

PESQUISA DE PIGMENTOS BILIARES E UROBILINOGÊNIO URINÁRIOS E NÍVEL DE BILIRRUBINAS SÉRICAS EM CÃES NORMAIS E COM HEPATOPATIAS

Pedro Manuel Leal GERMANO *
Mitika K. HAGIWARA **

RFMV-A/23

GERMANO, P. M. L. & HAGIWARA, M. K. — *Pesquisa de pigmentos biliares e urobilinogênio urinários e nível de bilirrubinas séricas em cães normais e com hepatopatias. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo. 12:241-6, 1975.*

RESUMO: *Procurou-se relacionar a presença de pigmentos biliares e/ou urobilinogênio urinários, com a taxa de bilirrubina sérica em casos de hepatopatias, observando-se que a presença de pigmentos biliares associada ou não à presença de urobilinogênio na urina, indica de modo geral comprometimento hepático.*

UNITERMOS: *Cães*; Urina, exame*; Pigmentos biliares*; Bilirrubina sérica; Urobilinogênio, Hepatopatias.*

I. INTRODUÇÃO

Os pigmentos biliares se derivam principalmente da degradação dos eritrócitos, cuja vida média no sangue periférico é de 4 meses, sendo destruídos e degradados no sistema retículo endotelial, principalmente no baço e em condições especiais também no fígado⁶.

A função primordial das células retículo endoteliais é eliminar a proteína portadora de oxigênio, hemoglobina, principal componente dos eritrócitos. A porção heme da hemoglobina é constituída de uma estrutura anular orgânica, a porfirina, fixada ao ferro. Durante a degradação do heme é liberado o ferro, o qual é reaproveitado posteriormente para a formação de outras

moléculas. A fração globina, um polipeptídeo, se degrada nas células retículo endoteliais em seus componentes aminoácidos, que ficam assim disponíveis para sintetizar outras proteínas^{1,7}.

Após a liberação do ferro do heme o anel porfirínico não é reaproveitado pelo organismo, sendo transformado no interior das células do sistema retículo endotelial, após um processo de degradação especial, em um composto orgânico chamado biliverdina, que por sua vez se converte em bilirrubina por processo de oxidação^{1,7}.

Ao ser liberado pelas células retículo endoteliais, a bilirrubina é um composto in-

* Médico Veterinário.
Diretor da Clínica Veterinária Butantã, São Paulo.
Estagiário. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal.

** Professor Assistente.
Departamento de Patologia e Clínicas Médicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da U.S.P.

solúvel em água que chega ao fígado através do sangue, carregada pela fração albumina. Ao atingir a célula hepática sofre a ação da glicuronil transferase, resultando no composto bilirrubinadeglicuronídeo, também conhecida como bilirrubina conjugada, a qual é hidrossolúvel.^{1,2,7}

A bilirrubina reage com o reativo diazoico, originalmente descrito por EHRlich, dando uma reação de coloração que permite quantificar exatamente o valor da bilirrubina plasmática ou sérica com a reação de van den Bergh. A solubilidade na água da bilirrubina conjugada permite sua reação direta com o diazoreativo e proporciona a mensuração da chamada "bilirrubina de reação direta" ou tão-somente, "bilirrubina direta" na reação de van den Bergh direta^{1,7}. Para se medir a bilirrubina não conjugada (não solúvel em água), deve-se adicionar álcool ao soro antes do diazoreativo. A fração de bilirrubina metanol-reativa inclui formas tanto conjugadas como não conjugadas, e os valores da bilirrubina de reação indireta ou não conjugada serão obtidos, subtraindo-se a fração de reação direta do total da fração álcool-reativa⁹.

