ALT DE CÃES ENFERMOS E SUA RELAÇÃO COM O PROGNÓSTICO.....	41
6 CONCLUSÕES.....	52
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
ANEXO A - APRESENTAÇÃO DA POPULAÇÃO QUE COMPÕEM OS GRUPOS E SUBGRUPOS APÓS REALOCAÇÃO DE 509 RESULTADOS BIOQUÍMICOS A PARTIR DO DIAGNÓSTICO	59

1 INTRODUÇÃO

A relação AST/ALT ou como é mais conhecida na medicina, relação *De Ritis* é apresentada em diversos trabalhos como uma ferramenta que utiliza os valores das atividades das enzimas hepatocelulares, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), para auxiliar no diagnóstico ou mesmo direcionar o prognóstico nas hepatopatias de diferentes origens (De Ritis, Coltorti e Giusti, 2006). Mais recentemente vem sendo utilizada também em patologias extra-hepáticas que cursam com alterações sistêmicas (Wu *et al.*, 2019a).

Essas transaminases são facilmente encontradas em painéis bioquímicos, especialmente voltados para a avaliação da função hepática, possuem uma boa estabilidade quando amostras séricas são acondicionadas corretamente e suas atividades mensuradas por aparelhos bioquímicos acessíveis. Essas características somadas favorecem a reprodução desta razão na prática clínico-laboratorial (Sikaris e Botros, 2013).

Embora sejam caracterizadas como enzimas de lesão aguda, em processos crônicos regenerativos ou cirróticos a inversão entre os valores da AST e ALT é capaz de prever a evolução clínica do paciente (Allison, 2015).

Na veterinária, pouco se sabe sobre as respostas obtidas entre a razão AST e ALT, ou mesmo seu comportamento em doenças hepáticas agudas e crônicas, e outros perfis de doença. O objetivo desse estudo foi avaliar a relação *De Ritis* nos diagnósticos de hepatopatias e outras doenças observadas na rotina médica veterinária.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Interpretar a relação AST/ALT em cães portadores ou não de hepatopatia e em doenças consideradas extra-hepáticas.

2.2 Objetivos específicos

Analisar sobre a interferência que a característica física da amostra apresenta na relação AST/ALT;

Avaliar a relação AST/ALT em cães portadores de hepatopatias (aguda e crônica);

Avaliar relação AST/ALT e seu comportamento em dois momentos;

Correlacionar a relação AST/ALT as alterações bioquímicas e hematológicas;

Avaliar a relação AST/ALT sobre o desfecho dos casos clínicos acompanhados.

3 REVISÃO DE LITERATURA

O fígado é considerado, anatomicamente, componente glandular do sistema digestivo, apresentando-se em topografia torácica do abdômen, disposto intimamente próximo ao diafragma e órgãos adjacentes como intestinos, pâncreas e rim direito. É um órgão extremamente bem localizado, 70 a 80% do seu fluxo sanguíneo é proveniente da veia porta e o restante da artéria hepática. Esse grande aporte venoso exerce vital importância para a realização das suas principais funções, favorecendo a absorção de nutrientes, captação e metabolização de substâncias tóxicas e microrganismos que possam ser absorvidos pelo intestino. É considerado um órgão grande e multilobulado, que representa aproximadamente 4% do peso corporal nos cães (Allison, 2015; König *et al.*, 2016).

Adjacente ao fígado se apresenta a vesícula biliar, responsável por armazenar e liberar bile ao intestino delgado. A bile é uma secreção produzida pelo fígado composta principalmente por restos metabólicos e sais biliares, responsáveis pela digestão de gorduras e vitaminas lipossolúveis nas alças intestinais proximais (König *et al.*, 2016). Apesar da proximidade entre essas duas unidades, hepatócito e canalículo biliar, é importante relacioná-las individualmente nos processos patológicos, tendo em vista que podem se apresentar com padrões individuais de lesão como em complicações hepatocelular ou biliar (colestática), embora, a forma mista (hepatobiliar) possa ser frequente em cães (Scott e Stockham, 2016a).

A principal unidade celular hepática é representada pelo hepatócito. Essa célula extremamente especializada é responsável por exercer todas as atividades funcionais do fígado. Embora todos os hepatócitos sejam semelhantes e capazes de realizar as mesmas funções metabólicas, Rothuizen (2001) relataram algumas funções predominantes a determinadas zonas celulares, como por exemplo, na região de inserção da veia porta ocorre majoritariamente o processo de gliconeogênese e do ciclo da ureia a partir da amônia; já na região ao redor da veia hepática ocorre metabolismo de glicose. O metabolismo proteico e lipídico aparentemente ocorre em todo o órgão. Já a biotransformação de fármacos pelo citocromo P450 acontece, principalmente, ao redor das vênulas terminais (Rothuizen, 2001).

Os demais tipos celulares hepáticos são compostos pelas células do epitélio colunar simples que formam a estrutura dos ductos biliares e vão desembocar na vesícula biliar. Os sinusóides vasculares se apresentam como cordões de hepatócitos revestidos por células endoteliais fenestradas e descontínuas e demarcam o espaço de Disse, local onde ocorre a captação de substâncias absorvidas do plasma e secreções dos produtos do metabolismo hepático. As células de Ito são responsáveis quase que exclusivamente pelo armazenamento

de vitamina A e as células de *Kupffer* participam do sistema mononuclear fagocítico, responsável pela resposta imune a agentes infecciosos, endotoxinas e outras substâncias veiculadas pelo sangue, que são absorvidas no espaço de Disse (Barros, 2016).

3.1 Fisiologia do fígado

Fisiologicamente, o fígado desempenha importantes funções no organismo, participando de processos de digestão, metabolismo de nutrientes (carboidratos, proteínas e lipídios), síntese e degradação de diversas substâncias, além de armazenamento energético e de vitaminas, e excreção de substâncias tóxicas (Barger, 2015).

O metabolismo energético hepático é basicamente regulado por insulina, glucagon e glucocorticóides, hormônios sintetizados no pâncreas. Diversas reações de anabolismo e catabolismo são coordenadas por esses hormônios, que além do armazenamento e mobilização das reservas energéticas, auxilia juntamente com fatores de crescimento homólogos à insulina na capacidade regenerativa hepática (Postic *et al.*, 2004). Os carboidratos são metabolizados e armazenados sob a forma de glicogênio no interior dos hepatócitos. Já os lipídios são metabolizados em ácidos graxos, triglicerídeos, colesterol e apolipoproteínas degradados a partir dos quilomícrons (Rothuizen, 2001).

O fígado é o grande depósito do organismo. Armazena no interior de seus hepatócitos glicogênio, triglicerídeos, vitaminas e uma variedade de elementos, incluindo ferro e cobre. Além disso, os hepatócitos modificam substâncias em suas formas hidrossolúveis para serem excretadas pelos sistemas biliar, urinário e intestinal. Possui ainda um sistema de defesa que a partir do mecanismo fagocítico mononuclear depuram células danificadas, mediadores inflamatórios, microorganismos e endotoxinas no sangue (Barros, 2016; Scott e Stockham, 2016a).

O metabolismo farmacológico, realizado através do fígado para drogas lipofílicas, inclui a ativação enzimática a partir do citocromo P450 e UDP-glucucosiltransferase. De modo geral, os xenobióticos que precisem de depuração hepática, quer seja para que haja sua biotransformação em agente ativo, quer seja para sua excreção, necessitam de reações metabólicas como oxidação, redução, hidrólise e conjugação (Rowland, Miners e Mackenzie, 2013).

3.2 Exames Laboratoriais para avaliação hepática

Devido a sua grande capacidade de armazenamento, os sinais clínicos da hepatopatia que alertariam rapidamente o clínico, muitas vezes se mostram tardios, dificultando um diagnóstico precoce e a atuação efetiva do médico veterinário. Os exames complementares auxiliam, então, a identificar quando alguma patologia está afetando o fígado e dificultando a realização das suas funções (Allison, 2015). Segundo Watson (2017) a raça do cão e o ambiente de criação devem ser associados a achados como shunt portossistêmico, displasia microvascular e hipoplasia da veia porta, anormalidades ductais (doença de Caroli e fibrose congênita), hepatite crônica (associada ou não a deposição de cobre), hepatopatias vacuolares ou mucocele de vesícula biliar. O autor considera as causas como poligênicas e agravadas pelo meio em que os animais vivem. Entretanto, embora o levantamento racial possa auxiliar no diagnóstico, deve-se considerar que nem todos os indivíduos desenvolvam tais alterações jamais substituindo o exame clínico-laboratorial para o diagnóstico. O mesmo autor também ressaltou que diferentes lesões podem gerar padrões histológicos semelhantes mesmo apresentando causas diversas como infecções crônicas, tóxicas ou de origem autoimune, o que aumenta o desafio diagnóstico para o clínico e a conduta terapêutica.

Importante ressaltar que o diagnóstico com base, apenas nos exames laboratoriais também deve ser evitado. As enzimas hepáticas respondem de forma diferente, dependendo da gravidade das lesões e do tempo transcorrido desde o insulto inicial. Essa cinética enzimática deve ser compreendida e acrescida ao exame clínico, exame de imagem ou mesmo biopsia hepática para elucidação do caso (Bexfield e Watson, 2006).

Enzimas são proteínas que servem como catalisadores em reações químicas. Para que a reação ocorra, precisam se ligar a um substrato e juntos formam o complexo enzima-substrato e depois enzima-produto, que logo se dissociam em enzima e produto. Ao reconhecer a cinética enzimática é possível, então quantificar sua atividade, mensurando indiretamente a sua concentração (Allison, 2015; Scott e Stockham, 2016b).

3.2.1 Exames bioquímicos

3.2.1.1 Enzimas de extravasamento

A lesão nos hepatócitos altera a permeabilidade da sua membrana, causando extravasamento das enzimas situadas no citoplasma ou no interior de organelas citoplasmáticas. As transaminases são as principais enzimas de extravasamento em resposta à

lesão hepatocelular e, o aumento das atividades pode ser detectado nas primeiras horas após o insulto hepático (Allison, 2015).

a) Alanina aminotransferase (ALT)

A alanina aminotransferase (ALT) é uma enzima citoplasmática que catalisa a reação de desaminação da alanina em piruvato e encontra-se relacionada à via da gliconeogênese e ao ciclo de Krebs. Nos cães sua meia-vida é de dois a três dias (48 - 72 horas) e ela é a enzima de predomínio do citoplasma dos hepatócitos. A maior atividade de ALT é encontrada livremente no citoplasma dos hepatócitos, embora não seja considerada uma enzima hepatoespecífica. Aproximadamente 5% a 25% da atividade da ALT é também encontrada nos músculos esquelético e cardíaco. Ainda que a massa muscular total seja maior que a massa hepática, a atividade desta enzima está mais correlacionada a perfis bioquímicos hepáticos, dessa forma diagnósticos diferenciais como doenças musculares devem estar relacionados a atividades elevadas de ALT, quando vistos de forma isolada (Allison, 2015; Scott e Stockham, 2016b).

Scott e Stockham (2016b) apresentaram um estudo em que cães jovens com distrofia muscular demonstraram discretos a moderados aumentos na atividade da ALT. Nesse estudo, a atividade sérica da enzima sofreu aumentos de 7X acima do limite superior de referência para a espécie (VR: 0 - 102 U/L). Nesses casos é orientada a associação com outra enzima que apresente origem muscular, como a creatina fosfoquinase (CK) para descartar miopatias (Cerqueira, 2017).

De modo geral, o aumento das concentrações da ALT, quando relacionado a hepatopatias são observados em processos agudos causados por hipóxia, inflamação, neoplasia, medicamentos (principalmente os corticosteroides e os anticonvulsivantes), processos toxêmicos e, também na fase de recuperação hepática, quando ocorre regeneração dos hepatócitos. Em processos de curso crônico, como observados em fase terminal, essa enzima, muitas vezes se apresenta com atividade normal ou abaixo do intervalo de referência para a espécie (Allison, 2015).

b) Aspartato aminotransferase (AST)

A aspartato aminotransferase (AST) é a proteína catalisadora da reação de desaminação do aspartato em oxaloacetato no ciclo de Krebs. É encontrada no interior das mitocôndrias nos hepatócitos, mas também pode ser observado uma pequena atividade no citoplasma deste tipo celular, além de eritrócitos, células musculares, rins e pâncreas, o que merece atenção especial como diagnóstico diferencial (Silva, 2015; Scott e Stockham, 2016b).

Discretos a moderados aumentos na sua concentração podem ser influenciados em amostras que apresentem hemólise *in vitro* ou mesmo quando a remoção do coágulo é tardia. Esse aumento pode ocorrer possivelmente pela discreta adição da enzima que é encontrada no interior dos eritrócitos aos resultados laboratoriais ou mesmo interferências colorimétricas da técnica de análise (Scott e Stockham, 2016b).

Sua meia-vida está em torno de 12h e, assim como esperado na ALT, seu aumento é descrito em doenças hepáticas agudas e, por apresentar uma isoenzima mitocondrial, está associada a lesões hepáticas mais graves, como quadros ativos de necrose e lipidose hepática. Em processos crônicos essa enzima tende a apresentar atividades dentro do intervalo de referência para cães (VR: 0 - 66 U/L) (Kaneko, Harvey e Bruss, 1997; Silva, 2015). A principal isoenzima de AST encontrada, comparativamente ao tamanho do tecido é a de origem muscular estriada esquelética, desta forma a mesma recomendação quanto à associação da CK pode ser utilizada para a diferenciação da origem do aumento da sua atividade (Cerqueira, 2017).

3.2.1.2 Enzimas de indução

Nas enzimas de indução o estímulo celular ocorre nas mesmas células que a sintetizam e por consequência aumentam também sua atividade no sangue. Esse estímulo é o melhor método de mensuração para as enzimas de membrana dos canalículos biliares, que são representadas pela fosfatase alcalina (ALP) e pela gama glutamiltransferase (GGT), por este motivo a atividade destas enzimas possibilitam o diagnóstico de colestase (Allison, 2015).

a) Fosfatase alcalina (ALP)

A ALP é uma enzima presente nas membranas celulares de vários tecidos como fígado, ossos, rins, intestinos, pâncreas e placenta, referida como uma das principais enzimas de indução. Em cães a isoenzima ALP oriunda dos intestinos, rins e placenta possui meia-vida extremamente curta, de 6 minutos, que quando mensurada, não influencia significativamente na atividade sérica. Já quando analisada a isoenzima hepática, por apresentar uma meia-vida de aproximadamente 3 dias em cães, a sua atividade pode ser mais representativa em amostras séricas (Allison, 2015; Scott e Stockham, 2016b).

