

CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE FOSFATASE ALCALINA, GAMA-GLUTAMIL TRANSFERASE, URÉIA E CREATININA EM COELHOS (*Oryctolagus cuniculus*)

MAUREN PICADA EMANUELLI,¹ SONIA TEREZINHA DOS ANJOS LOPES,² ROBERTO MARINHO MACIEL,³
BRUNA CAROLINA GARMATZ⁴ E MAURÍCIO DE OLIVEIRA TAVARES⁵

1. Médica veterinária mestre, professora substituta. Departamento de Clínica de Pequenos Animais – UFSM. Autor para correspondência. Av Roraima 1000, Hospital Veterinário. Santa Maria, RS. CEP 97105 900. E-mail: maurenvet@gmail.com

2. Médica veterinária, doutora, professora adjunto. Departamento de Clínica de Pequenos Animais – UFSM. E-mail: sonia@smail.ufsm.br

3. Médico veterinário, mestre, autônomo. E-mail: roberto.marinho@uol.com.br

4. Aluna de Graduação em Medicina Veterinária – UFSM. E-mail: brunagar@yahoo.com.br

5. Médico veterinário, especialista, autônomo. E-mail: tavaresvet@hotmail.com

RESUMO

As enzimas gama-glutamil transferase e fosfatase alcalina são marcadores séricos de processos colestáticos, sendo importantes no diagnóstico das hepatopatias. A uréia e a creatinina são excretadas através da urina. O aumento dos valores destes metabólitos em nível sérico é subsídio para diagnóstico de alteração da função renal em mamíferos. Procurou-se estabelecer, no presente estudo, valores de referência destas enzimas para coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), visando subsidiar dados para o uso desses animais de laboratório em experimentos científicos. Para tanto, foi realizada colheita sanguínea de 45

animais, três amostras por coelho, totalizando 135 amostras, obtendo-se o soro por centrifugação imediata. Realizou-se o método colorimétrico e obtiveram-se valores de $36,44 \pm 10,66$ mg/dl de uréia, com mínimo de 9,24 mg/dl e máximo de 66,06 mg/dl; $0,94 \pm 0,22$ mg/dl para a creatinina, com mínimo de 0,51 mg/dl e máximo de 1,53 mg/dl e $72,41 \pm 29,68$ UI para fosfatase alcalina, com mínimo de 10,66 UI e máximo de 167,39 UI. A gama-glutamil transferase foi determinada pelo método cinético, revelando o valor de $6,85 \pm 3,31$ UI, mínimo de 2,0 UI e máximo de 15,0 UI.

PALAVRAS-CHAVES: Bioquímica sérica, coelhos, função hepática, função renal.

ABSTRACT

CASE REPORT: ALKALINE PHOSPHATASE, γ -GLUTAMYLTRANSFERASE, UREA AND CREATININE SERUM CONCENTRATION IN RABBITS (*Oryctolagus cuniculus*)

The enzymes γ -Glutamyltransferase (GGT) and Alkaline phosphatase (AP) are serum markers of cholestasis process, becoming an important way of diagnosis in hepatic diseases. Urea and creatinine are eliminated by urine. When these metabolic elements are higher than normal, it is subsided to diagnosis mammals' renal dysfunction. This present study aimed to establish reference values for these enzymes in rabbits (laboratory animals), to obtain data for their use in scientific experiments. Thus, it was collected blood samples in 45 animals; three samples each one,

making a total of 135 blood samples. Serum was separated by immediate centrifugation. Colorimetric method was realized and values from 36.44 ± 10.66 mg/dl for urea, minimum at 9.24 mg/dl and a maximum at 66.06 mg/dl; 0.94 ± 0.22 mg/dl for creatinine, minimum at 0.51 mg/dl and a maximum at 1.53 mg/dl; and 72.41 ± 29.68 UI for AP, minimum at 10.66 UI and a maximum at 167.39 UI, were determinate. The GGT was determined for kinetic method and values from 6.85 ± 3.31 , minimum at 2 UI and a maximum at 15 UI.

KEY WORDS: Hepatic function, rabbits, renal function, serum biochemistry.

INTRODUÇÃO

Os testes bioquímicos específicos usados para avaliar a função hepática podem ser classificados em quatro grupos: os testes indicativos de lesão hepatocelular, representados pela alanina amino transferase (ALT) e aspartato amino transferase (AST); aqueles indicativos de colestase, representados pela fosfatase alcalina (FA) e gama-glutamil transferase (GGT); dosagem de bilirrubina e ácidos biliares, que avaliam o armazenamento, conjugação e secreção hepática; enquanto albumina, glicose, fatores de coagulação e uréia nitrogenada sérica avaliam a síntese hepática (DIAL, 1995).