Após sua conjugação nas células hepáticas a bilirrubina direta é então secretada pelas células aos ductos biliares do fígado. Estes canalículos aumentam de diâmetro e se fundem ao nível do hilo do fígado para formar o ducto hepático que se une ao ducto cístico procedente da vesícula biliar, para formarem o colédoco, o qual desemboca no intestino delgado.³

A bilirrubina ao passar pelo intestino sofre a ação da flora intestinal, sendo convertida em um grupo de compostos chamados de urobilinógenos, conversão tão eficaz que normalmente não se detecta bilirrubina nas fezes.⁶

Os urobilinógenos são substâncias incolores detectáveis na urina com o para-dimetil-aminobenzaldeído (reativo de Ehrlich) dando coloração vermelha.

Uma pequena parte do urobilinogênio formado no intestino reflui normalmente para o sangue, através a circulação entero-hepática, onde é absorvido pelas células hepáticas e ressecretado com a bile⁷.

Mediante urobilinogênio marcado radioativamente se pode confirmar diretamente

esta circulação entero-hepática, no homem e nos animais. Os pequenos valores de urobilinogênio hemático, explicam a presença de urobilinogênio urinário em animais sãos, o qual aumenta caso os hepatócitos não logrem excretar o urobilinogênio recebido.^{1,7,10}

Antes de ser excretado fecalmente, grande parte do urobilinogênio é convertido em outro grupo de substâncias, as urobilinas, as quais são as responsáveis pela cor castanha das fezes.

Levando em consideração estes fatos fica claro que um aumento na destruição de eritrócitos, lesão hepática ou obstrução das vias biliares podem causar anomalias no metabolismo dos pigmentos biliares e na excreção do urobilinogênio.^{1,7}

II. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Animais utilizados

Utilizamos 10 animais da espécie canina, que ao exame clínico, apresentavam-se normais e 21 animais selecionados entre aqueles que ao exame clínico apresentavam sintomas de comprometimento hepático, tais como distúrbios digestivos, icterícia ou ascite, independente da raça, sexo, idade, e etc.

2. Coleta do material e tratamento subsequente

a. Urina

As amostras de urina de todos os cães foram coletadas através o cateterismo vesical, tanto para machos como para fêmeas. Após a coleta, as urinas foram imediatamente submetidas às reações de Gmelin⁴ para os pigmentos biliares e de Ehrlich⁴ para o urobilinogênio.

b. Soro

Destes mesmos animais foram coletadas amostras de sangue, tendo sido colhidas das veias safena ou radial, com os devidos cuidados de assepsia e submetidas à imediata centrifugação para se evitar a hemólise. Após o soro foi separado e mantido à temperatura de -10°C até o momento da análise.

Posteriormente submetemos a fração sérica assim obtida à prova de van den Bergh, segundo o método de Malloy e Evelyn.⁹

GERMANO, P. M. L. & HAGIWARA, M. K. — Pesquisa de pigmentos biliares e urobilinogênio urinários e nível de bilirrubinas séricas em cães normais e com hepatopatias. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 12:241-6, 1975.

III. RESULTADOS

Os animais normais não apresentaram pigmentos biliares e urobilinogênio ao exame de urina e os resultados da determinação das bilirrubinas séricas estão apresentados na tabela 1.

Todos os animais por nós estudados, portadores de hepatopatias, apresentaram ao exame de urina forte intensidade de pigmentos biliares, à exceção de 2 casos (11 e 21), enquanto que apenas 3 animais (8, 12 e 15) não apresentaram urobilinogênio urinário, tendo os demais revelado intensidade variando de fraca a forte.

Os resultados da determinação das bilirrubinas séricas, bem como dos exames de urina desses animais, estão apresentados na tabela 2.

TABELA 1

Nível das bilirrubinas séricas (direta, indireta e total) em cães normais.

CASO	BILIRRUBINA (mg/100 ml)			
	N.º	Direta	Indireta	Total
1		0,040	0,060	0,100
2		0,010	0,040	0,050
3		0,070	0,010	0,080
4		0,000	0,100	0,100
5		0,000	0,100	0,100
6		0,000	0,100	0,100
7		0,010	0,040	0,050
8		0,010	0,070	0,080
9		0,000	0,100	0,100
10		0,000	0,100	0,100
Média		0,014	0,072	0,086

TABELA 2

Pesquisa de pigmentos biliares e urobilinogênio urinários e nível de bilirrubinas séricas em cães portadores de hepatopatias.