Cães jovens, em fase de crescimento, devido à atividade osteoblástica e pela ingestão do colostro, apresentam atividades significativamente superiores de ALP, podendo chegar até cinco vezes acima do intervalo de referência para a espécie (VR: 0 - 156 U/L) e, dessa forma confundir ou mascarar a avaliação de lesões colestáticas. Em adultos, os principais diagnósticos diferenciais para concentrações elevadas de ALP estão relacionados a casos de osteossarcoma, lesões ósseas, doenças endócrinas como hiperadrenocorticismos, uso de medicamentos como corticosteróides e anticonvulsivantes e, em doenças crônicas (Kaneko, Harvey e Bruss, 1997; Allison, 2015).

Nos distúrbios colestáticos os aumentos de ALP são muito significativos, em muitos casos chegando a valores 20X acima dos fisiológicos para a espécie, devendo-se relacionar a elevações simultâneas nas concentrações de bilirrubinas, ácidos biliares e gama glutamiltransferase (Scott e Stockham, 2016b).

b) Gama glutamiltransferase (GGT)

A gama glutamiltransferase (GGT) é considerada para avaliação da colestase, embora o aumento da sua atividade também seja observado em lesões hepáticas agudas. É sintetizada em diversos tecidos como fígado e ductos biliares, glândulas mamárias, pâncreas e rins, entretanto, a isoforma hepática é a mais prevalente no soro sanguíneo. Para os demais órgãos, sua mensuração deve ser feita a partir dos seus produtos de excreção como a urina, suco pancreático e leite (Silva, 2015).

Allison (2015), afirmou que para avaliar doenças hepatobiliares a GGT é mais específica que a ALP, porém pouco sensível, dessa forma recomendou a associação de ambas para resultados mais confiáveis.

O uso de corticosteroides e anticonvulsivantes aparentemente possuem menores influências sobre a GGT quando comparados a ALP. Atividades duas a três vezes acima do limite superior são esperados nesses casos, podendo até mesmo, não exceder o intervalo de referência para a espécie canina (VR: 0 – 10 U/L) (Kaneko, Harvey e Bruss, 1997; Allison, 2015).

3.2.1.3 Avaliação funcional do fígado

Embora as atividades das enzimas hepáticas forneçam uma ideia da integridade celular, elas não indicam qualquer alteração funcional do fígado. Sem dúvida, ao construir um painel de análise bioquímica para hepatopatia, se faz necessário a inclusão de outros analitos que representem a manutenção da função (Bexfield e Watson, 2006).

Os testes para avaliar a função hepática incluem mensuração da concentração de substâncias no sangue que normalmente são sintetizadas pelo fígado tais como albumina, ureia, fatores de coagulação e glicose ou mesmo metabolizadas e excretadas pelo sistema biliar, como a bilirrubina e sais biliares. Apesar de fatores extra-hepáticos influenciarem nas alterações dos valores séricos dessas substâncias, suas análises, em conjunto aos sinais clínicos e achados ultrassonográficos podem fornecer informações preciosas sobre a evolução e a fase da doença hepática (Allison, 2015).

a) Albumina

A albumina é a principal proteína sérica em mamíferos sendo o produto do metabolismo proteico e sintetizada exclusivamente pelo fígado. A albumina sérica pode se ligar a inúmeras substâncias, compostos endógenos e diferentes hormônios, agindo como uma molécula de transporte fundamental para a homeostase. Além disso é considerada a principal proteína para manutenção e regulação da pressão oncótica (Gatta, Verardo e Bolognesi, 2012). Em geral a hipoalbuminemia por redução de síntese é observada em casos de doença hepática crônica, com perda de mais de 75% na massa de hepatócitos. Entretanto, concentrações baixas de albumina possuem inúmeras outras causas extra-hepáticas como doenças metabólicas (diabetes), síndromes de má absorção (Gatta, Verardo e Bolognesi, 2012), doenças renais, enteropatias com importantes perdas proteicas e caquexia (Bexfield e Watson, 2006; Silva, 2015). Rodrigues (2011) relatou que em casos de processo inflamatório a albumina se apresenta como uma proteína de fase aguda negativa diminuindo sua concentração sérica

devido à inibição da sua síntese por citocinas pró-inflamatórias e aumento da permeabilidade vascular, com consequente saída para os espaços extravasculares. Segundo Soeters, Wolfe e Shenkin (2019) uma mudança na quantidade de albumina sérica também pode ser advinda do aumento da sua taxa de degradação que pode ocorrer após a oxidação, glicação ou mesmo ligação com substâncias pró-oxidativas. Toda vez que a albumina perde o potencial antioxidante é mais rapidamente degradada o que reduz sua meia vida, sendo geralmente influenciada por mudanças na sua carga e hidrofobicidade. Foi sugerido que isso provavelmente afeta a endocitose realizada pelo hepatócito ou mesmo por outros tipos celulares, como células cancerígenas e suas organelas. Em seu levantamento os autores abriram a hipótese de que em condições de estresse, como nos processos inflamatórios a meia-vida da albumina torna-se mais curta, em parte devido ao metabolismo acelerado.

A concentração é o resultado do equilíbrio entre a síntese e a distribuição de albumina no espaço intersticial e nas células. Embora o transporte transmembrana de albumina não seja completamente compreendido, especialmente em estados inflamatórios, a proporção entre plasma e interstício pode ser de 2:3, o que implicaria em uma diminuição na concentração de albumina sérica nestas situações (Soeters, Wolfe e Shenkin, 2019).

Na prática clínica, pacientes com doenças agudas, incluindo trauma e cirurgias apresentam o chamado “estado hipoalbuminêmico”, que também pode ser observado em doenças advindas da insuficiência renal ou comorbidades, como a obesidade, estilo de vida sedentário, falhas orgânicas e envelhecimento, associados ou não à subnutrição (Kaysen, 2009).

A hipoalbuminemia também representa um fator de risco para o tratamento médico, estando associada a piores prognósticos. Pacientes em terapia intensiva que sofrem de choque, infecção ou trauma reagem inadequadamente a um novo desafio, como a cirurgia, quando apresentam tal achado (Fulk, Stout e Dolan, 2010; Conner, 2017).

b) Glicose

A glicose é absorvida no intestino delgado e transportada para o fígado, onde os hepatócitos, com o auxílio da insulina a transformam em glicogênio e a armazenam (Silva, 2015).

Em animais com insuficiência hepática aguda a glicemia por muitas vezes não se altera graças a sua alta capacidade de armazenamento, mantendo suas concentrações séricas dentro de parâmetros fisiológicos. Embora, não sendo considerado muito comum, em

hepatopatias crônicas é possível encontrar casos de hipoglicemia, relacionados à piores prognósticos. Além deste achado a glicemia deve ser sempre interpretada em amostras obtidas após o jejum, já que hiperglicemia pode ser observada no período pós-prandial (Allison, 2015; Silva, 2015).

Atenção especial deve ser dada a causas extra-hepáticas, que cursam com concentrações baixas de glicose sérica e devem receber diagnósticos diferenciais, tais como pancreatite aguda exócrina, doenças metabólicas, sepse, neoplasia pancreática e uso de medicamentos (Idowu e Heading, 2018).

c) Ureia/Amônia

A amônia é sintetizada pela flora presente no intestino delgado durante a digestão, absorvida e direcionada ao fígado via circulação porta. No tecido hepático é metabolizada em ureia e, posteriormente à proteína. Em casos patológicos, com perda de hepatócitos funcionais ou mesmo redução de aporte sanguíneo ao fígado, é observado o aumento na concentração sérica da amônia e consequentemente redução dos níveis séricos de ureia (Silva, 2015).

Embora a mensuração da amônia seja mais específica e sensível do que a da ureia, as dificuldades analíticas observadas no processamento da amostra a impede de ser utilizada como rotina no laboratório. Já a mensuração de ureia, ainda que apresente fortes interferências extra-hepáticas como *status* de hidratação do paciente e integridade do sistema renal, se mostra mais confiável por apresentar melhor estabilidade *in vitro* (Silva, 2015).

d) Fatores de coagulação

Anormalidades hemostáticas são bastante comuns em cães com doença hepática crônica pela falha na síntese dos diversos fatores de coagulação. Entretanto, deve-se estar atento a outros fatores que também causam coagulopatias, como a deficiência de vitamina K. A vitamina K é lipossolúvel, absorvida no intestino e depende da emulsificação da gordura dietética pela bile. Em processos colestáticos onde há dificuldade ou mesmo bloqueio da excreção da bile para a parte duodenal do intestino, ocorre redução da absorção dessa vitamina e consequentemente os fatores de coagulação dependentes dela se mostram afetados. Animais com hepatopatia podem apresentar aumento nos valores dos tempos de protrombina (TP), tromboplastina parcial ativada (TTPA), atividade de antitrombina (AT) e na concentração de fibrinogênio (Bexfield e Watson, 2006; Allison, 2015).

e) Bilirrubina

A bilirrubina é um dos produtos da degradação da hemoglobina proveniente de hemácias senescentes, que são sequestradas e destruídas pelo sistema mononuclear fagocitário para renovação celular. Após lise das hemácias pelos macrófagos, a hemoglobina é clivada em globina e grupo heme, e este novamente dividido em ferro (reutilizado na eritropoese pela medula óssea) e protoporfirina. Esta por sua vez, é metabolizada em biliverdina e depois em bilirrubina indireta para ser liberada pelos macrófagos. No sangue, a bilirrubina indireta se liga a albumina, proteína carreadora que a conduz ao fígado. Nessa fase também pode ser chamada de bilirrubina não conjugada, já que ainda não passou pelo processo de metabolização hepática. No fígado é finalmente liberada da albumina, sendo captada pelos hepatócitos e metabolizada com a ação do ácido glicurônico em bilirrubina conjugada. Após metabolização hepática, a bilirrubina conjugada é então excretada pela bile e armazenada na vesícula biliar até sua excreção no intestino delgado. Já no intestino delgado é transformada pelas bactérias em urobilinogênio (uma pequena parte é reabsorvida e depois excretada pelo sistema renal) e depois em estercobilinogênio e estercobilina para, finalmente sair nas fezes (Silva, 2015).

Claramente, por depender de metabolização hepática e excreção via bile, patologias que alterem a função hepática e sua excreção, tem como consequência o aumento das concentrações séricas das bilirrubinas. Entretanto, se faz necessário entender os mecanismos patológicos que podem desencadear hiperbilirrubinemia antes de se estabelecer um diagnóstico causal (Silva, 2015).

As anormalidades do metabolismo da bilirrubina podem ser decorrentes de três principais mecanismos patológicos: A) Destruição acelerada dos eritrócitos. A bilirrubina não conjugada nesses casos vai estar mais elevada quando comparada a bilirrubina conjugada, que poderá ainda apresentar discreto aumento decorrente da elevação primária. Neste caso não se mostram dependentes de alterações hepáticas e sim da sobrecarga do sistema pelo aumento da lise eritrocitária; B) Colestase intra-hepática decorrente de doenças hepáticas. Há o aumento tanto da bilirrubina não conjugada, como da bilirrubina conjugada, com predomínio de elevação da segunda. Importante ressaltar a utilização de marcadores enzimáticos de lesão hepatocelular AST e ALT para este diagnóstico diferencial; C) Casos de obstrução do ducto biliar, onde ocorre predomínio do aumento da concentração de bilirrubina conjugada decorrente do influxo do conteúdo biliar e elevação das concentrações de bilirrubina não conjugada em menor magnitude como consequência da elevação primária. É possível ainda

associar o aumento das enzimas de indução pela avaliação colestáticas das enzimas ALP e GGT (Allison, 2015).

3.2.2 Avaliações hematológicas e urinárias

Alterações qualitativas e quantitativas são observadas nos exames hematológicos, principalmente em processos crônicos como consequência da redução das funções hepáticas. Anemia discreta, não regenerativa, normocítica normocrômica condizente com doença crônica é vista com mais frequência, entretanto ainda podem ser observadas anemias com características regenerativas secundárias a sangramentos espontâneos. Acantócitos e codócitos são descritos com frequência, devido à alteração no metabolismo lipídico, entretanto não são patognomônicos para doença hepática. Causa comum de hepatopatia em humanos a anemia falciforme (Praharaj e Anand, 2021) é rara em cães e, geralmente é secundária a hemoglobinopatias adquiridas (Traina e Saad, 2007). É possível ainda, observar trombocitopenias decorrente de hemorragias e leucograma característico de processo inflamatório, infeccioso ou mesmo necrótico como resposta ao processo sistêmico (Mendonça, 2014).

As alterações vistas na urinálise estão principalmente correlacionadas às mudanças que impedem a excreção de substâncias pela via biliar. Essas substâncias não excretadas alteram o resultado dos testes analíticos sendo possível observar presença de bilirrubinúria, urobilinogênio negativo e cristais de biurato de amônio no sedimento urinário de pacientes hepatopatas (Bexfield e Watson, 2006).

3.3 Fisiopatogenia das hepatopatias

O termo hepatopatia tem sido largamente utilizado para descrever alterações hepáticas de curso agudo ou crônico, dessa forma um hepatopata é um portador de doença hepática e a causa deve ser investigada, podendo envolver hepatócitos e células biliares, e ter origens diversas, tais como doenças congênitas, hereditárias (Watson, 2017), hipóxia, intoxicações, doenças metabólicas, inflamação, neoplasias, obstruções e até mesmo alterações hematológicas (Praharaj e Anand, 2021). Importante ressaltar que, apesar de muitas vezes a origem desses distúrbios não ser necessariamente hepática, o órgão e suas funções são afetados indiretamente (Allison, 2015).

Icterícia, vômito, anorexia, ascite, distensão e dor abdominal espontânea ou à palpação, hemorragias, hepatomegalia e convulsões são alguns sinais que o animal com

doença hepática pode apresentar. Muitos desses sinais são inespecíficos, sendo necessário associar a clínica do animal com exames laboratoriais e de imagem (Allison, 2015).

