

# Introdução à bioquímica clínica veterinária

Félix H. Díaz González  
Sérgio Ceroni da Silva

Terceira edição  
Revisada e ampliada

Colaboradores  
Álan Gomes Pöppl  
Gonzalo J. Diaz  
José Joaquín Cerón  
Rómulo Campos

# **Introdução à bioquímica clínica veterinária**



UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO  
GRANDE DO SUL

---

Reitor

**Rui Vicente Oppermann**

Vice-Reitora e Pró-Reitora  
de Coordenação Acadêmica

**Jane Fraga Tutikian**

---

EDITORA DA UFRGS

Diretor

**Alex Niche Teixeira**

Conselho Editorial

**Carlos Pérez Bergmann**

**Claudia Lima Marques**

**Jane Fraga Tutikian**

**José Vicente Tavares dos Santos**

**Marcelo Antonio Conterato**

**Maria Helena Weber**

**Maria Stephanou**

**Regina Zilberman**

**Temístocles Cezar**

**Valquiria Linck Bassani**

**Alex Niche Teixeira**, presidente

# Introdução à bioquímica clínica veterinária

Félix H. Díaz González  
Sérgio Ceroni da Silva

Terceira Edição  
Revisada e ampliada

Colaboradores  
Álan Gomes Pöpl  
Gonzalo J. Diaz  
José Joaquín Cerón  
Rómulo Campos

© dos autores  
3ª edição: 2017

Direitos reservados desta edição:  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Projeto gráfico: Carla M. Luzzatto  
Revisão textual da 2ª edição: Anna Pinheiro e Magda Collin  
Revisão editorial: Lucas de Andrade  
Editoração eletrônica: Janaína Horn  
Editoração eletrônica complementar: Luciane Delani

## Autores

**Félix H. Díaz González** possui graduação em Medicina Veterinária (Universidad Nacional de Colômbia, 1979), mestrado em Fisiologia Animal (Universidad Nacional de Colômbia, 1985), doutorado em Bioquímica e Fisiologia Animal (Universidade Federal de Viçosa, 1991) e pós-doutorado em Bioquímica Clínica (Universidade de Murcia, Espanha, 2007 e Universidade de Santiago de Compostela, Espanha, 2012). Foi professor de Bioquímica e Fisiologia Veterinárias da Universidad Nacional de Colômbia - sede Bogotá (1983-1995) e desde 1996 é professor no Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Veterinária da UFRGS. É também professor orientador do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Porto Alegre), atuando nas áreas de bioquímica clínica e doenças metabólicas, endócrinas e carenciais em animais domésticos.

**Sérgio Ceroni da Silva** possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), mestrado em Biologia Molecular pelo Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular (UFRGS) e doutorado em Biologia Molecular pela Universidade de Glasgow (Reino Unido). Desde 1987 é professor de Bioquímica Clínica Veterinária e Biologia Molecular Aplicada na Faculdade de Veterinária da UFRGS, tendo atuado também como professor orientador no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias e como pesquisador no Centro de Biotecnologia do Rio Grande do Sul, dessa mesma universidade.

- 
- D542i Díaz González, Félix H.  
Introdução à bioquímica clínica veterinária / Félix H. Díaz González [e] Sérgio Ceroni da Silva; colaboradores Alan Gomes Pöppl, Gonzalo J. Díaz, José Joaquín Cerón [e] Rómulo Campos. – 3. ed. rev. e ampl. – Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2017.  
538 p. il. ; 21x25cm  
(Série Graduação)  
Inclui figuras e tabelas.  
Inclui referências.  
1. Bioquímica clínica veterinária. 2. Medicina Veterinária. 3. Metabolismo. 4. Bioenergética. 5. Fotossíntese. 6. Equilíbrio hidroeletrólítico ácido-base – Alteração. 7. Proteínas – Compostos nitrogenados – Bioquímica clínica. 8. Lipídeos – Bioquímica clínica. 9. Glicídeos – Bioquímica clínica. 10. Minerais – Bioquímica clínica. 11. Bioquímica hormonal. 12. Perfil bioquímico sanguíneo. 13. Bioquímica toxicológica. I. Silva, Sérgio Ceroni da. II. Pöppl, Alan Gomes. III. Díaz, Gonzalo J. IV. Cerón, José Joaquín. V. Campos, Rómulo. VI. Título. VII. Série.

## Colaboradores

**Alan Gomes Pöppl** possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2004). Prestou Residência em Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS (2006), onde atualmente atua como endocrinologista. Obteve o título de Mestre em Fisiologia com ênfase em Endocrinologia pelo Laboratório de Metabolismo e Endocrinologia Comparada do ICBS/UFRGS (2008). Foi Professor Substituto de Bioquímica e Hematologia Clínica Veterinária na UFRGS (2007) e de Clínica de Pequenos Animais na UFSM (2010). Realizou doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS, na área de Endocrinologia e Metabolismo Animal. Tem experiência na área de Endocrinologia de pequenos animais, atuando como pesquisador principalmente nos seguintes temas: receptor de insulina, resistência à insulina, diabetes, insulinoma, hiperadrenocorticismo, hipotireoidismo e outras endocrinopatias.

**Gonzalo J. Díaz** é médico veterinário, especialista em Análise Instrumental de Showa-Sangyo Co., Chiba, Japão, M.Sc. em Toxicologia e Patologia e Ph.D. em Toxicologia e Nutrição da Universidade de Guelph, Canadá, onde também realizou pós-doutorado em proteômica. É professor titular de Toxicologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidad Nacional da Colômbia. Suas publicações, em torno de cem, estão conformadas por artigos científicos, livros e patentes. Seus interesses em pesquisa estão focados à bio-transformação in vitro de micotoxinas e os compostos tóxicos de origem natural, especialmente as micotoxinas e aqueles presentes nas plantas tóxicas.

**José Joaquín Cerón** é médico veterinário da Universidade de Múrcia (Espanha), especialista em técnicas analíticas biossanitárias e doutorado em Veterinária pela mesma Universidade. Atualmente leciona Patologia Clínica Veterinária na Faculdade de Veterinária da Universidade de Múrcia, onde está envolvido em pesquisas sobre biomarcadores sanguíneos em veterinária.

**Rómulo Campos** é médico veterinário formado pela Universidad Nacional da Colômbia, mestre em Ciências Veterinárias pela mesma Universidade e Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Atualmente leciona Fisiologia Animal e Reprodução na Universidad Nacional da Colômbia, campus de Palmira.

CDU 577.1:619

CIP-Brasil. Dados Internacionais de Catalogação na Publicação.  
(Jaqueline Trombin – Bibliotecária responsável CRB10/979)

ISBN 978-85-386-0285-9

À Laura, minha amada filha  
À Renildes , minha amada companheira  
(FHDG)

Aos nossos alunos, cujo espírito crítico  
tem moldado a edição deste livro  
(SCS)



## Prefácio à terceira edição

A bioquímica clínica é uma área da medicina veterinária que vem crescendo em importância no Brasil e no mundo. A 1ª edição deste livro foi publicada em 2003 como uma ferramenta de apoio didático à disciplina ministrada na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Desde então, a contribuição dos seus leitores, principalmente alunos de vários cursos de Medicina Veterinária e de pós-graduação brasileiros, foi determinante na publicação da 2ª edição em 2006 dentro do projeto Série Graduação instaurado pela Editora e a Reitoria da UFRGS.

Esta 3ª edição da obra ganha conteúdo nos aspectos clínicos dos principais transtornos metabólicos, endócrinos e carenciais dos animais domésticos. Nesta ocasião teve fundamental participação o endocrinologista Alan Gomes Pöppel, da UFRGS, nos temas de transtornos endócrinos. O toxicologista e professor da Universidade Nacional da Colômbia – campus Bogotá – Gonzalo Diaz colabora também com um capítulo sobre bioquímica toxicológica, onde aborda os mecanismos de desintoxicação e de ação de alguns tóxicos que operam no metabolismo animal.