O aparecimento de sintomatologia clínica na doença hepática está ligado ao comprometimento de mais de 70% da massa hepatocelular (HUGHES & KING, 1995), em que a lesão, independentemente da causa, está geralmente associada a certo grau de colestase, pois os hepatócitos se dilatam obstruindo os canálculos biliares (DUNN, 1992).

A magnitude e duração da atividade enzimática no plasma dependem da atividade de reparação tecidual, da localização celular, da taxa de remoção enzimática do plasma, bem como do tipo, severidade e duração da injúria ou estímulo (MEYER & HARVEY, 1998) e ainda do número de hepatócitos afetados (DUNN, 1992; DIAL, 1995).

O aumento da atividade sérica de FA pode ocorrer em condições de colestase, intra e extra-hepática, indução por drogas ou hormônios, aumento de atividade osteoblástica, hiperfosfatemia hereditária benigna em Huskies Siberianos, animais em crescimento, filhotes que ingeriram e absorveram colostro e fêmeas prenhes. Na necrose celular aguda ela não é prontamente liberada e a elevação de sua concentração é resultante do aumento de sua síntese (DIAL, 1995).

A FA possui isoenzimas em diversos tecidos, tendo maior atividade no fígado, ossos, intestino, rins e placenta. Elas podem ser diferenciadas pelas suas características eletroforéticas, mediante a inibição delas com levamisole (DUNCAN et al., 1994; STEVEN & SCOTT,

2002) e teste de inativação pelo calor, o que não acontece com as demais isoenzimas (DIAL, 1995; STEVEN & SCOTT, 2002). Entretanto, como o uso clínico desses testes ainda não é rotina, a diferenciação deve ser feita através da história e exame físico do paciente (DIAL, 1995).

A distribuição tecidual de GGT inclui diversos tecidos, mas sua maior atividade está nas células do trato biliar, pâncreas e túbulos renais. Em algumas espécies as glândulas mamárias têm alta atividade de GGT (STEVEN & SCOTT, 2002), entretanto o aumento de GGT sérico está associado à doença hepatobiliar, especificamente a colestase intra e extra-hepática (CENTER, 1988; DIAL, 1995) ou indução por drogas como corticóides e anticonvulsivantes (DIAL, 1995). No diagnóstico da doença hepática, a GGT tem baixa sensibilidade, porém com mais especificidade que a FA (DUNCAN et al., 1994; DIAL, 1995).

No caso de teste de função renal, pode-se levar em conta a uréia e a creatinina sérica como marcadores de possível alteração na taxa de filtração glomerular, servindo como parâmetros de evolução, monitoramento do tratamento e progressão da doença (DUNCAN et al., 1994).

A uréia, o produto final do metabolismo protéico, é excretada pelos rins. Quarenta por cento ou mais é reabsorvido pelos túbulos renais, conseqüentemente, os níveis sanguíneos de uréia constituem uma indicação da função renal e podem servir como índice da taxa de filtração glomerular (SCHOSSLER et al., 2001), apesar de, teoricamente, a creatinina ser mais indicada, pois a quantidade de creatinina presente nos rins é mais constante e não é reabsorvida nos túbulos renais, como a uréia (STEVEN & SCOTT, 2002).

A creatinina é derivada da creatina e da fosfocreatina durante o metabolismo muscular e também é excretada pelos glomérulos renais. Para cada redução de 50% da taxa de filtração glomerular, a concentração sérica de creatinina deve duplicar (SCHOSSLER et al., 2001).

A taxa de creatinina sérica está influenciada pela massa muscular e treinamento fisi-

co (DUNCAN et al., 1994) e, ao contrário da uréia sérica, não sofre alteração diante de dietas hiperprotéicas e hemorragias gastrintestinais (MEYER & HARVEY, 1998).

Para FAGUNDES & TAHA (2004), o modelo animal é usado virtualmente em todos os campos da pesquisa biológica nos dias de hoje, visto que existem limitações, às vezes intransponíveis, para se trabalhar com toda uma população.

Este trabalho teve como objetivo determinar valores de referência para FA, GGT, uréia e creatinina séricas em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), comparando-os com valores da literatura e gerando resultados importantes a serem utilizados na pesquisa científica da região, visto que há muita variação de resultados citados por diversos autores.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 45 coelhos adultos, machos ou fêmeas, clinicamente sadios, das raças Nova Zelândia Branca e Califórnia, pesando entre 2 e 4 kg, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria. Os animais eram criados ao ar livre e alojados em gaiolas individuais, medindo 0,80m x 0,50m x 0,50m (comprimento x largura x altura), dotadas de comedouro e bebedouro. A alimentação consistia de 100 a 150g por dia de ração peletizada comercial e água *ad libitum*. Os níveis de garantia da ração comercial eram: umidade máx. 12%, proteína bruta mín. 17%, extrato etéreo mín. 2%, fibra máx. 14%, minerais máx. 13%, cálcio máx. 1,2% e fósforo mín. 0,6%.