Caso n.º 6	EXAME DE URINA (intensidade)		BILIRRUBINAS SÉRICAS (mg/100 ml)			
	Provas	Pig. biliares	Urobilinog	B. D.	B. I.	B. T.
1		Fo	Fr	0,30	0,05	0,35
2		Fo	Fr	0,30	0,10	0,40
3		Fo	Fr	0,60	0,35	0,95
4		Fo	Fr	0,30	0,75	1,05
5		Fo	Fr	0,60	0,20	0,80
6		Fo	Fr	0,25	0,00	0,25
7		Fo	Fr	0,10	0,50	0,60
8		Fo	A	0,40	0,20	0,60
9		Fo	Fr	0,30	0,75	1,05
10		Fo	Fr	3,20	0,90	4,10
11		Fr	Fo	0,10	1,80	1,90
12		Fo	A	15,50	3,50	19,00
13		Fo	Fr	8,00	2,00	10,00
14		Fo	Fr	7,56	1,05	8,61
15		Fo	A	12,10	3,90	16,00
16		Fo	Fr	1,50	0,30	1,80
17		Fo	Fr	0,20	0,80	1,00
18		Fo	Fr	0,30	1,20	1,50
19		Fo	Fo	10,40	0,40	10,80
20		Fo	Fo	11,80	4,20	16,00
21		Fr	Fo	0,10	2,90	3,00

Fo = forte; Fr = fraca; A = ausente

B.D. = Bilirrubina Direta; B.I. = Bilirrubina Indireta

B.T. = Bilirrubina Total

IV. DISCUSSÃO

Os valores considerados normais para as bilirrubinas séricas do cão, variam de autor para autor como pode ser observado pela análise da tabela 3.

Os resultados obtidos no presente trabalho, em cães normais, são ligeiramente inferiores aos autores acima citados. O nível médio de bilirrubina direta no soro é da ordem de 0,0140 mg/100 ml, nível esse insuficiente para ultrapassar o limiar de excreção renal como pode ser observado pela ausência de pigmentos biliares na urina.

Nos animais do segundo grupo as bilirrubinas, direta e indireta do soro, se encontravam realmente aumentadas; o nível mínimo de bilirrubina direta observada foi de 0,100 mg/100 ml em 3 animais, dois dos quais apresentavam fraca intensidade de pigmentos biliares na urina. Além desse nível sérico de bilirrubina direta, observamos que todas as amostras de urina apresentavam reação fortemente positiva à pesquisa de pigmentos biliares. Segundo COLES⁴, dentre as espécies animais, o cão apresenta o mais baixo limiar de excreção

renal da bilirrubina conjugada (direta), que ao passar o filtro renal é detectada na urina sob forma de pigmentos biliares. Observamos no presente trabalho que este limiar está ao redor de 0,100 mg/100 ml. Ainda de acordo com COLES⁴, nas hepatopatias o hepatócito pode ou não perder a capacidade de reexcretar o urobilinogênio que lhe chega através a circulação enterohepática, explicando assim a presença de urobilinogênio na maior parte dos casos estudados. O nível de bilirrubina indireta na circulação sanguínea foi extremamente variável, provavelmente devido à diminuição do número de células hepáticas capazes de conjugar a bilirrubina, como sugere BOLLMAN³.

Na maioria dos casos estudados, o nível de bilirrubina direta sérica foi inferior a 4,0 mg/100 ml, com exceção de 6 animais que apresentavam um processo crônico. Segundo CORNELLIUS e KANEKO⁵, nas hepatopatias de um modo geral, observa-se baixo nível de bilirrubina direta na circulação, devido à grande eliminação da mesma através o filtro renal e somente em processos hepáticos graves, tal como cirrose, é que haveria um aumento evidente da concentração sérica da bilirrubina conjugada.