Devido a sua alta capacidade de reserva funcional, armazenamento e atividade regenerativa, são necessários mais de 70% de comprometimento hepático para que exames laboratoriais apontem comprometimento funcional irreversível. A insuficiência hepática aguda e crônica são apresentações patológicas para a doença hepática que possuem peculiaridades e características distintas (Pedroso e Maestri, 2019).

3.3.1 Insuficiência hepática aguda

Na medicina é difícil estabelecer uma definição específica para insuficiência hepática aguda, uma vez que esta se sobrepõe a lesão. Esta última é considerada como dano hepatocelular agudo ou necrose e, também pode afetar a função hepática. Já a insuficiência hepática aguda classifica esse dano celular agudo que, de tão extenso, compromete as funções de síntese, metabolismo, excreção e regulação que o fígado exerce (Weingarten e Sande, 2015).

Na insuficiência hepática aguda as lesões hepáticas ocorrem de forma súbita ou progressiva, relacionadas principalmente a sucessivos danos celulares, entretanto potencialmente reversíveis. Os casos hiperagudos estão relacionados a intoxicações, envenenamentos e doenças virais e, geralmente se instalam no intervalo de uma semana. Os casos de evolução mais lenta ou subaguda podem ser facilmente confundidos com doença hepática crônica, que frequentemente são induzidas por uso de drogas, ou em casos de isquemia, doenças metabólicas e ação de agentes infecciosos. As lesões subagudas, apesar de cursarem com quadros progressivos e aparentemente mais leves, apresentam prognóstico desfavorável por mascararem a gravidade da lesão quando comparada a casos agudos com início rápido (Bernal e Wendon, 2013).

Após injúria celular, que resulta no aumento da permeabilidade e na alteração da membrana celular dos hepatócitos, há extravasamento das enzimas citosólicas para o fluido extracelular e subsequente para o sangue. A magnitude do aumento da atividade enzimática sérica reflete o número de hepatócitos afetados, logo quanto mais extensa a lesão, maiores atividades serão observadas nos exames laboratoriais. Na bioquímica clínica encontram-se resultados elevados das atividades de AST e ALT e, em casos mais extensos ou que cursem com colestase, ALP e GGT. Devido a grande capacidade de armazenamento hepático, marcadores que avaliam função hepática podem não sofrer grandes alterações, entretanto os

primeiros exames que se mostram alterados são os fatores de coagulação, com aumento nos tempos de coagulação e resultados séricos baixos na concentração de albumina e ureia (Bain, 2011).

3.2.2 Doença hepática crônica

O resultado do constante insulto hepático e sua conseqüente evolução crônica é a substituição do parênquima por tecido conjuntivo fibroso. Devido à essa substituição as atividades exercidas pelo fígado se mostram afetadas. Diversas substâncias que deveriam ser metabolizadas a compostos menos nocivos ou redirecionadas a outros compartimentos, para excreção ficam retidas no organismo, prejudicando a homeostase (Cullen e Brown, 2013).

Apesar da característica regenerativa do órgão, em casos crônicos, a reconstituição da massa hepática demanda tempo e depende do número de hepatócitos remanescentes ainda viáveis, do tamanho da extensão de comprometimento, do adequado suprimento sanguíneo e da drenagem correta, para formação da bile. Umas variedades de fatores de crescimento estimulam o hepatócito a se replicar, dessa forma um único episódio de lesão celular, não costuma afetar a estrutura da matriz, entretanto, lesões repetitivas podem alterar a arquitetura lobular tornando-a progressivamente distorcida e de difícil regeneração (Cullen e Brown, 2013).

A conversão da arquitetura hepática normal em lóbulos estruturalmente anormais caracteriza a cirrose, etapa terminal e irreversível das doenças hepáticas. Um estudo realizado com humanos nos Estados Unidos associou um risco 4,7 vezes maior de morte em casos diagnosticados de cirrose compensada, podendo chegar a 9,7 vezes em casos descompensados, com baixa expectativa de vida, inferiores à 13 anos, mesmo nos melhores casos (Ge e Runyon, 2016).

3.4 Relação *De Ritis*

As transaminases são enzimas cuja interpretação da atividade reflete a possibilidade de lesão hepatocelular. Muito utilizadas em painéis bioquímicos de avaliação hepática, o aumento de suas atividades representa um dano potencialmente grave aos hepatócitos. Em seu estudo, Fernando De Ritis, (1957), avaliando 121 casos de aumento nas atividades das transaminases observou que, além do aumento de ambas as enzimas, houve também inversão de proporção das mesmas e que essas proporções poderiam ser utilizadas para orientar no diagnóstico de hepatite viral aguda (De Ritis, Coltorti e Giusti, 2006), denominando a razão

existente entre as duas transaminases como relação *De Ritis*. A relação AST/ALT propicia uma variável numérica, que pode trazer informações sobre o tempo de curso e a agressividade da doença hepática, prevista a partir da meia-vida relativamente curta de AST (12 h) em comparação com da ALT (60 h) e da extensão em que a lesão celular ocorre (Sikaris e Botros, 2013).

Inicialmente descrita como uma ferramenta que auxilia no diagnóstico da hepatite de origem viral, a relação AST/ALT foi avaliada em outros estudos clínicos, com diferentes doenças. Um ensaio científico realizado por Williams e Hoofnagle (1988) demonstrou que, em casos de hepatite crônica associada à cirrose em humanos, a relação AST/ALT apresentava-se significativamente mais elevada, correlacionando a gravidade e evolução da doença a valores mais altos desta relação. Os autores ainda acrescentaram que valores acima de 1,0 em casos de hepatite B crônica, podem sugerir que a cirrose está presente ou em desenvolvimento.

Em outro estudo, pesquisadores buscaram correlacionar parâmetros bioquímicos com a relação AST/ALT de pacientes com hepatite crônica de origem viral (Karim *et al.*, 2015). O que se observou na apresentação dos resultados foram valores elevados de AST, ALT, bilirrubina total e tempo de protrombina, com uma relação AST/ALT de 0,72 (0,33 - 1,07). No mesmo estudo concluíram haver correlação positiva entre AST/ALT (>1,0) e o aumento do tempo de protrombina, com alto valor preditivo positivo para detecção de cirrose hepática, novamente sendo possível reconhecer que valores acima de 1,0 para a relação AST/ALT prediz cirrose em doentes hepáticos crônicos (Karim *et al.*, 2015).

Associações entre casos agudos de hepatite viral e a relação AST/ALT também resultaram em dados interessantes quando analisados. A abordagem feita por Gitlin (1982) utilizou um pequeno grupo de 25 pacientes diagnosticados com hepatite viral aguda a partir dos resultados obtidos da relação das transaminases e observaram que os pacientes sobreviventes apresentaram intervalos mais baixos (0,31 a 0,63), quando comparados aos pacientes que vieram à óbito (1,20 a 2,26).

Atualmente os principais estudos sobre a relação AST/ALT na medicina, correlacionam seu valor prognóstico a diversas patologias hepáticas (Giannini *et al.*, 2002) como carcinoma hepático primário (Yang *et al.*, 2017), outros a alterações extra-hepáticas como o acidente vascular cerebral (Gao *et al.*, 2017), carcinoma de células renais metastático e não metastático (Bezan *et al.*, 2015; Canat *et al.*, 2018; Kang *et al.*, 2018), carcinoma de celular transicionais da bexiga (Lee *et al.*, 2016; Yuk *et al.*, 2019), câncer pancreático (Riedl

et al., 2020), carcinoma nasofaríngeo (Wu *et al.*, 2019a; Knittelfelder *et al.*, 2020), dentre outras diversas neoplasias (Wu *et al.*, 2019b) e, mais recentemente em pacientes internados com suspeita de COVID-19 (Zinellu *et al.*, 2021). Dessa forma, pode-se dizer que a relação AST/ALT deve ser usada, não apenas nas hepatopatias (De Ritis, Coltorti e Giusti, 2006), mas também em diversas doenças extra-hepáticas que cursem com alterações sistêmicas (Gao *et al.*, 2017).

Ainda na medicina, há discussões sobre os intervalos de Relação AST/ALT em diferentes perfis específicos de doenças hepáticas, como em hepatite oriunda do consumo abusivo de álcool, que mantém valores superiores à 1,5, esteatose hepática e causa medicamentosa. Casos de rabdomiólise também podem ser acompanhados por esta razão, quando observado aumento da atividade da isoenzima AST de origem muscular (Sikaris e Botros, 2013).

Embora a relação AST/ALT tenha sido comprovada como uma ferramenta importante na medicina, poucos artigos científicos abordam seu uso em animais. Um estudo publicado em 1987 foi o primeiro envolvendo a utilização da relação AST/ALT a um ensaio clínico veterinário e caracterizou seu valor em cadelas saudáveis, não castradas, assim como demonstrou um aumento significativo em cadelas com piometra quando comparadas a cadelas do grupo controle (Schepper, Van Der Stock e Capiou, 1987).

Em estudo mais recente, cães naturalmente infectados por *Babesia canis* foram avaliados a partir das concentrações séricas das enzimas de lesão hepáticas e a proporção média da relação AST/ALT, comparando animais anêmicos e não anêmicos, azotêmicos e não azotêmicos. Os resultados indicaram que a presença de anemia pouco influenciou na média dos grupos, entretanto a lesão renal contribuiu para o aumento da AST e conseqüentemente elevação da relação AST/ALT (Zygner *et al.*, 2012).

Raghu *et al.* (2018), apresentaram um estudo sobre o uso de marcadores de fibrose hepática e de atividade necro-inflamatória em cães com doença hepática crônica. Dentre os marcadores estudados, a relação AST/ALT não obteve valor significativo para predizer cirrose hepática. Entretanto questões metodológicas podem ter prejudicado essa análise. A população era dividida em dois grupos a partir da confirmação histopatológica de fibrose hepática. No grupo de indivíduos considerados saudáveis destacava-se a presença de dois animais com valores > 1,0, já no grupo de animais associados à fibrose e necrose inflamatória hepática apenas dois animais apresentavam valores > 0,5 e nenhum animal apresentou valores próximos a 1,0. As diferenças entre as espécies e dificuldades logísticas entre o dia da coleta

sérica e da biopsia hepática foram justificativas encontradas para explicar resultados divergentes com o abordado na literatura humana.

Pensando em aprofundar o estudo da relação AST/ALT (*De Ritis*) e sua utilização na Medicina Veterinária, esse trabalho de dissertação teve como principal objetivo analisar resultados de exames hematológicos e bioquímicos séricos de cães, o comportamento das enzimas hepáticas e as médias da relação AST/ALT em diferentes diagnósticos, em 48 horas de evolução, correlacionando o desfecho (óbito/ sobrevida) a estes achados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo retrospectivo analítico cursou com a obtenção de dados de 302 casos de cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e análise de 409 resultados de exames bioquímicos encaminhados aos serviços do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária de janeiro a maio de 2019. Para tanto, fez-se uma pesquisa no sistema de dados integrado utilizado pelo HV/UFMG (UNIUBE), a partir do número de identificação (ID) das amostras cadastradas e encaminhadas ao laboratório. Cada ID recolhido era transpassado a uma tabela de resultados, junto de seu histórico, suspeita clínica ou diagnóstico, data e resultados laboratoriais dos exames hematológicos e perfil bioquímico, histopatológicos e ultrassonográfico.

Quando citado “perfil bioquímico”, trata-se de análises bioquímicas que incluem: ureia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP), gama glutamiltransferase (GGT), glicose, proteínas totais (PT), albumina (ALB) e globulinas (PT-ALB).

Como critérios de inclusão, os cães, independente da raça, sexo ou idade, deveriam apresentar pelo menos um perfil bioquímico completo, segundo lista apresentada anteriormente. Para os exames bioquímicos, as amostras encaminhadas ao laboratório, deveriam apresentar a característica de aspecto físico que foi definido como límpido, discretamente hemolisado ou icterício.

Foram excluídos os casos que não apresentassem conclusão da suspeita clínica ou que apresentaram ausência de exame hematológico ou falha no perfil bioquímico ou amostras séricas intensamente hemolisadas ou lipêmicas.

4.1 Análises das amostras

O perfil bioquímico foi processado de forma semi-automática utilizando-se o equipamento COBAS Mira plus® (Roche) onde foram dosadas as concentrações de ureia, creatinina, AST, ALT, ALP, GGT, glicose, proteína total e albumina, utilizando reagentes comerciais Biotécnica® (Varginha-MG). A globulina foi determinada a partir da subtração da proteína total pela albumina. Para todas as análises seguiu-se o protocolo presente nas bulas dos kits comerciais, conforme protocolo padrão do laboratório de rotina do HV/UFMG. Todos os resultados que se apresentaram fora do intervalo de referência para a espécie, foram

repetidos e checados sendo representado pela média dos valores obtidos, em casos que se observasse variação de até 10%.

Diversos casos apresentaram mais de um exame bioquímico realizado, sendo necessário organizá-los de acordo com a data de liberação dos resultados pelo laboratório. Foi necessário também duplicar os casos em que o animal apresentava mais de um diagnóstico clínico para leitura correta dos programas de estatística, sendo portando, necessário analisar estatisticamente 509 resultados de exames bioquímicos.

4.2 Análises estatísticas

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software R versão 3.6.1 (R CORE TEAM, 2019). Com objetivos diferentes, embora complementares dividiu-se os dados em dois capítulos distintos, para facilitar a discussão e a possível publicação dos resultados.

4.2.1 Experimento 1

Para a primeira análise aplicou-se testes estatísticos para a variável relação AST/ALT descrita através dos valores médios e desvios-padrões, separando-se os animais em: “Saudáveis” e “Hepatopatas”, subdividindo-os em “Hepatopata agudo” e “Hepatopata crônico”. Para testar as diferenças entre grupos, aplicou-se teste não paramétricos de Kruskal-Wallis, (controle x hepatopata x hepatopata agudo x hepatopata crônico).