O presente livro, revisado, atualizado e ampliado em relação à anterior edição, mantém a sua proposta original de revisar aspectos de bioquímica fundamental e metabolismo de tecidos, ao tempo que aborda os conceitos dos transtornos metabólicos mais comuns em veterinária. Pela aceitação da obra, os autores perceberam a importância de oferecer um texto em temas tanto básicos quanto aplicados, que possam servir de fundamento na hora de aplicar conhecimentos na clínica, na fisiologia e na nutrição animal.

Agradecimento aos nossos colaboradores que nos acompanham desde a 2ª edição, os professores José Joaquín Cerón, da Universidade de Múrcia (Espanha), e Rómulo Campos, da Universidade Nacional da Colômbia – campus Palmira.

Agradecimentos são necessários também a todos aqueles leitores que enviaram seus comentários sobre a obra, o que contribuiu para melhorar a edição atual. Também à Editora da UFRGS, que sempre acreditou na importância de oferecer livros didáticos aos alunos em tempos em que a leitura do livro impresso vem perdendo adeptos para os meios cibernéticos.

Os autores





# Sumário

PREFÁCIO / 7

Capítulo 1

## Conceitos básicos sobre metabolismo

BIOENERGÉTICA / 13

**Energia livre / 13 • Leis da termodinâmica / 13 • Entropia / 14 • Fluxo da energia na biosfera / 15**

**• Relação entre energia livre e constante de equilíbrio de uma reação / 16 • O ATP e a transferência de energia química / 17**

CICLOS DA MATÉRIA NA BIOSFERA / 20

**Ciclo do carbono / 20 • Ciclo do oxigênio / 21 • Ciclo do nitrogênio / 21**

METABOLISMO INTERMEDIÁRIO / 23

**Função do ATP e do NAD no metabolismo / 25 • A divisão do trabalho no metabolismo / 26**

ENZIMAS / 32

**Classificação sistemática das enzimas / 32 • Cinética enzimática / 33 • Medida da atividade enzimática / 36**

**• Inibidores da ação enzimática / 36 • Regulação enzimática / 39 • Isoenzimas / 40**

COFADORES ENZIMÁTICOS / 40

**Nucleotídeos piridínicos / 41 • Nucleotídeos flavínicos / 42 • Tiamina-pirofosfato (TPP) / 42 • Coenzima A (CoA) / 44 • Piridoxal-fosfato / 45**

**• Coenzima B<sub>12</sub> / 46 • Biotina / 49 • Ácido Fólico (Folacina) / 49**

FOTOSSÍNTESE / 50

**A clorofila / 51 • Características da energia solar / 52 • Reação geral da fotossíntese / 53**

**• Reações lumínicas dos cloroplastos / 53 • Reações obscuras da fotossíntese (ciclo de Calvin) / 54 • Plantas C4 / 55**

REFERÊNCIAS / 57

Capítulo 2

## Alterações do equilíbrio hidroeletrólítico e acidobásico

A ÁGUA NOS ORGANISMOS ANIMAIS / 59

**Propriedades físico-químicas da água / 59 • Os produtos de ionização da água / 61**

ÁCIDOS E BASES / 61

SOLUÇÕES TAMPÃO OU *BUFFER* / 62

SISTEMAS TAMPÃO NOS ORGANISMOS ANIMAIS / 64

**O sistema tampão fosfato / 65 • O sistema tampão bicarbonato / 66 • Outros órgãos que interferem no equilíbrio acidobásico / 69**

EQUILÍBRIO HÍDRICO / 71

**O sistema renina-angiotensina / 72 • Vasopressina (Hormônio Antidiurético) / 74**

EQUILÍBRIO ELETROLÍTICO / 74

**Diferença aniônica (DA) / 75 • Excesso de base (EB) / 76 • Osmolalidade / 76**

ALTERAÇÕES DO EQUILÍBRIO HÍDRICO / 77

**Desidratação / 77 • Sobreidratação / 80 • Poliúria e polidipsia / 80 • Diabetes insípida / 84**

ALTERAÇÕES DO EQUILÍBRIO ELETROLÍTICO / 87

**Distúrbios do sódio / 87 • Distúrbios do potássio / 90 • Distúrbios do cloro / 92**

ALTERAÇÕES DO EQUILÍBRIO ACIDOBÁSICO / 92

**Acidose metabólica / 93 · Acidose respiratória / 95 · Alcalose metabólica / 96 · Alcalose respiratória / 97 · Acidose láctica ruminal / 98 · Alcalose ruminal / 104 · Abordagem laboratorial dos desequilíbrios acidobásicos / 107 · Gasometria / 108**

REFERÊNCIAS / 110

Capítulo 3

### **Bioquímica clínica de proteínas e compostos nitrogenados**

INTRODUÇÃO / 113

**Os aminoácidos como unidades básicas das proteínas / 113 · Classificação dos aminoácidos / 113**

· **Propriedades químicas dos aminoácidos / 115 · Aminogramas / 116 · Peptídeos e proteínas / 117**

· **Classificação das proteínas / 117 · Níveis de organização estrutural das proteínas / 118**

· **Solubilidade das proteínas / 119 · Funções das proteínas / 119**

DIGESTÃO E ABSORÇÃO DAS PROTEÍNAS / 120

**Animais monogástricos / 120 · Animais ruminantes / 121**

CATABOLISMO DAS PROTEÍNAS / 122

**Catabolismo dos aminoácidos / 122 · Ciclo da ureia / 124 · Vias catabólicas dos esqueletos carbonados dos aminoácidos / 126**

BIOQUÍMICA DO GRUPO HEME / 128

**Biossíntese do grupo heme / 128 · Degradação do grupo heme / 129 · Metabolismo da bilirrubina / 131 · Bioquímica da respiração / 136 · Transtornos relacionados com compostos nitrogenados / 139 · Icterícias / 144**

· **Intoxicações que comprometem a função do grupo heme / 148 · Intoxicação por ureia (amônia) / 151**

PROTEÍNAS SÉRICAS: QUANTIFICAÇÃO E INTERPRETAÇÃO DE SUAS ALTERAÇÕES / 154

**Proteínas totais / 154 · Eletroforese de proteínas / 158 · Proteínas de fase aguda / 161**

REFERÊNCIAS / 166

Capítulo 4

### **Bioquímica clínica de lipídeos**

INTRODUÇÃO / 167

DIGESTÃO E ABSORÇÃO DOS LIPÍDEOS / 168

**Animais monogástricos / 168 · Animais ruminantes / 169**

ÁCIDOS GRAXOS: A PRINCIPAL CARACTERÍSTICA DOS LIPÍDEOS / 170

**Ácidos graxos essenciais / 170**

OS TRIGLICERÍDEOS: MAIOR FONTE DE ENERGIA / 171

**Rancidez dos lipídeos / 172**

LIPOPROTEÍNAS: TRANSPORTE DOS LIPÍDEOS NO SANGUE / 172

LIPÓLISE: MOBILIZAÇÃO DE TRIGLICERÍDEOS / 174

**Obtenção de energia a partir dos ácidos graxos:  $\beta$ -oxidação / 175 · Corpos cetônicos / 179**

A BIOSÍNTESE DOS ÁCIDOS GRAXOS / 181

**Ação do complexo ácido graxo sintetase (AGS) / 182**

LIPOGÊNESE: A BIOSÍNTESE DE TRIGLICERÍDEOS / 185

IMPORTÂNCIA DO COLESTEROL / 186

**A síntese do colesterol / 188 · O colesterol como precursor dos hormônios esteroidais / 189**

AS PROSTAGLANDINAS / 189

**Biossíntese das prostaglandinas / 191**

TRANSTORNOS DO METABOLISMO DOS LIPÍDEOS / 192

**Introdução / 192 · Cetose das vacas leiteiras / 192 · Cetose dos pequenos ruminantes / 201**

· **Lipidose hepática / 203 · Anormalidades das lipoproteínas plasmáticas / 205 · Hiperlipidemias em animais / 205**