TABELA 3

Valores normais das bilirrubinas séricas do cão segundo diferentes autores.⁴

BILIRRUBINA TOTAL mg/100 ml		BILIRRUBINA DIRETA mg/100 ml		REFERÊNCIAS
Média	Extremos	Média	Extremos	
0,10		0,00		BERGER (1956)
0,10	0,00-0,30	0,07	0,00-0,14	KLAUS (1958)
0,25	0,07-0,61	0,14		MULLER (1960)

V. CONCLUSÕES

1. A presença de pigmentos biliares na urina do cão é observada quando o nível de bilirrubina direta no soro atinge ou ultrapassa 0,10 mg/100 ml, e de modo geral indica a existência de uma hepatopatia.

2. Nas hepatopatias do cão, a quantidade de urobilinogênio urinário pela prova de Ehrlich, varia de intensidade, podendo mesmo estar ausente.

3. As reações fortemente positivas para a pesquisa de pigmentos biliares e urobilinogênio urinários indicam sempre um comprometimento hepático grave.

GERMANO, P. M. L. & HAGIWARA, M. K. — Pesquisa de pigmentos biliares e urobilinogênio urinários e nível de bilirrubinas séricas em cães normais e com hepatopatias. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 12:241-6, 1975.

VI. A G R A D E C I M E N T O

Agradecemos a valiosa colaboração e orientação do Professor Doutor Omar Miguel durante a realização do estágio especializado no Departamento de Medicina

Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, assim como para a realização do presente trabalho, em função da orientação estatística para amostragem e análise dos resultados.

RFMV-A/23

GERMANO, P. M. L. HAGIWARA, M. K. — *Research on bilirrubine, urobilinogen and rate of serum bilirrubin in normal dogs and with hepatic diseases.* *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 12:241-6, 1975.

SUMMARY: *An attempt was made at establishing a relationship between the presence of urinary liver pigments and/or urobilinogen and the rate of seric bilirrubine, in cases of hepatic diseases. The conclusion was that the presence of liver pigments, associated or not with urobilinogen in the urine indicates, hepatic involvement.*

UNITERMS: *Dog*; Liver pigments*; Urine examination*; Hepatic diseases; Seric bilirrubine; Urobilinogen.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BILLING, B. H. et al. — The excretion of bilirubin as a diglucuronide giving the direct van der Bergh reaction. *Biochem. J.*, 65:774, 1957.
2. BLOOM, F. — The diagnosis and treatment of liver diseases of the dog. *North Amer. Vet.*, 38(1):17-27, 1957.
3. BOLLMAN, J. L. — Hepatic function. *Proc. Book Amer. vet. Med. Ass.*, 92: 254-60, 1955.
4. COLLES, E. H. — *Veterinary clinical pathology.* Philadelphia, Saunders Co., 1967.
5. CORNELLIUS, C. E. B. KANEKO, J. J. — *Clinical biochemistry of domestic animals.* New York, Academic Press, 1963.
6. HARRIS, J. W. — *The red cell.* Cambridge Harvard Univ. Press, 1965.
7. JACKSON, A. H. et al. — Molecular species of the urobilins. *Nature*, 209: 581, 1966.
8. LESTER, R. & SCHMID, R. — Intestinal absorption of bile pigments. III. The enterohepatic circulation of urobilinogen in the rat. *J. clin. Invest.*, 44:722, 1965.
9. MALLOY, H. T. & EVELYN, K. A. — The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J. Biol. Chem.* 119:481, 1937.
10. SCHMID, R. in STANBURY, J. B. et al. — *The metabolic basis of inherited diseases.* New York, 2nd ed. McGraw-Hill Book Co., 1966.

Recebido para publicação em 31-7-75

Aprovado para publicação em 17-9-75