Os animais foram separados de acordo com o diagnóstico, resultados do perfil bioquímico e exame ultrassonográfico. Quando observado o aumento de ambas as transaminases, estando presente ou não o aumento sérico da ALP e GGT, associado à manutenção das concentrações séricas de ureia, glicose e albumina, e aumento difuso da ecogenicidade observada ao ultrassom o animal foi classificado como “Hepatopata agudo”. Quando observado casos em que ambas as enzimas de lesão apresentam níveis normais de acordo com a referência para a espécie, redução das contrações séricas de ureia e albumina, associado à características ultrassonográficas de cirrose como irregularidades de textura e contorno hepático ou mesmo ascite correlacionada à diminuição sérica da albumina, os animais foram direcionados ao grupo “Hepatopata crônico”.

Com a finalidade de avaliar o efeito da característica física da amostra sobre a relação AST/ALT, aplicou-se o teste estatístico de Mann-Whitney em resultados de amostras de animais saudáveis que apresentaram soro límpido ou discretamente hemolisado.

Acrescentou-se a essa análise os valores hematológicos obtidos através do hemograma: Hemácia, Hemoglobina, Hematócrito (Ht), Volume Corpuscular Médio (VCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos (RDW), contagem de leucócitos totais, neutrófilo em bastão, neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos e plaquetas.

Após a compilação dos dados construiu-se uma tabela de correlações par a par entre a relação AST/ALT e todas as variáveis numéricas (análise multivariada). Esta análise multivariada avaliou todas as variáveis em conjunto, levando em consideração a correlação entre elas. Aplicou-se também o teste de comparações múltiplas (*post-hoc*) de Dunn em todas as variáveis para todos os grupos avaliados.

4.2.2 Experimento 2

Para a análise seguinte, referente ao valor prognóstico da relação AST/ALT aplicaram-se testes não paramétricos Kruskal-Wallis, que avalia diferenças entre mais de dois grupos.

Para análise multivariada acrescentou-se aos dados os valores hematológicos: Hemácia, Hemoglobina, Ht, VCM, CHCM, RDW, leucócitos totais, neutrófilo bastão. Neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos e plaquetas. Gráficos para teste de comparações múltiplas (*post-hoc*) de Dunn foi feito avaliando todas as variáveis do conjunto.

A tabela preparada para análise foi convertida a formato apropriado e realizada de forma não paramétrica através do teste de Spearman sendo calculado para todos os pares de variáveis as correlações que apresentassem características moderadas, fortes e muito fortes de semelhança.

Os grupos foram divididos em controle, sendo representado por pacientes que não apresentaram históricos ou suspeita clínica nem alterações físicas ou laboratoriais compatíveis com doença e o grupo de doentes que foram classificados de acordo com histórico, diagnóstico listado na ficha clínica ou efetuado a partir dos resultados dos exames laboratoriais sendo: cistite/urolitíase, fratura/trauma, patologias gastrointestinais, hemoparasitose, hepatopatia, intoxicação/envenenamento, leishmaniose, ação medicamentosa, nefropatias, paciente oncológico, piometra, problemas de pele. Houve ainda a necessidade de caracterizar melhor determinados grupos. Dessa forma foram compostos subgrupos a partir da análise dos grupos maiores: hepatopatia aguda e crônica; doente renal crônico e insuficiência

renal aguda; enterite e gastrite; leishmaniose com IRA; pacientes oncológicos no momento do diagnóstico (não tratados) e tratados e; problemas de pele simples e sistêmicos.

Para análise do efeito do tratamento pelo tempo, foi feita a média da Relação AST/ALT dos grupos que apresentavam pacientes com pelo menos dois tempos de avaliação laboratorial (0h e 48h). Logo no tempo 0h (M0) os pacientes eram atendidos em meia a crise de hepatopatia aguda, onde eram estabilizados e mantidos em terapia no ambiente hospitalar. Não foi levada em conta qual terapia foi estabelecida para cada caso. Após 48h (M48) do primeiro exame (M0), um segundo exame foi incluído na análise para avaliar evolução e estabilização do caso a partir da média da relação.

Para avaliar o efeito da relação AST/ALT na chance de morte, foi ajustado um modelo de regressão logística, adequado a dados dicotômicos (vivo/óbito), sendo calculada a razão das chances de morte, juntamente com o seu intervalo de confiança.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EXPERIMENTO 1- DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO AST/ALT EM CÃES CONTROLE E HEPATOPATAS

Dos 302 casos incluídos no estudo, 83 foram alocados no grupo “Controle” sendo que 38 casos vieram à consulta para realizar exames pré-operatórios (47%), 12 realizaram exames de *check up*, retorno cirúrgico e suspeita/diagnóstico de otite (cerca de 8% cada) e nove casos estavam correlacionados a suspeita ou diagnóstico de afecção ocular (11%). Embora estes animais não tenham sido considerados hígidos foram classificados como grupo controle para o estudo por não apresentarem comprometimento hepático que pudesse interferir nos resultados analisados.

No grupo “Hepatopatia” foram incluídos 76 exames bioquímicos. Após subdivisão, 61 resultados bioquímicos compuseram o subgrupo “Hepatopatia aguda” e outros 15 o subgrupo “Hepatopatia crônica”.

Foram analisadas as médias e desvios padrões das atividades de enzimas de lesão hepática (AST e ALT) e de indução/colestase (ALP e GGT), associados às dosagens de ureia, creatinina, glicose, proteína total e albumina, demonstrados na Tabela 1. Nos resultados dos animais do grupo controle todas as enzimas se apresentavam com as atividades dentro da referência para a espécie canina. No grupo hepatopatia os valores das enzimas de lesão, indução, a ureia e creatinina demonstraram médias e desvios padrões de concentração sérica mais elevados. As elevações nas atividades dessas enzimas de lesão e indução já são bem

reconhecidas e correlacionadas aos insultos nos hepatócitos. Após lesionado, os hepatócitos apresentam alteração da permeabilidade da sua membrana, causando extravasamento enzimático citoplasmático e das mitocôndrias para o sangue, aumentando assim as atividades séricas (Allison, 2015). Possivelmente por representar a maior parte da população do grupo hepatopatias, o subgrupo hepatopatia aguda apresentou o mesmo perfil de análise do seu grupo de origem.

Tabela 1 - Valores médios e desvio padrão dos exames bioquímicos de cães controle e hepatopatas, subdivididos em agudo e crônico.

EXAME BIOQUÍMICO	GRUPOS			
	Controle (n=83)	Hepatopatia (n=76)	Hepatopatia aguda (n=61)	Hepatopatia crônica (n=15)
ALT (0 - 102 U/L)*	47,06 ± 26,34 ^a	183,1 ± 183,7 ^b	223 ± 188,1 ^b	36,23 ± 22,41 ^a
AST (0 - 66 U/L)*	29,12 ± 7,84 ^a	213,4 ± 431,6 ^b	257,3 ± 477,8 ^b	51,64 ± 27,44 ^b
ALP (0 - 156 U/L)*	68,44 ± 46,31 ^a	708,3 ± 1145 ^b	807,7 ± 1269 ^b	341,6 ± 254,2 ^b
GGT (0 - 10 U/L)*	6,36 ± 8,71 ^a	22,1 ± 49,6 ^b	25,9 ± 55,31 ^b	8,43 ± 7,69 ^{ab}
UREIA (21 - 60 mg/dL)*	42,3 ± 27,13 ^a	103,8 ± 101,5 ^b	122,5 ± 106,1 ^b	34,98 ± 30,45 ^a
CREATININA (0,5 - 1,5 mg/dL)*	0,94 ± 0,44 ^a	2,24 ± 2,63 ^b	2,65 ± 2,83 ^b	5,28 ± 18,06 ^a
GLICOSE (65 - 118 mg/dL)*	100,3 ± 28,9 ^a	93,43 ± 41,02 ^a	96,58 ± 42,84 ^a	81,81 ± 31,95 ^a
PROTEINA TOTAL (5,4 - 7,1g/dL)*	6,1 ± 0,83 ^a	5,28 ± 1,4 ^b	5,43 ± 1,26 ^b	4,71 ± 1,8 ^b
ALBUMINA (2,6 - 3,3 g/dL)*	2,96 ± 0,45 ^a	2,16 ± 0,69 ^{bc}	2,29 ± 0,66 ^b	1,62 ± 0,5 ^c

AST- Aspartato aminotransferase; ALT - Alanina aminotransferase; ALP - Fosfatase alcalina; GGT - Gama glutamiltransferase; Proteína T.- Proteína total; n - Número de exames. *Valores de referência Kaneko, Harvey e Bruss, 1997.

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$)

No subgrupo hepatopatia crônica as enzimas AST e ALT, e a GGT apresentaram diminuições expressivas em suas atividades séricas. Após constantes lesões e insulto hepático, a consequente evolução é a substituição do parênquima hepático por tecido conjuntivo fibroso. A quantidade de AST e ALT presente nos hepatócitos para serem liberadas diminuem, dessa forma podendo apresentar atividades séricas normais ou mesmo reduzidas para a espécie (Allison, 2015). Embora a biopsia hepática *ante mortem* seja indicada para casos de suspeita de cirrose, na rotina veterinária esta prática não é uma rotina, dessa forma os

exames de imagem aparecem no cenário atual como um importante aliado na análise e acompanhamento do parênquima hepático, como descreveram Silva *et al.* (2020). Dos pacientes analisados, consideramos as alterações compatíveis com fibrose hepática observada no exame ultrassonográfico uma importante variável para realocação no subgrupo hepatopatia crônica. Apesar de sua importância como função hepática, a capacidade de armazenamento de substâncias e vitaminas se perde após substituição do parênquima. Moléculas que requerem síntese hepática tendem a reduzir suas concentrações séricas apresentando-se muitas vezes abaixo dos intervalos de referência, como visto para a ureia, proteína total, albumina.

As concentrações séricas de glicose de mostraram constantes em todos os grupos e subgrupos analisados. A glicose, embora metabolizada e armazenada no fígado, manteve seus valores médios dentro dos intervalos fisiológicos, possivelmente graças à alta capacidade de armazenamento, sendo raros os casos de hipoglicemia mesmo em hepatopatias crônicas, embora associados a um mal prognóstico quando presente, como mencionado por Allison (2015) e Silva (2015).

Os valores hematológicos dos casos analisados estão demonstrados na tabela 2 a partir dos dados médios e desvio padrões de cada grupo. Dos dados analisados, o grupo hepatopatia e subgrupos agudo e crônico apresentaram anemia discreta. Possivelmente esse achado está envolvido pela supressão ou defeito na produção dos eritrócitos devido a doença hepática inflamatória, redução da síntese, metabolização e armazenamento de hormônios, vitaminas e minerais importantes para produção eritróide como a eritropoietina, vitamina K e ferro, respectivamente. Outras possíveis causas incluem hemorragias espontâneas devido a baixa síntese dos fatores de coagulação pelo fígado. A avaliação da concentração de hemoglobina média apresentou redução dos valores, caracterizando anemia hipocrômica. Possivelmente relacionada a deficiência de ferro pela inadequada reutilização deste mineral pelo sistema mononuclear fagocitário como mencionado por Weiss (2010).

No leucograma, o grupo de hepatopatia apresentou discreto aumento na contagem total de leucócitos, provavelmente pela intensa leucocitose observada no subgrupo hepatopatia crônica (Tab. 2). A leucocitose observada apresentava desvio nuclear de neutrófilos à esquerda (DNNE) com aumento da presença de neutrófilos bastonetes. Bexfield e Watson (2006) relacionaram as hepatopatias à processos infecciosos, inflamatório e necrótico. O fígado apresenta importante papel na linha de defesa das respostas imune feita a partir dos macrófagos situados no órgão (células de Kupffer, células Natural Killer (NK) e células

dendríticas (Gerken e Knolle, 2000), dessa forma é de se esperar intensas respostas celulares nos processos de hepatopatas.

Tabela 2 - Valores médios e desvio padrão dos exames hematológicos de cães controle e hepatopatas, subdivididos em agudo e crônico.

HEMOGRAMA*	GRUPOS			
	Controle (n=83)	Hepatopatia (n=76)	Hepatopatia aguda (n=61)	Hepatopatia crônica (n=15)
HEMÁCIA (5,5 – 8,5 x 10 ⁶ cél/μL)	6,62 ± 0,88	4,73 ± 1,15	4,80 ± 1,12	4,46 ± 1,26
HEMOGLOBINA (12 – 18 g/dL)	15,2 ± 2,28	10,30 ± 2,81	10,51 ± 2,76	9,52 ± 2,89
HEMATÓCRITO (37 – 55%)	45 ± 5,74	32 ± 8	33 ± 8	30 ± 8
VCM (60 - 77 fL)	67,72 ± 3,80	67,87 ± 3,97	68,29 ± 3,80	66,34 ± 4,37
CHCM (32 - 36 g/dL)	33,99 ± 1,37	31,46 ± 2,08	31,59 ± 2,15	30,98 ± 1,7
LEUCÓCITOS TOTAIS (6000-17000 /μL)	11919 ± 3787	19432 ± 8815	18077 ± 6771	24428 ± 15600
N. bastonete (0-300/μL)	143 ± 225	761 ± 1034	532 ± 697	1602 ± 2186
N. segmentado (3000-11500/μL)	10404 ± 5794	16202 ± 7702	15252 ± 6134	19707 ± 13459
Linfócito (1000-4800/μL)	2142 ± 1124	1331 ± 765	1231 ± 739	1701 ± 777
Monócito (150-1350/μL)	584 ± 382	1009 ± 727	979 ± 678	1121 ± 901
Eosinófilo (100-1250/μL)	575 ± 420	238 ± 235	227 ± 222	274 ± 282
Basófilo (0 /μL)	0	0	0	0
PLAQUETAS (200 – 500x10 ³ céls/mL)	285 ± 112	280 ± 158	259 ± 160	354 ± 94

CHCM- Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; VCM- Volume Corpuscular Médio; N.- Neutrófilo. *Valores de referência Rizzi et al. (2010).