· **Obesidade / 206**

REFERÊNCIAS / 210

## Capítulo 5

### Bioquímica clínica de glicídeos

INTRODUÇÃO / 213

DIGESTÃO E ABSORÇÃO DOS GLICÍDEOS / 213

**Animais monogástricos / 213 · Animais ruminantes / 215**

METABOLISMO DOS GLICÍDEOS / 218

**Armazenagem da glicose: o glicogênio / 218 · Metabolismo da glicose / 221 · A oxidação total do acetil CoA é realizada no ciclo de Krebs / 229 · Gliconeogênese: biossíntese de glicose nova / 237**

**· Biossíntese de lactose / 242 · Fructose como fonte de energia / 243**

O METABOLISMO DOS GLICÍDEOS E OS HORMÔNIOS DO PÂNCREAS / 243

**Insulina / 244 · Glucagon / 246 · Somatostatina / 247**

TRANSTORNOS DO METABOLISMO DOS GLICÍDEOS / 248

**Introdução / 248 · Hipoglicemia / 248 · Hipoglicemia dos leitões / 252 · Insulinoma / 252**

**· Síndrome da vaca caída / 258 · Laminite / 259 · Deslocamento de abomaso (DA) / 264**

**· Diabetes mellitus / 268 · Distúrbios de estocagem de glicogênio / 299**

**· Transtornos congênitos em enzimas do metabolismo dos glicídeos / 299**

REFERÊNCIAS / 302

## Capítulo 6

### Bioquímica clínica de minerais

INTRODUÇÃO / 307

MACROELEMENTOS / 310

**Cálcio / 310 · Transtornos do metabolismo do cálcio / 319 · Hipocalcemia (Febre do leite) / 321 · Eclâmpsia puerperal / 326**

**· Osteoporose / 329 · Raquitismo e osteomalácia / 330 · Hipercalcificação / 331 · Fósforo / 331**

**· Hemoglobinúria puerperal (Hipofosfatemia aguda) / 334 · Potássio / 335 · Enxofre / 336 · Sódio / 337 · Cloro / 338**

**· Magnésio / 339 · Hipomagnesemia (Tetania dos pastos) / 340**

OLIGOELEMENTOS / 341

**Ferro / 341 · Zinco / 343 · Cobre / 345 · Iodo / 347 · Manganês / 350 · Cobalto / 351 · Selênio / 352**

**· Molibdênio / 353**

REFERÊNCIAS / 355

## Capítulo 7

### Bioquímica hormonal

INTRODUÇÃO / 357

CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA DOS HORMÔNIOS / 358

CARACTERÍSTICAS DA ATIVIDADE HORMONAL / 361

MECANISMOS DE AÇÃO HORMONAL / 363

**O cAMP como segundo mensageiro / 364 · O cGMP como segundo mensageiro / 366**

**· O cálcio como segundo mensageiro / 366 · Derivados do fosfatidil-inositol como segundos mensageiros / 367**

**· Outros segundos mensageiros / 369 · As proteínas-quinases como intermediários da ação hormonal / 369**

**· Ação hormonal mediada por receptores nucleares / 369**

TRANSTORNOS DA SECREÇÃO ENDÓCRINA / 370

MÉTODOS DE MEDIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DOS HORMÔNIOS / 372

HORMÔNIOS HIPOTÁLAMO-HIPOFISIÁRIOS / 373

**Hipotálamo / 374 · Hipófise / 377 · Transtornos do hormônio do crescimento / 385**

HORMÔNIOS DA GLÂNDULA ADRENAL / 392

**Hormônios do córtex adrenal / 393 · Transtornos do córtex adrenal / 403 · Hormônios da medula adrenal / 425**

**· Transtornos da medula adrenal / 429 · A glândula adrenal e o estresse / 432**

HORMÔNIOS DA GLÂNDULA TIREOIDE / 434

- **Estrutura da tireoide / 435** • **Biossíntese dos hormônios tireoidianos / 436** • **Transporte e metabolização dos hormônios tireoidianos / 436** • **Funções dos hormônios tireoidianos / 438**
- **Mecanismo de ação dos HT / 440** • **Regulação da função tireoidiana / 440** • **Transtornos da função tireoidiana / 442**
- **Distúrbios relacionados aos hormônios sexuais / 455**

REFERÊNCIAS / 460

Capítulo 8

## **Perfil bioquímico sanguíneo**

INTRODUÇÃO / 463

VALORES DE REFERÊNCIA DO PERFIL BIOQUÍMICO SANGUÍNEO / 463

COLETA E MANEJO DE AMOSTRAS SANGUÍNEAS / 464

- **Coleta de amostras / 465** • **Anticoagulantes / 466** • **Determinações de bioquímica clínica / 467**
- **Determinações de hematologia / 468** • **Determinação do estado acidobásico / 469**

PRINCIPAIS METABÓLITOS SANGUÍNEOS E SUA INTERPRETAÇÃO / 469

- **Ácidos graxos livres / 469** • **Ácido úrico / 470** • **Ácidos biliares / 470** • **Albumina / 470** • **Amônia / 471**
- **Bilirrubina / 472** • **Cálcio / 473** • **Cloro / 474** • **Colesterol / 474** • **Corpos cetônicos / 475** • **Creatinina / 475**
- **Dióxido de carbono / 477** • **Ferro / 477** • **Fructosamina / 478** • **Fósforo / 478** • **Glicose / 479** • **Globulinas / 480**
- **Hemoglobina / 481** • **Hemoglobina glicosilada / 481** • **Lactato / 482** • **Lipídeos totais / 482** • **Magnésio / 482**
- **Potássio / 483** • **Proteínas totais / 484** • **Sódio / 484** • **Triglicerídeos / 484** • **Ureia / 485**

PERFIL ENZIMÁTICO / 486

- **Aldolase (ALD) / 488** • **Alanina aminotransferase (ALT) / 489** • **Amilase (Amyl) / 489** • **Arginase (Arg) / 490**
- **Aspartato aminotransferase (AST) / 490** • **Colinesterase (ChE) / 491** • **Creatina quinase (CK) / 491**
- **Fosfatase ácida (ACP) / 492** • **Fosfatase alcalina (FA) / 492** •  **$\gamma$ -Glutamil transferase (GGT) / 493**
- **Glutamato desidrogenase (GLDH) / 494** • **Glutation peroxidase (GSH-Px) / 494** • **Lactato desidrogenase (LDH) / 494**
- **Lipase (LIP) / 495** • **Sorbitol desidrogenase (SDH) / 495** • **Tripsina (TR) / 495** • **Outras enzimas / 496**

PERFIS BIOQUÍMICOS ESPECÍFICOS / 496

- **Perfil bioquímico no exercício / 496** • **Perfil bioquímico no crescimento / 500** • **Perfil bioquímico no diagnóstico e prognóstico de doenças / 500** • **Perfil bioquímico na avaliação da fertilidade / 502**
- **Perfil bioquímico no diagnóstico de problemas nutricionais / 503**

ANÁLISES PARA MONITORAR A FUNÇÃO RENAL / 505

- **Ureia e creatinina / 505** • **Estimação da taxa de filtração glomerular com provas de *clearance* ou depuração renal / 507**
- **Cálcio e fósforo / 507** • **Potássio / 507** • **Hematócrito / 507** • **A urinálise como ferramenta para avaliar a função renal / 508**
- **Características organolépticas / 508** • **Características físico-químicas / 509** • **Exame do sedimento / 513**

REFERÊNCIAS / 515

Capítulo 9

## **Introdução à bioquímica toxicológica**

INTRODUÇÃO / 517

METABOLISMO E ELIMINAÇÃO DE XENOBIÓTICOS / 517

- **Metabolismo fase I: citocromos P450 / 517** • **Metabolismo fase II / 521** • **Fase III: excreção / 526**

MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE AÇÃO DE TÓXICOS RELEVANTES EM MEDICINA VETERINÁRIA / 529

- **Tóxicos que bloqueiam a cadeia respiratória / 529** • **Tóxicos que alteram o DNA / 529**
- **Tóxicos que bloqueiam o ciclo de Krebs / 529** • **Tóxicos que interferem com o transporte de oxigênio / 531**
- **Tóxicos que causam inibição reversível de enzimas / 531** • **Tóxicos que causam inibição irreversível de enzimas / 531**

REFERÊNCIAS / 534

### BIOENERGÉTICA

A parte da física que estuda as trocas de energia entre os sistemas materiais é conhecida como termodinâmica. O mesmo estudo, quando realizado nos seres vivos, recebe o nome de bioenergética. As leis físicas da termodinâmica são aplicadas de igual forma aos seres vivos e aos sistemas materiais. Os seres vivos precisam produzir energia para poder manter o equilíbrio de sua estrutura, para se locomoverem, para a reprodução, e para manterem as funções normais nos diferentes processos, tais como crescimento, gestação, lactação, oviposição e ciclicidade reprodutiva. Essa energia é obtida a partir de processos químicos que ocorrem no interior das células.