A colheita sanguínea foi feita por punção cardíaca, do qual se obteve o soro por centrifugação imediata, a 2.000 rpm, durante dez minutos. Colheram-se três amostras de cada animal, em intervalos semanais, totalizando 135 amostras. Utilizaram-se *kits* comerciais (Labtest, Minas Gerais, Brasil), seguindo o método colorimétrico (Spectronic 21 – Milton Roy Company), para dosar uréia, creatinina e fosfatase alcalina. A gama-glutamil transferase foi determinada através de *kit* comercial pelo método cinético

(Bioplus – BIO 200FL, São Paulo, Brasil). Testaram-se as amostras em duplicata. Obtiveram-se valores médios, desvio-padrão e valores mínimos e máximos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para uréia variaram de 9,24 a 66,06mg/dl, com média de $36,44 \pm 10,66$ mg/dl. Para a creatinina, o valor médio encontrado foi de $0,94 \pm 0,22$ mg/dl, com variação de 0,51 a 1,53mg/dl. A fosfatase alcalina variou de 10,66 a 167,39UI com média de $72,41 \pm 29,68$ UI. Já a gama-glutamil transferase variou de 2 a 15UI, com média de $6,85 \pm 3,31$ UI.

Por meio destes resultados e os obtidos por outros autores (Tabela 1), pôde-se observar que os valores de FA são bastante variáveis, com média de 60,7mg/dl (SCHUMAN, 1984) a 120mg/dl (KANEKO et al., 1997). O resultado obtido neste trabalho ($72,41 \pm 29,68$) está compreendido nesse intervalo, entretanto o desvio-padrão não alcança os resultados de KANEKO et al. (1997).

Os valores de GGT obtidos por MONCORVO et al. (1998) são muito próximos aos deste trabalho e ambos são inferiores aos valores de KANEKO et al. (1997). Os resultados para uréia aferidos por HARKNESS & WAGNER (1993), SCHUMAN (1984), KANEKO et al. (1997) e QUESENBERRY (1998) (Tabela 1) são inferiores aos $36,44 \pm 10,66$ mg/dl deste trabalho.

Os valores alcançados para creatinina estão próximos aos obtidos por HARKNESS & WAGNER (1993) e inferiores a KANEKO et al. (1997), que citam como valor máximo 2,57mg/dl. QUESENBERRY (1998) obteve valores de até 2,5mg/dl, também elevados, com relação aos achados desta pesquisa. De uma forma geral, pôde-se observar que os valores citados por KANEKO et al. (1997), geralmente, são mais elevados que os dos outros autores, com exceção da uréia.

Os dados comparativos de outros autores são, com exceção de MONCORVO et al. (1998), de pesquisas realizadas em países estrangeiros, onde os animais estão sob condições diferenciadas de clima e instalação. Segundo FAGUNDES & TAHA (2004), variáveis como idade, dieta,

sexo, sofrimento, estação do ano, ou temperatura diária, são variáveis intervenientes no processo de pesquisa. Portanto, deve-se ter cuidado a atribuir dados de um experimento a uma determinada espécie ou raça, o que pode justificar a variabilidade de resultados entre os dados obtidos nesse trabalho e os autores pesquisados.

A nutrição dos animais pode ser outra questão a ser considerada, uma vez que altas densidades de animais podem alterar a ingestão alimentar

(FERREIRA & SANTIAGO, 1999), podendo vir a ser mais uma variável, na mensuração de valores de referência, fator controlado pela criação em gaiolas individuais. Desse modo, segundo FAGUNDES & TAHA (2004), a existência de um biotério adequado e tratadores treinados, assim como um administrador eficiente, pode facilitar o controle dessas variáveis, para evitar alterações de homogeneidade da amostra ou das condições de pesquisa.