No grupo “controle”, realizou-se uma subdivisão a partir da característica física do soro. Obteve-se então 31 exames bioquímicos compondo o subgrupo “Límpido” (37%) e 52 exames bioquímicos compondo o subgrupo “Discretamente hemolisado” (63%). Após análise estatística com a variável relação AST/ALT, os valores médios e desvio padrão para cada subgrupo não apresentaram diferença significativa, onde $0,79 \pm 0,38$ correspondeu ao subgrupo Límpido e $0,75 \pm 0,39$ ao subgrupo Discretamente hemolisado. No subgrupo discretamente hemolisado há dois casos apresentando valores da relação AST/ALT 1,76 e 1,82, já no subgrupo límpido é possível observar três outliers apresentando relação de 1,62, 1,73 e 1,83. Valores assim representados podem estar relacionados a fatores extra hepáticos,

com discreta redução dos valores de ALT, ou mesmo discretos aumentos de AST ainda dentro dos valores de referência para a espécie. (Figura 1).

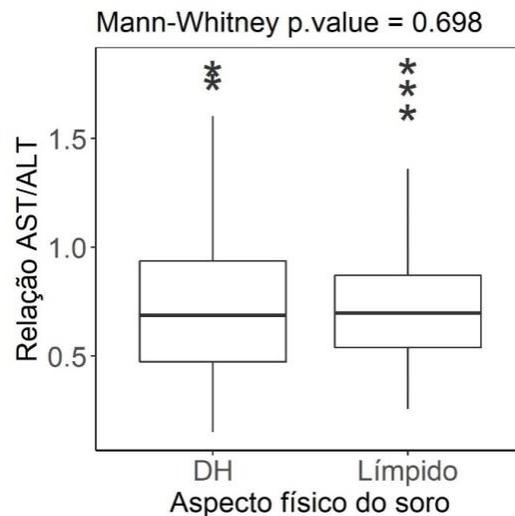


Figura 1 - Análise estatística da variável Relação AST/ALT do grupo controle a partir da característica física do soro.

AST – Aspartato aminotransferase. ALT – Alanina aminotransferase. DH – Discretamente hemolisado. O * representa pacientes com valores outliers.

As médias dos valores da Relação AST/ALT obtidas dos grupos analisados foram expostas juntas na tabela 2. No grupo controle a média encontrada foi de 0,76 com desvio padrão de 0,39 (min. 0,15, máx. 1,83). Valores obtidos em estudo anterior com cadelas saudáveis apresentaram média de $0,6 \pm 0,2$ (Schepper, Van Der Stock e Capiou, 1987), cuja média foi muito parecida com a encontrada no presente estudo.

Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão da Relação AST/ALT encontrada em cães considerados controle e portadores de Hepatopatia, subdivididos em aguda e crônica.

Grupos	Relação AST/ALT	Desvio Padrão
Controle (n=83)	0,76 ^a	0,39
Hepatopatia (n=76)	1,37 ^{ab}	1,43
Hepatopatia aguda (n=61)	1,29 ^{ab}	1,54
Hepatopatia crônica (n=15)	1,71 ^b	0,79

AST - Aspartato aminotransferase; ALT - Alanina aminotransferase; n - Número de exames. Letras diferentes representam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,001$).

É possível que a idade, o sexo e até mesmo a raça possam influenciar de forma discreta esta relação. Valores acima de 3,0 são observados em recém-nascidos, entretanto não se mantém, reduzindo nos cinco dias de vida subsequentes. Em humanos adultos, estudos

sobre os intervalos de referência da AST e ALT demonstraram que homens apresentam atividades mais elevadas do que mulheres, entretanto a relação AST/ALT é mais elevada em mulheres (Sikaris e Botros, 2013). Watson (2017) relaciona a influência genética de algumas raças ao aparecimento de hepatopatias provenientes de anormalidades anatômicas como é visto, por exemplo, nos desvios portossistêmicos e na má formação da placa ductal. A hepatite crônica foi correlacionada ao gênero e idade de algumas raças em estudo realizado no Reino Unido em 2012 por Bexfield e colaboradores. A idade média para cães obtida no estudo foi de oito anos, no entanto Dálmatas, Pinschers Dobermann e Springer Spaniels Ingleses apresentaram-se significativamente mais jovens e destoante das outras raças estudadas. No geral, as fêmeas representaram uma proporção de 1,5:1 quando comparado a machos da mesma raça. Apenas da raça Cocker Spaniel Americano teve super-representação o sexo masculino. Uma das teorias levantadas no estudo está relacionado à possível predisposição de sexo feminino à doenças autoimunes mediadas por células de defesa à proteínas dos hepatócitos (Bexfield *et al.*, 2012).

Ao analisar a média e desvio padrão do grupo Hepatopatia o valor da Relação AST/ALT ($1,37 \pm 1,43$) apresentou valores superiores aos do grupo controle ($0,75 \pm 0,39$), embora não tenha apresentado diferença estatística. Acredita-se que, após instalar terapia de suporte e tratamento adequado, diversos casos, principalmente os agudos, apresentaram tendência de melhora, reduzindo os valores desta relação a níveis estatisticamente semelhantes aos de cães saudáveis. Outra observação relevante é com relação à amplitude dos resultados observados neste grupo. Como pode ser visto no gráfico que houve uma heterogeneidade grande, compreendendo desde animais com valores semelhantes aos do grupo controle até animais com razões duas vezes maiores. Corrobora essa afirmativa a média e desvio padrão obtidos no subgrupo Hepatopatia aguda, $1,29 \pm 1,54$ (min.0,09, máx.7,9), que também não demonstraram diferença estatística. Vale ressaltar que a menor razão observada neste grupo foi de 0,09, mas a maior foi mais de 6x (84%) acima da maior relação observada em animais do grupo controle, o que demonstra a gravidade da alteração. Ao analisar o subgrupo Hepatopatia crônica a média, no entanto se apresentou mais elevada, sendo 1,71 com desvio padrão 0,79 (min.0,67, máx.3,08), valores esses estatisticamente diferentes quando comparados aos do grupo controle (Figura 2).

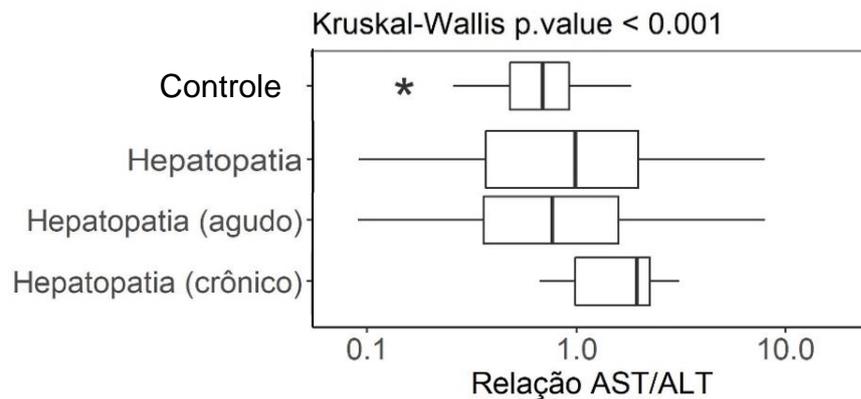


Figura 2 Relação AST/ALT de cães considerados controle e com Hepatopatia subdivididos em Hepatopatia aguda e Hepatopatia Crônica.

AST - Aspartato aminotransferase. ALT- Alanina aminotransferase. O * representa paciente com valor de Relação AST/ALT outliers aos demais que compõem o grupo. Teste não paramétricos de Kruskal-Wallis ($p < 0,001$).

De Ritis apresentou há mais de 60 anos a relação AST/ALT para auxiliar no diagnóstico de casos de hepatite viral aguda. Ao longo do tempo esta relação se mostrou útil para além dos casos agudos em humanos. Gitlin (1982), demonstrou intervalos de 0,31 a 0,63 para pacientes com hepatite viral aguda sobreviventes, contra uma razão de 1,20 a 2,26 para não sobreviventes, cerca de 25% de acréscimo. Tanto Williams e Hoofnagle (1988), como Karim *et al.* (2015), estudando hepatite crônica apresentaram correlação positiva de valores $>1,0$ para casos de cirrose em humanos. Além disso, diversos autores demonstraram que a relação se mostra muito útil para o estabelecimento do prognóstico em diversas neoplasias (Yuk *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2019a; Riedl *et al.*, 2020; Knittelfelder *et al.*, 2020), patologias vasculares (Gao *et al.*, 2017) e infecções sistêmicas (Zinellu *et al.*, 2021). Em todos estes estudos houve correlação do aumento da relação a prognósticos ruins e óbito. Considerando os intervalos obtidos não se pode empregar a mesma razão ($>1,0$) na medicina veterinária como um ponto de corte para diagnóstico de cirrose, já que tanto indivíduos do grupo controle quando hepatopatia aguda apresentavam razões acima de 1,0. Entretanto a diferença estatística observada permite concluir que pacientes com hepatite crônica apresentam elevação gradativa da razão AST/ALT com a evolução da doença.

Na veterinária, dados obtidos de cadelas com piometra, apresentaram aumento expressivo da enzima AST e redução da ALT, conseqüentemente elevando a relação AST/ALT a valores próximos a 2,5 (Schepper, Van Der Stock e Capiiau, 1987). Outro estudo com cães infectados por *Babesia canis* compararam o efeito da anemia e da azotemia na relação AST/ALT em casos agudos de lesão hepática. Em ambos os grupos os cães apresentaram valores elevados da relação AST/ALT, sendo $1,52 \pm 1,15$ e $2,68 \pm 1,52$,

respectivamente. Embora altos, os valores do grupo anemia quando comparado ao grupo de animais não anêmicos, não influenciou a relação, diferente da análise feita a partir do aumento de ureia e creatinina. Foi observado que a azotemia apresentava correlação positiva, sendo visto que o aumento nas concentrações séricas de ureia e da creatinina elevariam o valor da relação AST/ALT, sugerindo que a lesão renal contribui para o aumento da atividade AST em cães (Zygner *et al.*, 2012). Infelizmente, o grupo não deixa claro qual mecanismo e como se relacionam com o aumento da relação, entretanto pode se pensar que o aumento da concentração sérica da AST seja decorrente do acréscimo da isoenzima de origem renal.

No estudo é observado que em casos de hepatopatia crônica a ureia diminui possivelmente pela substituição do parênquima hepático e não metabolização dos compostos nitrogenados. Em casos de suspeita de lesão renal a creatinina se mostra excelente variável para avaliação diferencial se há ou não acréscimo na concentração sérica de AST de origem renal o que aparentemente acontece neste grupo especificamente.

Observou-se a necessidade de estabelecer correlações entre as principais variáveis analisadas e a Relação AST/ALT. Essa necessidade se deu pela falta de informações na medicina veterinária em responder quais analitos possuem correlação significativa com a relação estudada. Apenas as correlações consideradas significativas foram reportadas na Tabela 3, embora outras tenham sido realizadas, tais como com a creatinina e com a proteína total plasmática.

Tabela 4 - Correlação observada entre a Relação AST/ALT atividade de GGT, ALT, ALP e concentração de albumina séricas de 76 cães com hepatopatia.

Variável 1	Variável 2	Valor da Correlação	Valor p
AST/ALT	GGT	-0,54	<0,001
AST/ALT	ALT	-0,49	<0,001
AST/ALT	ALP	-0,47	<0,001
AST/ALT	Albumina	-0,46	<0,001

AST - Aspartato aminotransferase; ALT - Alanina aminotransferase; ALP - Fosfatase alcalina; GGT - Gama glutamiltransferase. Resultados negativos expressam correlações inversas.

Valores de GGT, ALP, ALT e albumina se apresentaram inversamente correlacionados a Relação AST/ALT. Isso significa que, quanto maior o valor da relação, menores são os valores observados para as atividades dessas enzimas e da albumina. É de se esperar que o aumento da relação venha associado à redução na atividade sérica da ALT já que esta faz parte da razão matemática entre as transaminases na posição de denominador.

Em humanos, são relatadas correlações positivas entre AST/ALT e o aumento no tempo de protrombina, bem como a redução na contagem de plaquetas e o aumento da relação AST/ALT. A relação negativa a valores de albumina, encontrada neste estudo também já foi documentada, entretanto, sem apresentar diferença estatística no estudo de Karim *et al.* (2015).

A albumina é um importante analito bioquímico para avaliação da função hepática. Por sua síntese depender quase que exclusivamente da integridade do hepatócito, doentes hepáticos crônicos que estão evoluindo para cirrose, apresentam redução das concentrações séricas dessa proteína. A grande surpresa ficou com a correlação negativa entre a GGT e a ALP. Tanto a Gama glutamiltransferase, como a Fosfatase alcalina são consideradas enzimas de indução e avaliam com maior exatidão doenças que apresentem alteração na estrutura celular dos ductos biliares. Para cães, embora a GGT seja mais específica, ela apresenta menor sensibilidade quando compara à ALP, sendo mais indicada a mensuração conjunta de ambas as enzimas (Allison, 2015). O aumento dessas enzimas é esperado em casos de lesões hepáticas agudas pela indução realizada nos hepatócitos. Embora isso aconteça, os dados obtidos foram contrários apresentando atividades enzimáticas menores de GGT e ALT associados a aumentos da relação AST/ALT em doentes hepáticos. Noguchi *et al.* (2002), avaliaram os possíveis efeitos hepatotóxicos da utilização do óleo de copaíba em ratos e presenciaram o mesmo efeito negativo sendo observado de forma isolada nas mensurações da GGT. Embora tenham afirmado que, para a espécie, a avaliação da enzima não seja tão eficiente para o diagnóstico de colestase, justificaram a observação pela diminuição na captação mitocondrial de oxigênio e por consequência inibição enzimática. Ainda que não possamos confirmar a mesma resposta patológica na espécie canina, uma possível hipótese que justifique a manutenção das concentrações séricas das enzimas seja a inibição enzimática devido a hipóxia no órgão. O mesmo efeito inverso também foi encontrado em cães diagnosticados com leptospirose, e embora tenham correlacionado lesões hepáticas agudas à colestase, não houve aumento da enzima GGT (Freire, Varges e Lilenbaum, 2008).

Acreditamos ainda, que haja outras correlações capazes de serem estabelecidas, como a avaliação sérica da bilirrubina e suas frações e a análise do tempo de protrombina em relação à razão AST/ALT, não sendo possível relacioná-las nesse estudo por se tratar de uma metodologia retrospectiva.

Para cada grupo e subgrupo analisados nesse estudo foi realizada análise multivariada com a finalidade de se obter as correlações específicas do perfil de cada grupo. No perfil de

animais controle, as variáveis predictoras que melhor responderam a análise do grupo foram os valores de glicose, CHCM, albumina e hematócrito, normalmente associados a valores mais altos dessas variáveis e valores menores das variáveis leucócitos totais e bastonete como observado na Figura 3.