### Energia livre

A energia capaz de produzir um trabalho é denominada energia livre. Existem várias formas de energia, as quais podem ser interconvertidas entre si: energia potencial, cinética, térmica, elétrica, radiante, química, nuclear, calórica, hidráulica, eólica. No processo de interconversão de uma forma de energia a outra, sempre há uma perda de energia útil. Nas máquinas, é aproveitável até 25 % da energia contida em um sistema em uma interconversão, enquanto, nos processos biológicos, a eficiência de conservação da energia em uma interconversão é da ordem de 38 %.

Nos animais, a energia é obtida a partir da oxidação de compostos orgânicos. Segundo Lavoisier, um dos pioneiros no estudo da bioenergética, “[...] os animais que respiram são verdadeiros corpos combustíveis que se queimam e consomem a si mesmos [...]; poder-se-ia dizer que [...] a tocha da vida se acende pela primeira vez no momento em que se nasce e somente se extingue com a morte”.

### Leis da termodinâmica

Em termodinâmica, um sistema, do ponto de vista físico, é definido como uma parte limitada do universo, caracterizada por um conjunto finito de variáveis que o identificam. Um sistema pode ser um organismo, uma célula, uma organela citoplasmática ou os componentes de uma reação química. O sistema é considerado “aberto” quando está em contato com um meio com o qual tem troca de matéria e energia, como é o caso dos sistemas vivos. Estes nunca estão em equilíbrio com seu meio, pois o nível de organização interna dos sistemas é maior do que o do meio.

A primeira lei da termodinâmica é o princípio da conservação da energia, a qual estabelece que, em qualquer mudança física ou química, a energia do sistema mais a energia do meio, isto é, a energia do universo, permanece igual. Em outras palavras, a energia pode transformar-se de uma forma a outra, mas não pode ser criada nem destruída.

A segunda lei da termodinâmica assinala que todas as mudanças físicas ou químicas tendem a se realizar, de forma espontânea, naquela direção que leve a energia do universo a se degradar para uma forma mais dispersa. Portanto, as reações físico-químicas que acontecem na natureza tendem ao aumento da entropia.

Em todos os processos, a entropia do universo (sistema + meio) tende a aumentar até atingir o equilíbrio, isto é, até que a energia do sistema seja igual à energia do meio. De certo modo, a entropia pode ser interpretada como a tendência à desordem ou à aleatoriedade dos processos. A segunda lei da termodinâmica estabelece, portanto, que o direcionamento dos processos físico-químicos no universo está determinado pela tendência para atingirem um valor máximo de entropia.

## Entropia

A entropia é uma forma de energia não-utilizável, ou seja uma energia “inútil”. As mudanças de entropia em um sistema ou em uma reação química podem ser medidas a partir da variação de energia livre, definida segundo a equação da energia livre de Gibbs:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

onde:

$\Delta G$  = variação da energia livre do sistema (em J/mol)

$\Delta H$  = variação da entalpia do sistema (em J/mol)

T = temperatura na qual é realizado o processo (em °K; 0 °C = 273 °K)

$\Delta S$  = variação da entropia do sistema (em J/°K).

Portanto, a variação de energia livre de um sistema está determinada pela variação da entalpia, pela temperatura do meio e pela variação da entropia.

A entalpia é definida como o conteúdo calórico de um sistema. Em sistemas químicos, refere-se ao número e ao tipo de ligações entre os átomos de uma molécula, de forma que, quanto mais ligações tiver a molécula e quanto maior for a energia dessas ligações, maior é a entalpia do sistema.

Quando uma reação química é termodinamicamente favorável, isto é, quando ela pode ocorrer espontaneamente, a reação se realiza até atingir o seu ponto de equilíbrio, aumentando a entropia do sistema. Isso significa que toda reação com tendência a ocorrer de forma espontânea terá uma variação de entropia ( $\Delta S$ ) com valor positivo, isto é, a entropia do sistema aumenta quando a reação se realiza.

Ora, segundo a equação de Gibbs, concomitante com o aumento da entropia há diminuição da energia livre do sistema, ou seja,  $\Delta G$  (variação de energia livre) terá um valor negativo. Por outra parte, numa reação termodinamicamente favorável, o sistema diminui a sua energia interna (entalpia), pois perde organização interna. Dessa forma, aumenta a “desordem” do sistema, isto é, aumenta a entropia. Em compensação, a reação libera energia que pode ser aproveitada em algum trabalho (energia útil). Se a energia livre não for utilizada para um trabalho, pode ser dissipada na forma de calor.

Como exemplo, podem ser citadas as reações de oxidação da glicose, que são a forma como os animais superiores tomam energia do meio. No processo, uma molécula de glicose ( $C_6H_{12}O_6$ ) e seis de  $O_2$  são convertidas em 6 moléculas de  $CO_2$  e seis de  $H_2O$ , com produção de energia livre. Essas reações são termodinamicamente favoráveis, pois a energia contida na glicose (entalpia) é maior que a energia do  $CO_2$  e da água. As reações acontecem com maior velocidade nas células por ação das enzimas, que são catalisadores biológicos. A energia produzida no processo

de oxidação é utilizada para sintetizar biomoléculas complexas e para realizar outros trabalhos biológicos. Ou seja, no processo de oxidação, a glicose aumentou sua entropia, pois sete moléculas foram transformadas em doze, mas o organismo ganhou energia para manter a sua organização estrutural ao sintetizar biomoléculas (diminuiu sua entropia).

Conforme a segunda lei da termodinâmica, a tendência ao aumento da entropia no universo é o que direciona os processos físico-químicos. Por isso, os organismos vivos (sistemas) podem manter sua estrutura organizada, pois é a partir dessas reações que obtêm a energia necessária para os processos requeridos na manutenção da sua organização, embora isso ocorra às expensas do aumento da desordem do meio.

Quando os produtos de uma reação são menos complexos ou mais “desordenados” do que os substratos, a reação ganha entropia, isto é, libera energia. Nesse caso, trata-se de uma reação exergônica, que sempre terá um  $\Delta G$  negativo, pois o sistema libera energia. Uma vez que, conforme a segunda lei da termodinâmica, a tendência natural dos processos é de ganhar entropia, as reações termodinamicamente favoráveis são aquelas que têm  $\Delta G$  negativo.

Por outro lado, as reações com  $\Delta G$  positivo devem ganhar energia para que possam ocorrer, isto é, devem perder entropia, não sendo termodinamicamente favoráveis, a menos que ocorra entrada de energia no sistema. Estas são as chamadas reações endergônicas.

### Fluxo da energia na biosfera

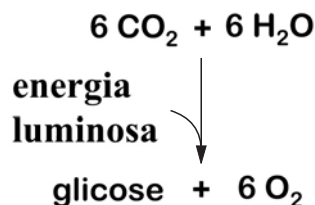
O fluxo da energia biológica tem três fases:

(a) Numa primeira fase, a energia é liberada a partir da fusão nuclear que ocorre no sol:



Essa reação é possível devido às elevadas temperaturas presentes no interior do sol (milhões de °C). A energia liberada no processo de fusão termonuclear sai na forma de fótons (quanta de energia luminosa).

(b) A energia luminosa é absorvida pelas células fotossintéticas, presentes nos organismos autotróficos, representados por 90 % dos microrganismos do mar e pelas folhas verdes das plantas, para formar glicose:



Essa reação tem uma variação de energia livre altamente positiva ( $\Delta G^{\circ} = +2.870 \text{ kJ/mol}$ ), ou seja, deve absorver grande quantidade de energia para que possa ocorrer.