TABELA 1. Valores bioquímicos séricos em coelhos para FA, GGT, uréia e creatinina

Teste bioquímico	Valor	Autor
Fosfatase alcalina (UI/l)	60,7 ± 8,53	SCHUMAN, 1984
	93,58	MONCORVO et al., 1998
	120 ± 13,8	KANEKO et al., 1997
	72,41 ± 29,68	EMANUELLI et al., 2007
Gama-glutamil transferase (UI/l)	6,6	MONCORVO et al., 1998
	9	KANEKO et al., 1997
	6,85 ± 3,31	EMANUELLI et al., 2007
Uréia (mg/dl)	17 a 23,5 mg/dl	HARKNESS & WAGNER, 1993
	15 ± 2,58 mg/dl	SCHUMAN, 1984
	14,3 ± 3 mg/dl	KANEKO et al., 1997
	13 a 29 mg/dl	QUESENBERRY, 1998
	36,44 ± 10,66	EMANUELLI et al., 2007
Creatinina (mg/dl)	0,8 a 1,8 mg/dl	HARKNESS & WAGNER, 1993
	1,59 ± 0,34 (0,8 – 2,57) mg/dl	KANEKO et al., 1997
	0,5 a 2,5 mg/dl	QUESENBERRY, 1998
	0,94 ± 0,22	EMANUELLI et al., 2007

CONCLUSÃO

Após análise dos dados obtidos conclui-se que os valores de referência obtidos diferem da literatura consultada. Isso mostra a necessidade de obtenção de valores de referência para bioquímica sérica em coelhos, para o uso em pesquisa científica, vista a variabilidade dos resultados encontrados por diversos autores.

REFERÊNCIAS

BISTNER, S.I.; FORD, R.B.; RAFEE, M.R. Interpretação de testes laboratoriais. In: _____. **Manual de procedimentos e tratamento emergencial**. 7. ed. São Paulo: Roca, 2002. p. 607-760.

CENTER, S.A. Avaliação bioquímica da função hepática no cão e gato. In: KIRK, R.W. **Atualização terapêutica veterinária**. São Paulo: Manole, 1988. v.2.

DIAL, S.M. Clinicopathologic evaluation of the liver. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 25, p. 257-273, 1995.

DUNCAN, J.R.; PRASSE, K.W.; MAHAFFEY, E.A. Liver. In: _____. **Veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. 3. ed. IOWA: State University, 1994. p.130-151.

DUNCAN, J.R.; PRASSE, K.W.; MAHAFFEY, E.A. Liver: urinary system. In: _____. **Veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. 3.ed. IOWA: State University, 1994. p. 162-183.

DUNN, J. Assessment of liver damage and dysfunction. **Practice**, v. 14, p. 193-200, 1992.

- FAGUNDES, D.J.; TAHA, M.O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, p. 59-65, 2004.
- FERREIRA, W.M.; SANTIAGO, G.S. Desempenho de coelhos criados em diferentes densidades populacionais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, p.113-117, 1999.
- FORRESTER, S.D.; LESS, G.E. Nefropatias e artropatias. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Manual Saunders: clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1998. p. 901-925.
- HARKNESS, J.E.; WAGNER, J.E. Biologia e manejo In: _____. **Biologia e clínica de coelhos e roedores**. 3. ed. São Paulo: Roca, 1993. p. 8-56.
- HUGHES, D.; KING, L.G. The diagnosis and management of acute liver failure in dog and cats. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 25, p. 257-273, 1995.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, L.M. Appendixes IX In: _____. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. San Diego: Academic, 1997. p. 895-899.
- MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Evaluation of Hepatobiliary System and Skeletal Muscle and Lipid Disorders. In: _____. **Veterinary laboratory medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p.157-186.
- MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Assessment of renal function, urinalysis, and water balance. In: _____. **Veterinary Laboratory Medicine**, Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p.221-235.
- MONCORVO, M.C.R. et al. Tratamento homeopático de hepatotoxicose aguda induzida por tetracloreto de carbono em coelhos. **Ciência Rural**, v. 28, p. 405-409, 1998.
- QUESENBERRY, K.E. Coelhos. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Manual Saunders: clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1998. p. 1503-1522.
- SCHOSSLER, D. et al. Função renal de cães tratados com doses terapêuticas de flunixin meglumine e ketoprofeno durante o trans e pós-operatório. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 16, p. 46-51, 2001.
- SCHUCHMAN, S.M. Cuidados e tratamento individual de coelhos, camundongos, ratos, cobaias, *hamsters* e gerbilos. In: KIRK, R.W. **Atualização terapêutica veterinária de pequenos animais**. São Paulo: Manole, 1984. p. 825-855.
- STEVEN, L.S.; SCOTT, M.S. Urinary Sistem. In: _____. **Fundamentals of veterinary clinical pathology**. Iowa: Iowa State, 2002. p. 277-336.
- STEVEN, L.S.; SCOTT, M.S. Liver function. In: _____. **Fundamentals of veterinary clinical pathology**. Iowa: Iowa State, 2002. p. 461-486.

Protocolado em: 14 mar. 2006. Aceito em: 9 maio 2007.