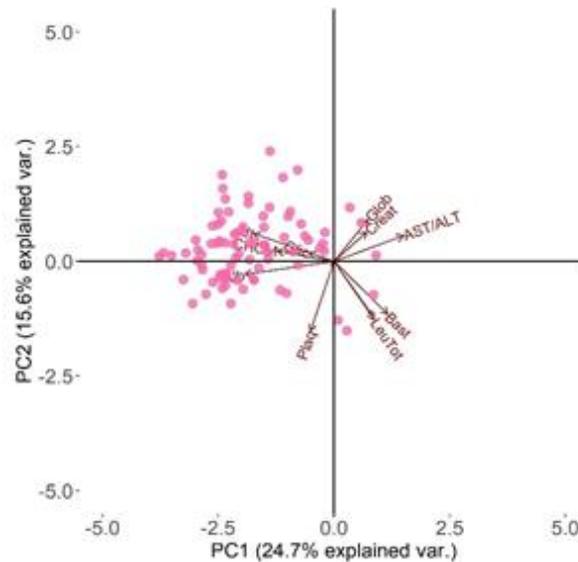


Figura 3 - Análise multivariada que melhor representam os cães do grupo controle.

Alb - Albumina; Pla_q - Plaquetas; Ht - Hematócrito; CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; Glic - Glicose; Glob - Globulina; Creat - Creatinina; AST - Aspartato Aminotransferase; ALT - Alanina Aminotransferase; LeuTot - Leucócitos totais; Bast - Neutrófilos bastonetes.

O grupo hepatopatia representa a união dos subgrupos hepatopatia aguda e crônica. Ao analisarmos o grupo hepatopatia e subgrupo hepatopatia aguda observamos que a população no geral é representada por um perfil espaçado e multivariado. Boa parte da sua população corresponde à fase aguda da doença, possivelmente por isso, o perfil gráfico se mostra igual na análise de ambos os grupos. A partir do gráfico é possível afirmar uma correlação positiva entre a Relação AST/ALT, globulina e creatinina, e de forma inversa as variáveis albumina e plaquetas (Figura 4).

Tanto a albumina como a trombopoetina, são sintetizadas no tecido hepático. Possivelmente a correlação inversa de seus valores ao aumento da relação AST/ALT, está relacionada à baixa metabolização por parte dos hepatócitos tendendo a cronicidade. Pohl *et al.* (2001) e Du *et al.* (2019) confirmaram em seus estudos que valores menores da contagem de plaqueta estavam relacionados ao aumento da relação AST/ALT. Valores iguais ou acima de 1 para AST/ALT, associados a contagem plaquetária menor que 150 mil/mm³ eram altamente sensíveis para predizer diagnóstico de fibrose grave e estágios avançados de cirrose em humanos (Pohl *et al.*, 2001). Embora esta análise não tenha sido realizada no presente

estudo, pôde-se observar extremos opostos no gráfico da análise multivariada, reforçando a importância da avaliação plaquetária em indivíduos portadores de hepatopatias.

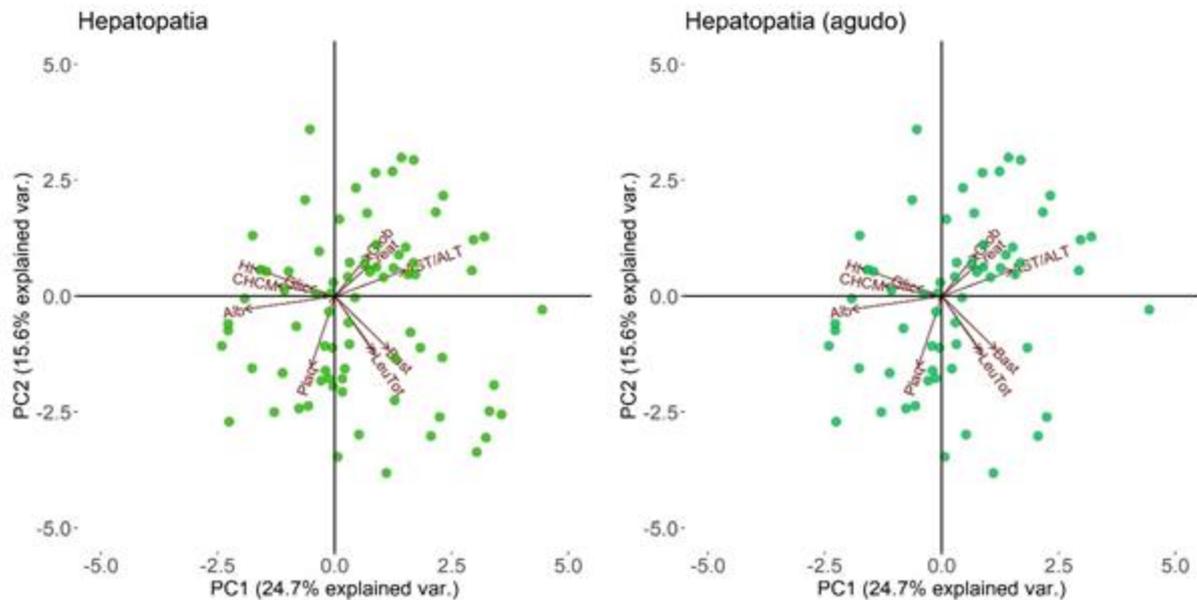


Figura 4 - Análise multivariada do grupo Hepatopatia e subgrupo Hepatopatia aguda.

Alb - Albumina; Pla - Plaquetas; Ht - Hematócrito; CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; Glic - Glicose; Glob - Globulina; Creat - Creatinina; AST - Aspartato Aminotransferase; ALT - Alanina Aminotransferase; LeuTot - Leucócitos totais; Bast - Neutrófilos bastonetes.

Embora apresente perfil espaçado, a pequena população analisada do subgrupo hepatopatia crônica, apresentou valores elevados de leucócitos totais e bastonetes que a princípio lhes conferiram características de variáveis preditoras para esse perfil. Devido ao número pequeno da população desse grupo é necessário que a análise do gráfico ocorra caso a caso (Figura 5).

De modo geral, o leucograma encontrado nos pacientes com hepatopatias se mostrou compatível com o processo inflamatório, infeccioso ou necrótico que cursa em paralelo a doença, da mesma forma como postularam Bexfield e Watson (2006). Na análise dos 15 casos que compuseram o subgrupo da hepatopatia crônica oito casos apresentavam alteração em ultrassom com mineralização e possível abscesso hepático, cinco apresentavam endometrite bacteriana e dois intoxicação por planta tóxica. A importância de se analisar cada caso individualmente é perceber o padrão diagnóstico que compõe esse grupo, cães com uma afecção primária causando intensas e irreversíveis lesões ao fígado.

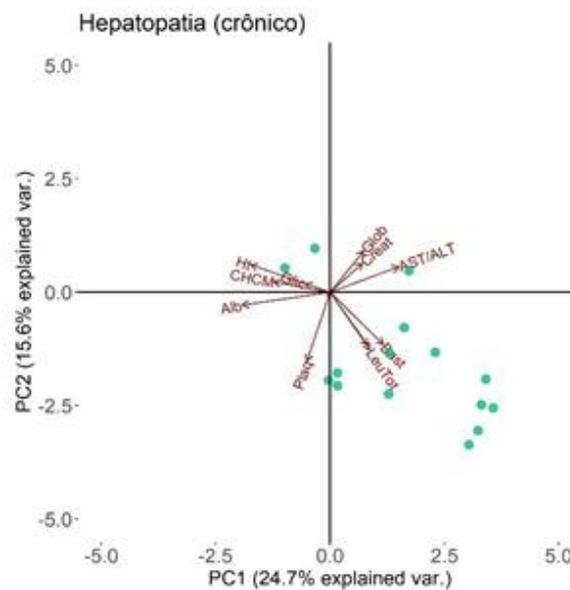


Figura 5 - Análise multivariada do subgrupo Hepatopatia crônica.

Alb - Albumina; Pla - Plaquetas; Ht - Hematócrito; CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; Glic - Glicose; Glob - Globulina; Creat - Creatinina; AST - Aspartato Aminotransferase; ALT - Alanina Aminotransferase; LeuTot - Leucócitos totais; Bast - Neutrófilos bastonetes.

Mendonça (2004) observou que cães com hepatopatia apresentavam aumento na contagem de leucócitos em comparação ao grupo controle. Embora não tenha deixado claro qual grau de comprometimento hepático, seu estudo corrobora com os dados aqui analisados. Imunologicamente, o fígado desempenha um importante papel para a defesa do organismo. Diversos autores já descreveram a atuação das células não parenquimatosas do fígado frente à resposta imune. As células de Kupffer (macrófagos), células NK, células dendríticas e até mesmo diferentes tipos de linfócito exercem papel fundamental na ativação do sistema complemento, opsonização local para remoção de endotoxinas e bactérias, que em decorrência da circulação adentram no organismo e, até mesmo síntese de imunoglobulinas (Gerken e Knolle, 2000; Racanelli e Rehmann, 2006; Crispe, 2009). Pacientes humanos com grave acometimento hepático apresentaram maior prevalência de infecções bacterianas segundo Matos *et al.* (2003). Ainda de acordo com o mesmo estudo, 25% dos casos de pacientes hepatopatas apresentavam também infecções urinárias e pneumonias, o que agravava ainda mais seu estado clínico, aumentando a chances de morte. Possivelmente, para os pacientes com hepatopatia crônica, a baixa na linha de defesa do órgão possa apresentar o influxo de diversos patógenos ao organismo, instalando infecções secundárias as hepatopatias. Por todo o exposto fica claro o quanto pacientes com doenças hepáticas podem ter seus quadros clínicos agravados e devem ser monitorados quanto aos exames laboratoriais.

5.2 EXPERIMENTO II- RELAÇÃO AST/ALT DE CÃES ENFERMOS E SUA RELAÇÃO COM O PROGNÓSTICO

Após análise dos 509 resultados bioquímicos, a divisão dos grupos e subgrupos foi disposta no formato de tabela anexada ao trabalho (ANEXO 1). Os grupos que apresentaram maiores números de exames bioquímicos analisados foram o grupo controle, leishmaniose, hepatopatias e oncológico.

A leishmaniose canina é categorizada como zoonose endêmica em toda grande Belo Horizonte. Desde 1994 com o primeiro caso de Leishmaniose Visceral Humana os índices epidemiológicos de casos em humanos são crescentes. A prevalência no número de casos caninos apresenta-se de forma paralela podendo-se observar na rotina veterinária o aumento nos números de animais infectados (Morais *et al.*, 2015). As hepatopatias estão muito presentes nas patologias caninas por se correlacionarem a qualquer lesão que as células hepáticas possam apresentar, incluindo hipóxia, intoxicações, doenças metabólicas, inflamação, neoplasias e obstruções, sejam lesões diretas ao órgão ou mesmo de forma secundária (Allison, 2015). Com a mudança social familiar e consequentemente inclusão de cães e gatos como membros da família, cães e gatos têm vivido mais e com isso doenças crônicas como câncer, problemas renais podem ser mais vistos na rotina clínica (Modiano e Breen, 2007). Além disso, a presença de uma equipe especializada em pacientes oncológicos no hospital veterinário da UFMG pode ser uma resposta ao grande número de casos incluídos.

As médias e desvios padrão da relação AST/ALT de todos os grupos analisados se encontram na Tabela 4.

O grupo Piometra foi o que apresentou a maior média e desvio padrão de todos os grupos ($2,67 \pm 3,6$) para a relação AST/ALT. Cães com diagnóstico de hiperplasia endometrial cística, a piometra, apresentaram valores de Relação AST/ALT acima de 2,0 em estudos anteriores (Schepper, Van Der Stock e Capiou, 1987). Possivelmente esse fenômeno pode ser explicado pela transmigração bacteriana e das endotoxinas da *Escherichia coli* que agem no fígado causando hepatotoxicidade, conforme mencionaram Marinska e Crovador (2019). Ainda nesse mesmo estudo, os autores observaram que a ALT apresentava atividades séricas menores sendo representado pela média $37,10 \pm 45,9$ U/L (VR: 0 - 102 U/L), categoricamente dentro dos valores de referência para a espécie, enquanto valores elevados de AST apresentaram média $54,3 \pm 44,8$ U/L chegando a ultrapassar em alguns casos analisados o valor de referência para a espécie (VR: 0 – 66 U/L).

Tabela 5 - Número de exames relacionados, média e desvio padrão da relação AST/ALT dos grupos analisados no estudo.

RELAÇÃO AST/ALT			
Grupo	N	Média	Desvio padrão (S)
Controle	83	0,76 ^a	0,39
Leishmaniose	83	1,67 ^{cd}	1,26
Hepatopatia	76	1,37 ^{abd}	1,43
Oncológico	69	1,07 ^{ab}	0,76
Piometra	42	2,67 ^c	3,6
Gastrointestinal	37	0,95 ^{abd}	0,55
Nefropatia	33	1,27 ^{abcd}	0,88
Medicamento	20	0,83 ^a	0,84
Hemoparasitose	19	1,05 ^{abcd}	0,58
Fratura/trauma	13	2,21 ^{bcd}	1,75
Problema de pele	12	0,92 ^{abcd}	0,49
Cistite/urolitíase	12	0,84 ^{abcd}	0,53
Intoxicação/Veneno	10	2,54 ^{bcd}	2,16

N - Número de exames que compõem o grupo; AST: Aspartato aminotransferase; ALT: Alanina aminotransferase. Letras diferentes representam diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,001$).

O segundo grupo a apresentar maior elevação da relação AST/ALT foi o grupo Intoxicação/envenenamento ($2,54 \pm 2,16$). Uma das principais funções hepáticas está associada à metabolização, detoxificação e excreção de agentes nocivos ao organismo. Substâncias hepatotóxicas podem causar lesões graves ao parênquima hepático, segundo Allison (2015) e podem justificar os achados deste estudo.