(c) Utilização das moléculas produzidas nas células fotossintéticas por parte dos organismos heterotróficos; carboidratos, gorduras e proteínas são oxidados para produzir energia química (na forma de ATP), necessária para os trabalhos biológicos.

Os trabalhos biológicos que demandam energia incluem:

(a) Os trabalhos químicos, tais como a biosíntese de moléculas complexas como polisacarídeos, lipídeos, DNA, RNA e proteínas.

(b) Os trabalhos osmóticos, como o transporte ativo através de membranas e a atividade elétrica na condução de impulsos nervosos. O trabalho de transporte intermembranar é um dos que mais consome energia, sendo a bomba de Na-K ATPase em todas as células do organismo responsável por manter constante a concentração desses íons ( $\text{Na}^+$  está mais concentrado no exterior das



células, enquanto  $K^+$  está mais concentrado no interior).

(c) Os trabalhos mecânicos, como a contração muscular e a movimentação de cílios e flagelos.

Os processos energéticos realizados para efetuar os trabalhos biológicos citados são processos irreversíveis, uma vez que provocam aumento da entropia, causando dissipação da energia para o meio.

### Relação entre energia livre e constante de equilíbrio de uma reação

Em toda reação química, a velocidade da reação depende da sua constante de equilíbrio. Por exemplo, na reação:



a constante de equilíbrio é:

$$K_{eq} = \frac{[B]}{[A]}$$

Conforme a segunda lei da termodinâmica, para que uma reação espontânea seja energeticamente possível, deve ter uma  $\Delta G^0$  negativa, ou seja, deve ocorrer diminuição da energia livre do sistema. A quantidade de energia liberada no processo pode então realizar um trabalho quando a reação exergônica está acoplada a outra reação que requer energia (reação endergônica).

Se a constante de equilíbrio da reação for maior que 1, a reação tende a se realizar espontaneamente na direção  $A \rightarrow B$ , tendo  $\Delta G^0$  negativo (reação exergônica). Se, pelo contrário, for menor que 1, a reação tenderá a se realizar no sentido  $B \rightarrow A$ , e o valor de  $\Delta G^0$  deverá ser positivo (reação endergônica).

A relação entre o valor da constante de equilíbrio e a variação de energia livre da reação está definida por uma relação matemática expressada na seguinte equação:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K'_{eq}$$

onde:

$\Delta G^0$  = variação de energia livre sob condições padrão (pH 7, temperatura de 25 °C, pressão de 1 atm e concentrações do substrato e do produto de 1 M)

R = constante universal dos gases (8,3 J/mol/°K)

T = temperatura-padrão (298 °K=25 °C)

$K'_{eq}$  = constante de equilíbrio da reação.

Na Tabela 1 é apresentada a relação numérica entre a constante de equilíbrio de uma reação e a variação de energia livre padrão.

O sinal de  $\Delta G^0$  indica a direção do processo. Uma reação que proceda para a direita ( $A \rightarrow B$ ) terá sinal negativo, indicando diminuição da energia livre do sistema, sendo termodinamicamente favorável. Uma reação que proceda para a esquerda ( $B \rightarrow A$ ) terá sinal positivo, indicando que o sistema deve ganhar energia para que a reação ocorra.

As condições existentes na célula são diferentes das condições-padrão, mas, por convenção, todas as reações são calculadas como variação de energia livre padrão ( $\Delta G^0$ ), mesmo sabendo que a variação de energia livre real ( $\Delta G$ ) é geralmente maior do que a  $\Delta G$  nas condições-padrão.

A variação de energia livre real ( $\Delta G$ ), isto é, aquela que ocorre sob as condições da célula, está determinada pela seguinte equação:

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln K'_{eq}$$

Para visualizar a diferença entre a variação de energia livre padrão e a real, pode ser considerado o exemplo da reação da hidrólise do ATP no eritrócito:

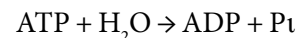


TABELA 1 - RELAÇÃO ENTRE CONSTANTE DE EQUILÍBRIO ( $K_{eq}$ ) E VARIAÇÃO DE ENERGIA LIVRE ( $\Delta G^{\circ}$ )

$K_{eq}$	$\Delta G^{\circ}$ (kJ/mol)
$10^{-3}$	+17,1
$10^{-2}$	+11,4
$10^{-1}$	+ 5,7
1	0
10	-5,7
$10^2$	-11,4
$10^3$	-17,1
$10^4$	-22,8
$10^5$	-28,5
$10^6$	-34,2

Considerando um valor de -30,5 kJ/mol para  $\Delta G^{\circ}$  e as seguintes concentrações intracelulares dos reagentes e dos produtos:

$$[ATP] = 2,25 \text{ mM (0,00225 M)}$$

$$[ADP] = 0,25 \text{ mM (0,00025 M)}$$

$$[Pi] = 1,65 \text{ mM (0,00165 M)}$$

e substituindo-se estes valores na equação, teremos que

$$\Delta G = -30500 + 8,3 \times 298 \times \ln \left( \frac{0,00025 \times 0,00165}{0,00225} \right)$$

ou seja,  $\Delta G = -51,8$  kJ/mol. Isso significa que a energia livre produzida pela hidrólise do ATP no espaço intracelular do eritrócito é maior (-51,8 kJ/mol) do que a produzida sob condições-padrão de laboratório (-30,5 kJ/mol).

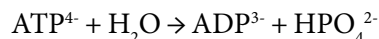
### O ATP e a transferência de energia química

O ATP constitui o vínculo entre as reações produtoras e as reações consumidoras de ener-

gia. Durante o catabolismo, a produção de energia livre obtida mediante a oxidação dos substratos disponíveis é conservada na formação de ATP a partir de ADP + Pi (reação de fosforilação do ADP). Depois, no anabolismo, quando energia é requerida para os diferentes trabalhos biológicos, o ATP é hidrolisado em ADP + Pi, sendo transferida a energia desta reação para as reações acopladas que assim o requerem. Entretanto, esses dois processos (produção e consumo de energia) ocorrem de forma concomitante, isto é, o ATP não se pode armazenar, mas pode apenas transferir energia desde a via catabólica para a via anabólica.

A reação de hidrólise do ATP possui uma variação de energia livre altamente negativa ( $\Delta G^{\circ} = -30,5$  kJ/mol), o que significa que tem uma alta tendência a se realizar, fato que é favorecido por vários fatores:

(a) O ATP possui, em média, 3,5 cargas negativas no pH celular (7,4) em seus grupos hidroxila dissociáveis, e os produtos da hidrólise tendem a se repelir por causa de suas cargas (Figura 1):