No grupo Trauma/fratura houve elevada relação AST/ALT ($2,21 \pm 1,75$). Nos animais deste grupo, possivelmente a atividade da isoenzima AST muscular pode ter influenciado o aumento da relação, como é visto em casos de rabdomiólise em humanos (Sikaris e Botros, 2013). A AST apresenta uma isoenzima encontrada no interior das células musculares, que em casos de fratura ou mesmo traumas com lesão de miócitos possivelmente eleva as concentrações séricas da AST. Em casos de dúvidas deve-se associar a mensuração sérica de creatina fosfoquinase (CK), que apresenta uma isoenzima muscular, conforme recomendam Silva (2015) e Cerqueira (2017). Isso não foi realizado por ser a CK uma enzima solicitada separadamente do perfil bioquímico de rotina.

O grupo Leishmaniose também apresentou valor médio da relação entre as transaminases elevado ($1,67 \pm 1,26$), acompanhado do aumento das concentrações de ALT (74,06 U/L) e AST (105,92 U/L). Como este protozoário migra para os órgãos linfóides como fígado e baço, com a finalidade de proliferação, o sistema de defesa representado pelo macrófago tenta destruí-lo, opsonizando as amastigotas. Entretanto, durante esse processo pode danificar as células dos órgãos acometidos (Goto e Prianti, 2009). O aumento das enzimas de lesão encontrados nesse grupo representava a lesão ativa proveniente do sistema de defesa do organismo frente à infecção pela *Leishmania* no fígado.

A média da relação AST/ALT encontrada no grupo Nefropatia foi de $1,27 \pm 0,88$. O mesmo foi observado em 2012 por Zygnier e colaboradores que relataram valores maiores em cães azotêmicos infectados com *Babesia canis* comparados a cães não azotêmicos, também infectados pelo protozoário. O estudo afirma que a lesão renal contribuiu para o aumento da AST (Zygnier *et al.*, 2012). A atividade enzimática da AST, além de ser encontrada no interior dos hepatócitos está também localizada nos rins (Pratt e Kaplan, 2000). Sua elevação mesmo que discreta após histórico de lesão renal pode representar valores altos da relação.

Restringindo a avaliação do grupo de Nefropatia em um perfil específico foi feito a análise multivariada de pacientes apresentando insuficiência renal aguda a partir de todas as variáveis analisadas (Figura 6). Embora sua população tenha se apresentado espaçada no gráfico, boa parte se encontrava no quadrante representado por valores elevados da relação AST/ALT, onde globulina e creatinina também estavam presentes. Embora não seja específica para o sistema renal, a relação entre as transaminases possivelmente pela influência da AST renal seja útil para acompanhamento da evolução nesses pacientes.

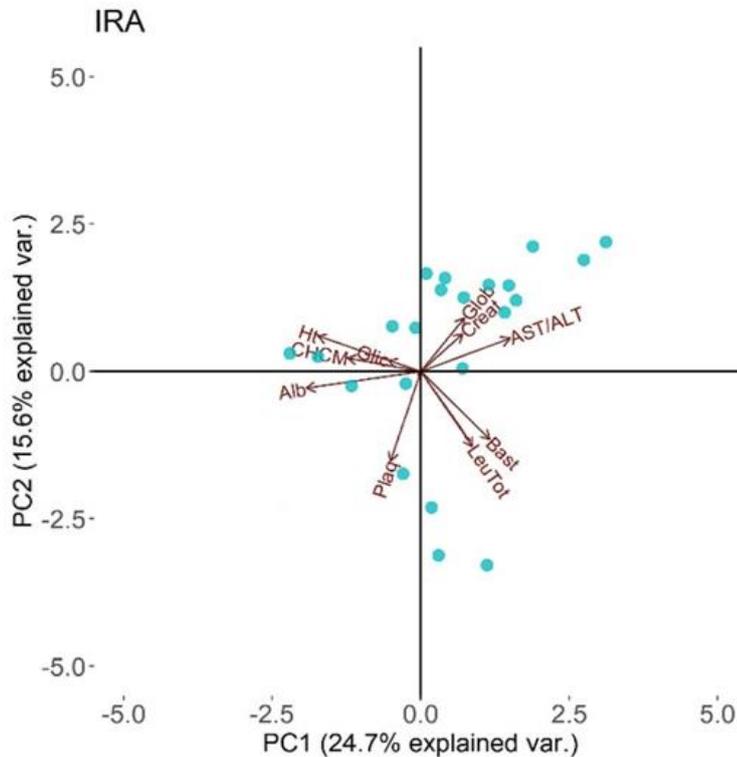


Figura 6 - A análise multivariada entre as variáveis que melhor representam o subgrupo de cães apresentando Insuficiência Renal Aguda (IRA).

Alb - Albumina; Plaqt - Plaquetas; Ht - Hematócrito; CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; Glic - Glicose; Glob - Globulina; Creat - Creatinina; AST - Aspartato Aminotransferase; ALT - Alanina Aminotransferase; LeuTot - Leucócitos totais; Bast - Neutrófilos bastonetes.

A relação AST/ALT do grupo Oncológico apresentou média $1,07 \pm 0,76$. As aminotransferases que estão presentes no metabolismo energético celular são produzidas por diversas células cancerosas e não cancerosas (Bezan *et al.*, 2015). As células cancerosas realizam seu metabolismo energético preferencialmente via glicólise utilizando a glicose como fonte energética principal, sendo conhecido como “efeito Warburg”. Pela AST desempenhar um papel vital na obtenção de glicose via glicólise utilizando aspartato para metabolizar em oxaloacetato, essa condição patológica leva à ativação de mais AST do que ALT em tecidos cancerosos de crescimento rápido (Dang, 2012). Pela facilidade em mensurá-las, a atividade das enzimas AST e ALT pode ser influenciada pelas mudanças relacionadas ao metabolismo das células cancerígenas e se mostra um biomarcador prognóstico útil nestes casos.

Boa parte dos grupos analisados apresentaram valores altos da Relação AST/ALT. No geral, o que é observado na medicina são valores elevados predispondo a prognósticos ruins. Entretanto, deve-se estar atendo as respostas de acordo com o perfil de cada doença. A análise

seriada das enzimas hepáticas bem como a relação AST/ALT comparada em casos que possibilitam a reavaliação, mostram-se interessantes em casos de lesão hepática aguda.

Na Tabela 5, há dois exemplos de doenças que cursam com lesões hepáticas agudas principalmente por causa toxêmica. O momento M0 corresponde ao atendimento inicial do paciente. Nesse atendimento em específico o grupo piometra e intoxicação/veneno apresentaram intensa elevação da relação AST/ALT. Após estabilização e conduta terapêutica estabelecida nos casos atendidos, a análise subsequente da relação AST/ALT, 48h após a primeira análise, embora ainda elevadas, apresentam importante redução.

Tabela 6 - Média e desvio padrão da relação AST/ALT de cães dos grupos piometra e intoxicação/envenenamento analisados no tempo 0h e 48h.

Média e desvio padrão da Relação AST/ALT		
Grupo	0h	48h
Piometra	3,19 ± 4,84	1,66 ± 1,07
Intoxicação/envenenamento	3,49 ± 2,71	2,19 ± 1,38

Deve-se ficar atento a cinética das atividades AST e ALT. Lesões agudas de forma isolada caracterizam aumentos de as ambas as enzimas com gradativa redução a partir da meia vida correspondente a cada aminotransferase de forma isolada. A AST canina apresenta meia vida de até 12h de atividade. Sua constância ou mesmo aumento quando mensuradas em paralelo demonstra lesão ativa no hepatócito. A ALT apresenta uma meia vida de até 2 a 3 dias, não sendo possível confirmar se o aumento da sua atividade está presente ou esteve presente nos últimos dias (Scott e Stockham, 2016b).

De todos os grupos analisados, foi possível estabelecer mensurações seriadas com prazo de 48h de apenas dois grupos: piometra e intoxicação/envenenamento. Ambas patologias ocasionam no fígado lesões agudas devido a toxemia. Pela lesão ativa ao tecido hepático as enzimas de lesão tendem a elevar-se e conseqüentemente é observado um aumento da Relação AS/ALT como observado em ambos os grupos em M0. Após instaurado tratamento e estabilização eficaz dos pacientes, exames bioquímicos feito após 48h possibilitaram observar redução da relação e melhora clínica dos pacientes (Tabela 5). Embora a ALT se apresentasse em alguns casos ainda elevada e fora dos valores de referência para a espécie, a AST apresentava redução significativa em determinados casos. Entendemos então, que valores de Relação AST/ALT que se mantiveram altos ou crescentes em mensurações sequenciais deveriam predizer com mais exatidão curso clínico da doença ou mesmo eficácia do tratamento, quando analisada pontualmente e de forma isolada.

Para avaliar o valor prognóstico da Relação AST/ALT como resposta à óbito, todos as 509 análises dos exames bioquímicos foram incluídas nessa etapa independente em qual grupo o animal estava alocado. Deste total, 37 exames representam o grupo que veio a óbito representando no total uma média e desvio padrão de $1,73 \pm 0,81$ para a relação AST/ALT. Em toda literatura analisada, valores acima de 1,0 encontram-se correlacionados a prognósticos ruins e risco de morte em humanos (Bezan *et al.*, 2015; Gao *et al.*, 2017; Zynellu *et al.*, 2020). Infelizmente na veterinária, ainda não há trabalhos que comparem valor prognóstico da relação AST/ALT em cães.

A avaliação seriada da relação AST/ALT mostrou-se útil em predizem melhor o prognóstico do que quando as enzimas foram analisadas isoladamente. Quando o valor da relação AST/ALT dobrou, representou um aumento de 2,5 vezes a chance de morte (intervalo de 95% de confiança) (Figura 8).

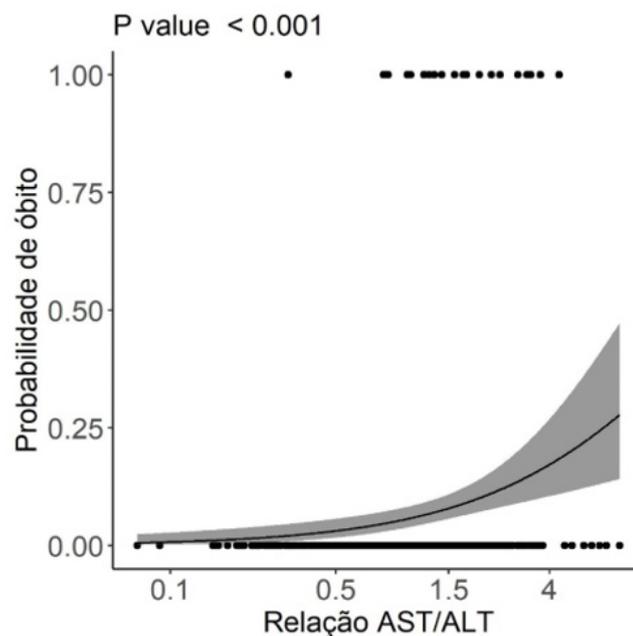


Figura 7 - Correlação entre a Relação AST/ALT com probabilidade de óbito. $p < 0,001$.

6 CONCLUSÕES

1. Independentemente da raça, sexo e idade, pôde-se estabelecer o intervalo de referencia para a relação AST/ALT, sendo os valores mais altos observados em cães hepatopatas crônicos.
2. Amostras de soro ictéricas ou discretamente hemolisadas não interferem na determinação da relação AST/ALT.
3. Neste estudo, a relação De Ritis se mostrou mais eficaz para a identificação de animais portadores de hepatopatas crônicas do que agudas.
4. A determinação seriada (M0 e M48) da relação De Ritis mostrou-se importante para avaliar a eficácia da conduta terapêutica adotada em pacientes com piometra, e pacientes intoxicados/envenenados.
5. Nossos achados sugerem que animais com menores valores da relação AST/ALT tendem a apresentar uma maior taxa de sobrevivência, independentemente da enfermidade que os acometem.
6. Quanto maior a relação AST/ALT maior a chance de óbito, especialmente dentro de 48 horas de evolução.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLISON, R. W. Avaliação laboratorial da função hepática. In.: THRALL, M. A. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 26, p. 853-903. 2015.
- BAIN, P. J. Liver. In.: LATIMER, K. S. Duncan & Prasse's Veterinary laboratory medicine: clinical pathology. 5ª ed. Iowa: Wiley-Blackwell, cap 7, p. 211-230. 2011.
- BARGER, A. M. Clinical Chemistry. In.: BARGER, A. M.; MACNEILL, A. L. Clinical Pathology and Laboratory Techniques for Veterinary Technicians. Iowa: Wiley-Blackwell, cap.4, p. 115-123. 2015.
- BARROS, C. S. L. Fígado, vias biliares e pâncreas exócrino. In.: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. Patologia veterinária. 2ª ed. Rio de Janeiro: Roca, cap. 4, p. 308-459. 2016.
- BERNAL, W.; WENDON, J. Acute Liver Failure. *The New England Journal of Medicine*, v. 369, n. 26, p. 2525-2534. 2013.
- BEXFIELD, N. H.; BUXTON, R. J.; VICEK, T. J.; DIA, M. J. Breed, age and gender distribution of dogs with chronic hepatitis in the United Kingdom. *The Veterinary Journal*, v. 193, p. 124–128. 2012
- BEXFIELD, N.; WATSON, P. Diagnosis of canine liver disease. *In Practice*, n. 28, p. 444-453. 2006.
- BEZAN, A., MRSIC, E.; KRIEGER, D. *et al.* The Preoperative AST/ALT (De Ritis) Ratio Represents a Poor Prognostic Factor in a Cohort of Patients with Nonmetastatic Renal Cell Carcinoma. *Journal of Urology*, v. 194, p. 30-35. 2015.
- BRUSS, M.L.; HARVEY, J.W.; KANEKO, J.J. Clinical biochemistry of domestic animals. 5ª ed. New York: Academic Press, 1997.
- CANAT, L.; ATALY, H. A.; AGALAROV, S. *et al.* The effect of AST/ALT (De Ritis) ratio on survival and its relation to tumor histopathological variables in patients with localized renal cell carcinoma. *International Brazilian Journal of Urology*, v. 44, n. 2, p.288-295. 2018.
- CERQUEIRA, J. A. Cinética de biomarcadores séricos musculares e cardíacos de cães submetidos a exercício intenso e treinamento aeróbio. 2017. 87f. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP.
- CONNER, B. J. Treating Hypoalbuminemia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, v. 47, n. 2, p. 451-459, 2017.
- CRISPE, I. N. The Liver as a Lymphoid Organ. *Annual Review in Immunology*, v.27, p.147-163. 2009.