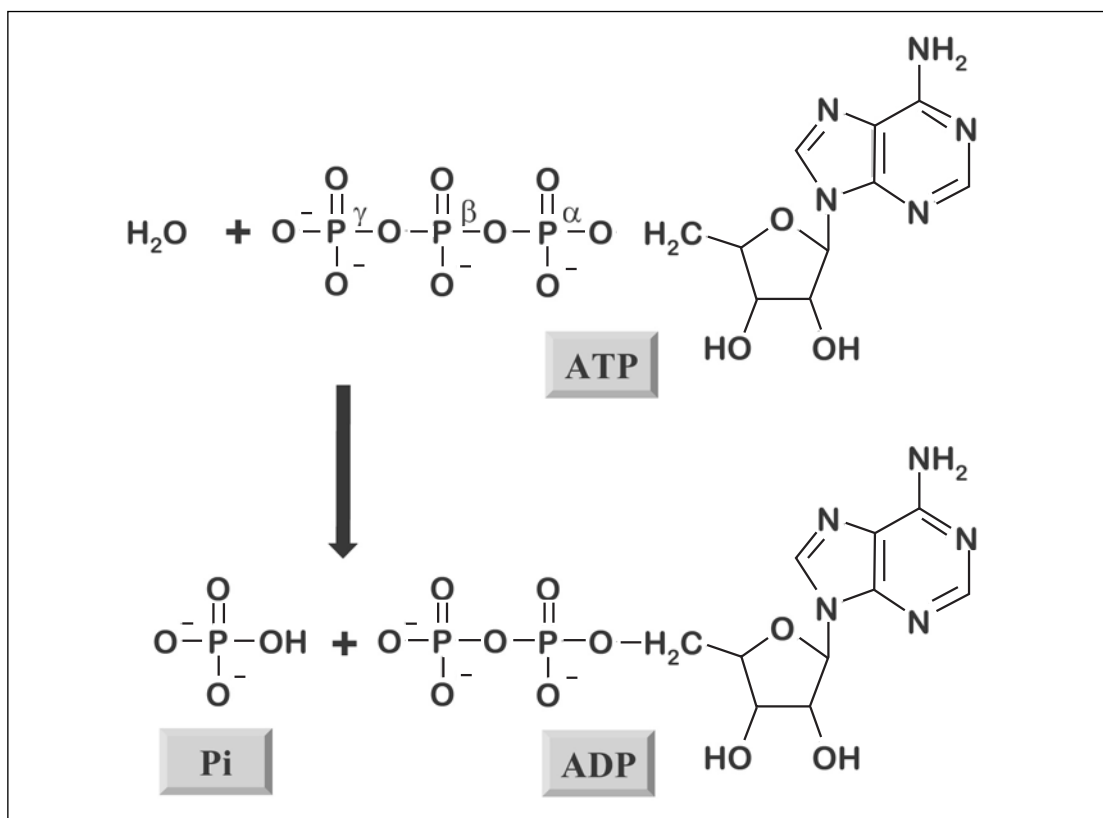


(b) Os produtos, especialmente o íon fosfato, tendem a se estabilizar como híbridos de ressonância (dupla união com caráter de simples e vice-versa) contendo, portanto, menos energia livre (maior estabilidade).

(c) Os complexos de  $Mg^{2+}$ , cofator participante da reação, têm maior afinidade pelo ATP do que pelo ADP.

A energia contida na união fosfato não está determinada pela quebra desta união fosfato, e sim pela diferença entre a energia livre dos produtos e a energia livre dos substratos.

O ATP, entretanto, não é o composto fosfatado de maior energia, ocupando um lugar intermediário entre eles (Tabela 2). Aqueles compostos fosfatados cuja energia livre de hidrólise seja menor que -25 kJ/mol



**Figura 1** – Reação de hidrólise do ATP.

Os diferentes grupamentos fosfato do ATP estão indicados pelas letras gregas correspondentes.

TABELA 2 – VARIAÇÃO DE ENERGIA LIVRE DA HIDRÓLISE DE COMPOSTOS FOSFATADOS DE ALTA ENERGIA

Composto fosfatado	$\Delta G^{\circ}$ (kJ/mol)
fosfoenolpiruvato	-61,9
1,3-difosfoglicerato	-49,4
fosfocreatina	-43,1
ATP	-30,5
glicose-1-fosfato	-20,9
frutose-6-fosfato	-15,9
glicose-6-fosfato	-13,8
glicerol-3-fosfato	-9,2

são considerados de baixa energia, enquanto que aqueles com maior valor são considerados de alta energia, como é o caso do ATP.

O ATP e o ADP são reagentes obrigatórios em quase todas as reações enzimáticas de transferência de grupos fosfato. O ADP serve como o intermediário receptor do grupo fosfato que provém dos compostos fosfatados de alta energia e o ATP como doador do grupo fosfato para compostos de baixa energia.

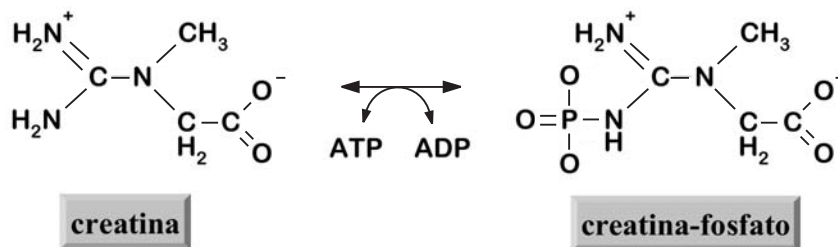
As reações endergônicas ou consumidoras de energia, as quais estão relacionadas, principalmente, com os processos de síntese, podem ser realizadas no metabolismo devido a estarem acopladas com reações exergônicas, como a reação de hidrólise do ATP. Dessa forma, as reações acopladas servem para conservar a energia da oxidação, que se encontra sob a forma de ATP.

As reações acopladas representam processos de duas etapas. Na primeira, o grupo fosfato é transferido a um substrato, mediante união covalente, conservando a alta energia da união fosfato. Na segunda etapa, o grupo fosfatado é deslocado para formar Pi, e a ener-

gia livre desta hidrólise é aproveitada para direcionar a reação endergônica acoplada. Isso implica que as enzimas participantes neste tipo de reação tenham sítios de união tanto para o ATP quanto para os demais substratos.

Como exemplo de reação acoplada, pode ser citada a conservação da energia de oxidação do gliceraldeído sob forma de ATP (Figura 2). Na primeira reação, a energia obtida pela oxidação do gliceraldeído-3-fosfato é utilizada para fosforilar o produto no C1, convertendo-o em um composto de alta energia. Na segunda reação, o composto energizado transfere o grupo fosfato de C1 para o ADP, conservando a energia sob a forma de ATP. O valor de  $\Delta G^{0-}$ , consideradas as duas reações, é de  $-49,3 \text{ kJ/mol}$ , sendo, portanto, favorável para que a reação total ocorra.

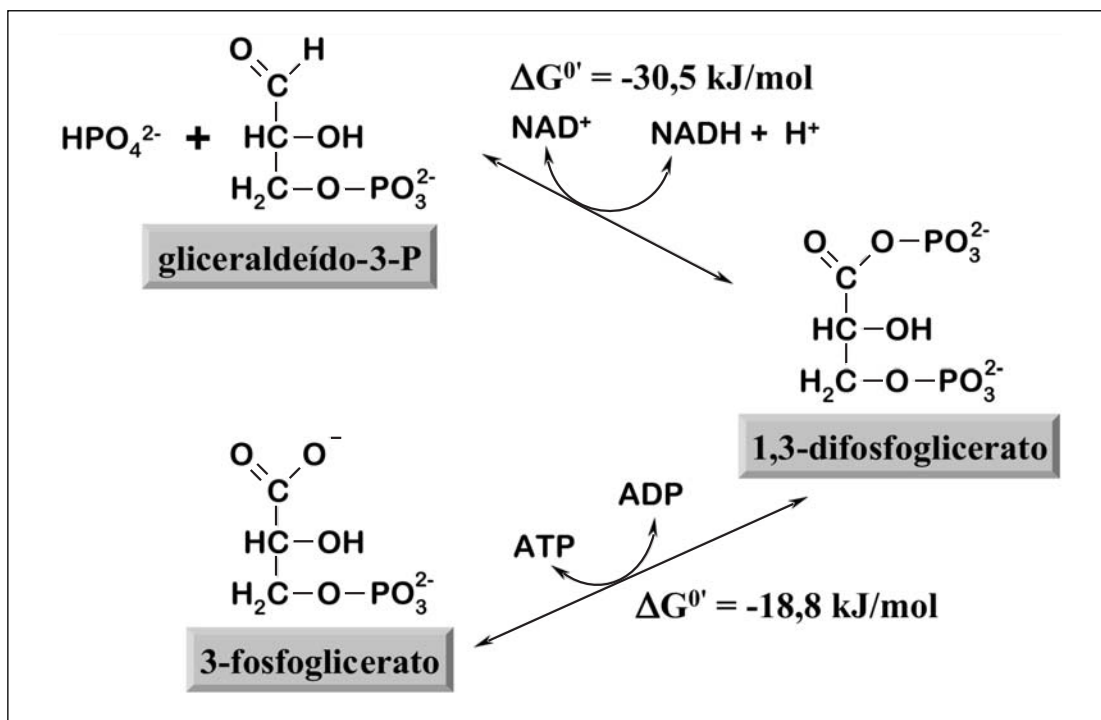
O ATP não é armazenador de energia, mas um intermediário (transmissor) de energia entre compostos. Já a fosfocreatina, composto formado no tecido muscular a partir da creatina, é um armazenador de energia, quando a concentração de ATP no músculo se encontra elevada:



Quando a concentração de ATP diminui, durante a contração muscular, a reação é deslocada para a esquerda, a fim de regenerar o ATP necessário.