- CULLEN, J.M.; BROWM, D. L. Sistema Hepatobiliar e Pâncreas Exócrino In: MCGAVIN, D.M.; ZACHARY, J.F. Bases da Patologia Veterinária. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, cap. 8, p. 1039-1148. 2013.
- DANG, C. V. Links between metabolism and câncer. *Genes Development*, v. 26, p. 877-890. 2012.
- DE RITIS, F.; COLTORTI, M.; GIUSTI, G. An enzymic test for the diagnosos of viral hepatitis: the transaminase serum activities. *Clinica Chimica Acta*, n. 369 p. 148–152. 2006.
- DU, Q. C.; HU, C. L.; WANG, Y. Y.; ZHOU, Y. Comparison of the prognostic value of platelet-based prognostic models in patients with malignant hepatic tumors after TACE therapy. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 34, n. 7. 2019.
- FREIRE, I. M. A.; VARGES, R.; LILENBAUM, W. Alterações na bioquímica hepática em cães com leptospirose aguda determinada por amostras do sorogrupo *Icterohaemorrhagiae*. *Ciência Rural*, v. 38, n. 9, p. 2630-2632. 2008.
- FULKS, M.; STOUT, R.L.; DOLAN, V.F. Albumin and all-cause mortality risk in insurance applicants. *Journal of insurance Medicine*, v. 42, n. 1, p. 11-17, 2010.
- GAO, F.; CHEN, C.; LU, J. *et al.* De Ritis ratio (AST/ALT) as an independent predictor of poor outcome in patients with acute ischemic stroke. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, n. 13, p. 1551–1557. 2017.
- GATTA, A.; VERARDO, A.; BOLOGNESI, M. Hypoalbuminemia. *Internal and Emergency Medicine*, v.7, n. 3, p.193-199. 2012.
- GE, P. S.; RUNYON, B. A. Treatment of Patients with Cirrhosis. *The New England Journal of Medicine*, n. 375, p. 767-777. 2016.
- GERKEN, G.; KNOLLE, P. A. Local control of the imune response in the liver. *Immunological Reviews*, v. 174, p. 21–34. 2000.
- GIANNINI, E.; BOTTA, F.; TESTA, E.; RAMAGNOLI, P. The 1-Year and 3-Month Prognostic Utility of the AST/ALT Ratio and Model for End-Stage Liver Disease Score in Patients With Viral Liver Cirrhosis. *The American Journal of Gastroenterology*, v. 97, n. 11, p. 2855-2860. 2002.
- GITLIN, N. The serum glutamic oxaloacetic transaminase/serum glutamic pyruvic transaminase ratio as a prognostic index in severe acute viral hepatitis. *The American Journal of Gastroenterology*, v. 77, n. 1, p. 2-4. 1982.
- GOTO, H.; PRIANTI, M. das G. Imunoativação e imunopatogenia durante leishmaniose visceral ativa. *Revista do Instituto de Medicina Tropical do estado de São Paulo*, v. 51, n. 5, p. 241-246. 2009.

- IDOWU, O.; HEADING, K. Hypoglycemia in dogs: Causes, management, and diagnosis. *Canadian Veterinary Journal*, v.59, n.6, p. 642-649. 2018.
- KANG, M.; YU, J.; SUNG, H. H. *et al.* Prognostic impact of the pretreatment aspartate transaminase/alanine transaminase ratio in patients treated with first-line systemic tyrosine kinase inhibitor therapy for metastatic renal cell carcinoma. *International Journal of Urology*, v. 25, n. 6, p. 596-603. 2018.
- KARIM, S. F.; RAHMAN, R.; SHERMIN, S.; SULTANA, R. Correlation between Aminotransferase Ratio (AST/ALT) and Other Biochemical Parameters in Chronic Liver Disease of Viral Origin. *Delta Medical College Journal*, v. 3, n. 1, p. 13 - 17. 2015.
- KAYSEN, G. A. Biochemistry and biomarkers of inflamed patients: why look, what to assess. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, v.4, n. 1, p. 56-63. 2009.
- KNITTELFELDER, O.; DELAGO, D.; JAKSE, G. *et al.* The AST/ALT (De Ritis) Ratio Predicts Survival in Patients with Oral and Oropharyngeal Cancer. *Diagnostics*, v.10, n. 973, p. 1-14. 2020.
- KÖNIG, H. E. *et al.* Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido. 6ªed. Porto Alegre: Artmed editora ltda, cap.7, p. 364-374. 2016.
- LEE, H.; CHOI, Y. H.; SUNG, H. H. *et al.* De Ritis Ratio (AST/ALT) as a Significant Prognostic Factor in Patients With Upper Tract Urothelial Cancer Treated With Surgery. *Clinical Genitourinary Cancer*, v.15, n.3, p. 379-385. 2016.
- MARINASKA, A. K. E CROVADOR, M. C. Noções clínicas da piometra. *Anais do EVINCI – UniBrasil*, Curitiba, v.5, n.1, p. 395-395. 2019.
- MATTOS, A. A.; CORAL, G. P.; MENTI, E. *et al.* Infecção bacteriana no paciente cirrótico. *Arq Gastroenterol.*, v.40, no.1. 2003.
- MENDONÇA, A. J. Avaliação do perfil hemostático, hematológico e bioquímico de cães com doença hepática. 2004. 73f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP.
- MODIANO, J. F.; BREEN, M. The Etiology of Cancer. In.: WITHROW & MACEWEN'S Small Animal Clinical Oncology. 4ª ed. Missouri: Saunders Elsevier, cap 1 p. 3 - 30. 2007.
- MORAIS, M. H. F.; FIUZA, V. de O. P.; ARAUJO, V. E. M. *et al.* Avaliação das atividades de controle da leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006-2011. *Epidemiologia e Serviço de Saúde*, v. 24, n.3p. 485 - 496. 2015.
- NOGUCHI, A.; DIAS, C. S.; EPAMINONDAS, W. A. *et al.* Níveis séricos de aminotransferases, bilirrubinas e gama-glutamil transpeptidase após a administração de óleo de copaíba em ratos. *Acta Cirurgica Brasileira*, São Paulo, v.17, n.2, p.130-134. 2002.
- PEDROSO, C. K.; MAESTRI, J. S. Hepatite crônica. *Scientia Rural*, v. 19, p.1-9. 2019.

- POHL, A.; BEHLING, C.; OLIVER, D. *et al.* Serum Aminotransferase Levels and Platelet Counts as Predictors of Degree of Fibrosis in Chronic Hepatitis C Virus Infection. *The American Journal of Gastroenterology*, v. 96, n. 11, p. 3142-3146. 2001.
- POSTIC, C.; DENTIN, R.; GIRARD, J. Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diabetes & Metabolism*, n. 30, p. 398-408. 2004.
- PRAHARAJ, D.L., ANAND, A.C. Sickle hepatopathy. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, v. 11, n. 1, p. 82-96, 2021.
- PRATT, D. S; KAPLAN, M. M. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *The New England Journal of Medicine*, v. 342, n. 17, p. 1266–1271. 2000.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2019. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.
- RACANELLI, V.; REHERMANN, B. The Liver as an Immunological Organ. *Hepatology*, v. 43, n. 2, p. 54-62, 2006.
- RAGHU, C.; EKENA, J.; CULLEN, J. M *et al.* Evaluation of potential serum biomarkers of hepatic fibrosis and necroinflammatory activity in dogs with liver disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, n.32, n. 3, p.1009–1018.2018.
- RIEDL, J. M.; POSCH, F.; PRAGER, G. *et al.* The AST/ALT (De Ritis) ratio predicts clinical outcome in patients with pancreatic câncer treated with first-line nab-paclitaxel and gemcitabine: *post hoc* analysis of an Austrian multicenter, non-interventional study. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, n. 12, p.1–12. 2020.
- RIZZI, T. E.; MEINKOTH, J. H., CLINKENBEARD, K. D. Normal Hematology of the Dog. In.: Weiss, D. J. e Wardrop, K. J. Schalm's veterinary hematology. 6^oed. Iowa:Blackwell, cap.104, p.799-810. 2010.
- RODRIGUES, L. F. *Proteínas de fase aguda em cães*. Seminário (Disciplina de Mestrado Seminários Aplicados). Goiânia 2011. 26^f. Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.
- ROTHUIZEN, J. Hepatopatias e doenças do trato biliar. In.: DUNN, J.K. Tratado de medicina de pequenos animais. 1^a ed. São Paulo: Roca, cap. 37, p. 444-482. 2001.
- ROWLAND, A.; MINERS, J. O.; MACKENZIE, P. I. The UDP-glucuronosyltransferases: Their role in drug metabolism and detoxification. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, n. 45, p.1121–1132. 2013.
- SCHEPPER, J. de; VAN DER STOCK, J.; CAPIAU, E. The characteristic pattern of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in the bitch with the cystic hyperplasiapyometra complex:effect of medical or surgical treatment. *Veterinary Research Communications*, n. 11, p. 65-75. 1987.

- SCOTT, M. A.; STOCKHAM, S. L. Enzimas. In.: Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária. 2ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 12, p. 533-561. 2016a.
- SCOTT, M. A.; STOCKHAM, S. L. Enzimas. In.: Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária. 2ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 12, p. 533-561. 2016b.
- SIKARIS, K. A.; BOTROS, M. The De Ritis Ratio: The Test of Time. *Clinical Biochemistry*, v. 34, p. 117-130. 2013.
- SILVA, L. C. M.; OLIVEIRA, J. T.; TOCHETTO, S. *et al.* Análise da elastografia por ultrassonografia em pacientes com esteatose hepática. *Radiologia Brasileira*, v. 53, n.1, p. 47–55. 2020.
- SILVA, R. D. Avaliação Laboratorial do Sistema Hepatobiliar. In.: JERICÓ, M. M. e KOGIKA, M. M. Tratado de medicina interna de cães e gatos. 1ª ed. Rio de Janeiro: Roca, cap.122, p. 3139-3151, 2015.
- SOETERS, P. B.; WOLFE, R. R.; SHENKIN, A. Hypoalbuminemia: Pathogenesis and Clinical Significance. *Journal of Parental and Enteral Nutrition*, v.43, n. 2, p.181-193. 2019.
- TRAINA, F. E.; SAAD, S. T. O. Complicações hepáticas na doença falciforme. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v.29, n. 3, p.299-303. 2007.
- WATSON, P. Canine Breed-Specific Hepatopathies. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, v. 47, v. 3, p. 665-682, 2017.
- Weiss, D. J. Iron and Copper Deficiencies and Disorders of Iron Metabolism. In.: Weiss, D. J. e Wardrop, K. J. Schalm's veterinary hematology. 6ªed. Iowa:Blackwell, cap.26, p.167-171. 2010.
- WEINGARTEN, M. A.; SANDE, A. A. Acute liver failure in dogs and cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, v. 25, n. 4, p. 455–473. 2015.
- WILLIAMS, A. L. B.; HOOFNAGLE, J. H. Ratio of Serum Aspartate to Alanine Aminotransferase in Chronic Hepatitis: Relationship to Cirrhosis. *Gastroenterology*, n. 95, p. 734-739. 1988.
- WU, J.; CHEN, L.; WANG, Y. *et al.* Prognostic value of aspartate transaminase to alanine transaminase (De Ritis) ratio in solid tumors: a pooled analysis of 9,400 patients. *OncoTargets and Therapy*, n. 12, p. 5201–5213. 2019b.
- WU, J.; LI, S.; WANG, Y.; HU, L. Pretreatment Aspartate Aminotransferase-to-Alanine Aminotransferase (De Ritis) Ratio Predicts the Prognosis of Nonmetastatic Nasopharyngeal Carcinoma. *OncoTargets and Therapy*, n. 12, p. 10077–10087. 2019a.
- YANG, J.; HE, X.; HUANG, B. *et al.* Rule of changes in serum GGT levels and GGT/ALT and AST/ALT ratios in primary hepatic carcinoma patients with different AFP levels. *Cancer Biomarkers*, n.1, p. 1–4. 2017.

YUK, H. D.; JEONG, C. W.; KWAK, C. *et al.* De Ritis Ratio (Aspartate Transaminase/Alanine Transaminase) as a Significant Prognostic Factor in Patients Undergoing Radical Cystectomy with Bladder Urothelial Carcinoma: A Propensity Score-Matched Study. *Hindawi Disease Markers*. Article ID 6702964, p. 1-8, 2019.

ZINELLU, A.; ARRU, F.; VITO, A. D. *et al.* The De Ritis ratio as prognostic biomarker of in-hospital mortality in COVID-19 patients. *European Journal of Clinical Investigation*, v. 51, p.1-8 2021.

ZYGNER, W.; GÓJSKA-ZYGNER, O.; NORBURY, L.J.; WĘDRYCHOWICZ, H. Increased AST/ALT ratio in azotaemic dogs infected with *Babesia canis*. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, v.15, n.3, p. 483-486. 2012.

ANEXO A - Apresentação da população que compõem os grupos e subgrupos após realocação de 509 resultados bioquímicos a partir do diagnóstico

	Cistite/Urolitíase	Fratura/Trauma	Gastrointestinal	Hemoparasitose	Hepatopatia	Intoxicação/Veneno	Leishmaniose	Medicamento	Nefropatia	Oncológico	Piometra	Problema de pele	Controle	Total Geral
Cistite/Urolitíase	12													12
DRC									11					11
Enterite			6											6
Fratura/Trauma		13												13
Gastrite			14											14
Gastroenterite			17											17
Hemoparasitose				19										19
Hepatopatia (agudo)					61									61
Hepatopatia (crônico)					15									15
Intoxicação/Veneno						10								10
IRA									22					22
IRA + Leishmaniose							8							8
Leishmaniose							75							75
Medicamento								20						20
Oncológico (diagnóstico)										49				49
Oncológico (tratamento)										20				20
Piometra											42			42
Problema de pele (complexo)												6		6
Problema de pele (simples)												6		6
Saudável													83	83
Total Geral	12	13	37	19	76	10	83	20	33	69	42	12	83	509