Existem algumas reações que consomem mais energia do que a gerada com a hidrólise simples do ATP. Nesses casos, o ATP pode sofrer pirofosforólise, reação de hidró-

lise no grupo fosfato  $\beta$  ao invés do grupo  $\gamma$ , como na hidrólise comum. Com isso, é gerado AMP e um grupo pirofosfato (PPi:  $\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{2-}$ ). Posteriormente, o PPi é desdobrado em duas moléculas de Pi ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ). A reação de pirofosforólise produz uma quantidade de energia livre maior ( $\Delta G^{0-} = -43,1 \text{ kJ/mol}$ ) do que a hidrólise normal ( $\Delta G^{0-} = -30,5 \text{ kJ/mol}$ ).



**Figura 2** – Síntese de ATP em nível de substrato pela oxidação do gliceraldeído.

## CICLOS DA MATÉRIA NA BIOSFERA

O fluxo de energia na biosfera é de via única. Assim, a energia solar é captada pelos organismos autotróficos, os quais a aproveitam para realizar a fotossíntese e a transferem para os organismos heterotróficos. Nestes, em cada uma das reações químicas, parte da energia é aproveitada para produção de trabalho e parte é dissipada, especialmente em forma de calor. Dessa forma, a matéria (C, H, O, N) é reciclada, sendo a energia livre degradada. Em outras palavras: C, O, N e H<sub>2</sub>O são reciclados na biosfera entre os seres autotróficos e os heterotróficos, sendo a energia solar a força direcional destes processos. Os ciclos bioquímicos envolvem a retirada e o retorno dos elementos químicos na biosfera.

## Ciclo do carbono

A vida na biosfera depende do sol e dos organismos autotróficos, os quais utilizam a energia luminosa para, a partir do CO<sub>2</sub> da atmosfera e da H<sub>2</sub>O, sintetizar compostos orgânicos, únicas fontes de carbono utilizáveis pelos seres vivos heterotróficos. Exemplos de organismos autotróficos são as bactérias fotossintéticas e as folhas verdes das plantas. Esses organismos reduzem o CO<sub>2</sub> para sintetizar carboidratos.

Os organismos heterotróficos não podem utilizar o CO<sub>2</sub> da atmosfera, devendo utilizar, como fonte de energia, os compostos sintetizados pelos organismos autotróficos, oxidando-os graças ao oxigênio atmosférico. Neste processo o CO<sub>2</sub> e a H<sub>2</sub>O são liberados para o meio. O CO<sub>2</sub> é reciclado, sendo reutilizado pelos organismos autotróficos. Esse evento constitui-se no ciclo do carbono na biosfera.

Aproximadamente  $3,5 \times 10^{11}$  toneladas de  $\text{CO}_2$  são liberadas anualmente na atmosfera pelos organismos heterotróficos, a maior parte do qual é reciclada pelos organismos autotróficos. Muito do C pode ficar retido por longos períodos de tempo na forma de combustíveis fósseis (carvão, petróleo), havendo, portanto, uma troca demorada de C na biosfera, diferente da troca rápida que existe entre o  $\text{CO}_2$  utilizado na fotossíntese pelas plantas e o liberado na respiração pelos animais.

A combustão completa dos compostos orgânicos libera dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), enquanto que a combustão incompleta, como a que ocorre nos motores de combustão interna, libera monóxido de carbono (CO), o qual é tóxico para os animais. A concentração de  $\text{CO}_2$  na atmosfera aumentou em 33 % na última década, e deve ter atingido valores próximos de 0,04 % no ano 2000. Para que este excesso de  $\text{CO}_2$  possa ser reciclado mediante fotossíntese, seria necessário aumentar em 8 % o número de plantas.

### Ciclo do oxigênio

O oxigênio representa 21% da atmosfera, estando principalmente como  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . Outras fontes são nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) e sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ). O mais importante processo formador de  $\text{O}_2$  é a fotossíntese. O ciclo do oxigênio está diretamente relacionado com o ciclo do carbono. Os animais e vegetais fixam diretamente o  $\text{O}_2$  da atmosfera, mas os vegetais, diferentemente dos animais, também liberam  $\text{O}_2$  no processo da fotossíntese (fotólise da água). No caso dos animais, o oxigênio é liberado sob a forma de  $\text{CO}_2$ , e não livre, como é o caso dos vegetais.

A fotossíntese e a respiração, por serem cíclicas, se contrabalançam, não havendo alteração na quantidade de  $\text{O}_2$  na atmosfera. A maior parte do  $\text{O}_2$  atmosférico é produzido

pelos organismos marinhos; e outra grande parte, pelas florestas.

### Ciclo do nitrogênio

O nitrogênio é o maior componente atmosférico (78 % do ar). Entretanto, o nitrogênio em forma solúvel, isto é, na forma biologicamente útil, é escasso na natureza. Sua forma mais abundante é como nitrogênio molecular ( $\text{N}_2$ ) presente no ar e, a partir dele, deve ser incorporado nos seres vivos. Alguns microrganismos podem utilizar esse nitrogênio volátil através do processo denominado *fixação biológica do nitrogênio*, no qual o  $\text{N}_2$  atmosférico é reduzido a amônia ( $\text{NH}_3$ ). Entre esses organismos estão as bactérias dos gêneros *Nitrobacter* e *Rhizobium*, este último associado às raízes de leguminosas e às algas cianofíceas.

Um número relativamente abundante de bactérias do solo, como aquelas do gênero *Nitrossomonas*, as quais obtêm sua energia mediante a oxidação de  $\text{NH}_3$ , assimila a amônia oxidando-a para formar nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ). Posteriormente as bactérias do gênero *Nitrobacter* oxidam os nitritos a nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ).

O processo de oxidação da amônia até nitrato é conhecido como *nitrificação*, constituindo a forma pela qual praticamente toda a amônia ( $\text{NH}_3$ ) presente no solo é conservada, que, de outra forma, se volatilizaria.

Outras fontes de nitratos no solo são a combinação direta de  $\text{N}_2$  com  $\text{O}_2$  pela ação de descargas elétricas (raios), a decomposição de matéria orgânica e os fertilizantes nitrogenados. Contudo, a fixação biológica do nitrogênio contribui com cerca de 90 % do  $\text{N}_2$  fixado na biosfera.

Os nitratos e nitritos produzidos pelas bactérias nitrificantes são captados pelas plantas, as quais os reduzem de novo a  $\text{NH}_3$  por ação das enzimas nitrato-redutase, no processo conhecido como *desnitrificação*. A

NH<sub>3</sub> dentro das células vegetais é utilizada para a biossíntese de aminoácidos e de proteínas. Estas proteínas vegetais são depois usadas pelos animais para cobrir as demandas de aminoácidos. Com a morte dos animais, suas proteínas são degradadas, gerando como produto nitrogenado a NH<sub>3</sub>, que é devolvida ao solo para ser convertida novamente em nitratos e nitritos, pelas bactérias nitrificantes, fechando assim o ciclo do nitrogênio planta-animal-atmosfera.

O nitrogênio pode ser excretado nos animais na forma de ureia (mamíferos), ácido úrico (aves e répteis) ou amônia (peixes). De qualquer forma, o produto final da decomposição sempre é a amônia.

O nitrato também pode ser reduzido a amônia pela ação das bactérias desnitrificantes (*Pseudomonas spirillum*) e o N<sub>2</sub> retornar à atmosfera por volatilização do NH<sub>3</sub>. É estimado que 80 milhões de toneladas de N<sub>2</sub> circulam entre a atmosfera e a biosfera anualmente.

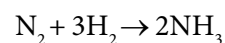
Os organismos fixadores do nitrogênio podem ser de vários tipos:

- (a) cianobactérias e algas verde-azuis presentes no solo e nas águas doces e salgadas;
- (b) *Azotobacter* ou bactérias presentes em forma abundante no solo;
- (c) bactérias em simbiose com plantas leguminosas.

Entre estas últimas, são importantes as bactérias do gênero *Rhizobium*, as quais se localizam nos nódulos das raízes das leguminosas. *Rhizobium* fixa o nitrogênio para sua multiplicação e para uso da planta, recebendo em troca compostos necessários para o próprio processo de fixação de nitrogênio, que a planta pode sintetizar mas não utiliza em seu metabolismo. Assim, a planta sintetiza a porção heme da leghemoglobina, proteína de alta afinidade pelo oxigênio, que a bactéria precisa

para manter baixos os níveis de O<sub>2</sub>, o qual é inibidor do processo de fixação de N<sub>2</sub>.

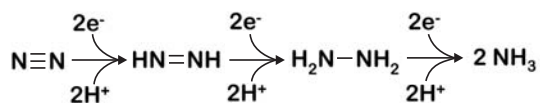
O processo de fixação de nitrogênio é bastante complexo e é realizado pelo sistema enzimático nitrogenase. Nesse processo, ocorre redução de uma molécula de N<sub>2</sub> para produzir duas moléculas de NH<sub>3</sub>:



Esta reação é bastante exergônica ( $\Delta G^0 = -33,5$  kJ/mol), estando direcionada para a direita sob condições-padrão. Entretanto, a forte ligação covalente entre os dois N da molécula de N<sub>2</sub> (N ≡ N) representa uma grande barreira energética de ativação (energia de ligação de 942 kJ/mol), a qual pode ser superada pelo sistema nitrogenase e pela energia de hidrólise do ATP. O ATP também tem uma função catalítica, além de termodinâmica, no processo, pois se une à enzima, causando uma mudança conformacional que contribui para diminuir a energia de ativação do sistema. Os átomos de H são doados pela coenzima NADPH através da ferredoxina, uma proteína (ferrossulfurada) que transfere os elétrons ao N. Os H iniciais são obtidos pela oxidação do piruvato. A reação completa da fixação do nitrogênio atmosférico é mostrada na Figura 3.

O complexo nitrogenase está formado por duas enzimas. A primeira delas, a dinitrogenase redutase, é um homodímero com peso molecular total de 60 kD que possui um centro ferrossulfurado (Fe<sub>4</sub>-S<sub>4</sub>) de redução-oxidação. A segunda, é a dinitrogenase, um tetrâmero que contém duas subunidades diferentes repetidas (peso molecular total de 240 kD) e um centro de Fe e Mo de oxidorredução.

Os oito elétrons necessários na reação (seis para reduzir o N<sub>2</sub> e 2 para produzir H<sub>2</sub> como parte obrigatória do mecanismo da reação) são transferidos pela dinitrogenase redutase em etapas sucessivas:



O sistema nitrogenase é muito lábil na presença de oxigênio. Assim, as bactérias aeróbicas têm mecanismos para evitar o aumento de  $\text{O}_2$  em seu interior, tais como paredes mais grossas que dificultam a difusão, desacoplamento da cadeia de transporte de elétrons para consumir rapidamente o  $\text{O}_2$  e a ação da leghemoglobina nas bactérias simbióticas com leguminosas. A leghemoglobina é uma proteína de alta afinidade por  $\text{O}_2$ , levando-o diretamente a seus receptores no sistema de transporte eletrônico da bactéria, impedindo que fique solúvel e aumente sua concentração.

Graças à fixação do nitrogênio atmosférico pelas bactérias *Rhizobium* em simbiose com as leguminosas, os solos podem ser enriquecidos mediante a utilização dessas culturas (feijão, alfafa, trevo, amendoim)

diminuindo assim o uso de fertilizantes químicos. Os estudos de biologia molecular e as técnicas do DNA recombinante tratam de identificar e caracterizar os genes relacionados com o complexo nitrogenase para incorporá-los em bactérias e plantas (organismos transgênicos) que naturalmente não podem captar o  $\text{N}_2$  atmosférico. O desafio é conseguir também incorporar os mecanismos para evitar a ação inibitória do  $\text{O}_2$  no sistema, bem como os mecanismos de regulação da expressão desses genes.

### METABOLISMO INTERMEDIÁRIO

O metabolismo corresponde ao total de reações químicas que ocorrem em uma célula ou em um organismo, reações que são realizadas em forma perfeitamente coordenada e que levam à troca de matéria e de energia entre a célula e seu meio, para a manutenção dos processos vitais do organismo. Nas diferentes vias metabólicas, existem, geralmente,

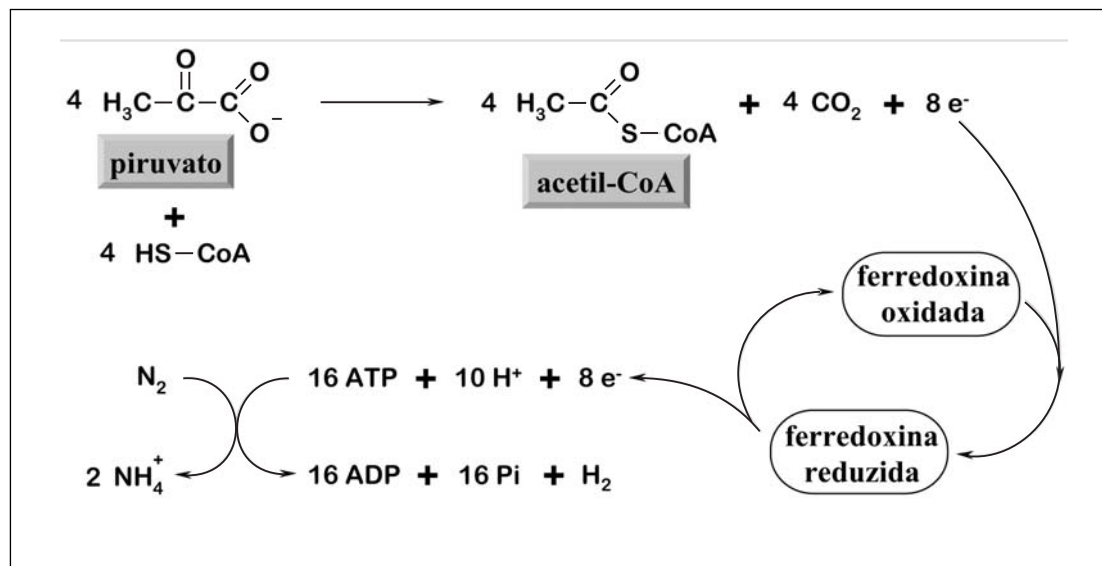


Figura 3 – Reações químicas da fixação biológica do nitrogênio atmosférico.



os compostos precursores, vários metabólitos intermediários e os produtos finais.

O termo *metabolismo intermediário* é frequentemente utilizado para referir-se a todas as reações intermediárias das diferentes etapas que compõem as vias metabólicas.

As funções específicas do metabolismo são:

(a) Obtenção de energia química a partir de moléculas combustíveis, no caso dos organismos heterotróficos, ou a partir da absorção de luz solar, no caso dos organismos autotróficos. Os primeiros requerem formas reduzidas de carboidratos, como a glicose, como fonte básica de energia, enquanto que os últimos requerem somente  $\text{CO}_2$  como fonte de carbono exógeno, além da energia solar.

(b) Conversão das moléculas exógenas (nutrientes) em unidades estruturais das biomoléculas componentes do organismo animal.

(c) Montagem destas unidades para formar biomoléculas mais complexas, como as proteínas, os ácidos nucleicos, os lipídeos e os polissacarídeos.

(d) Formação e degradação de biomoléculas funcionais, como as enzimas, os hormônios, os receptores, os transportadores e as coenzimas.

O metabolismo, apesar de sua aparente complexidade de vias e reações, pode ser resumido em duas fases: catabolismo e anabolismo.

O catabolismo também é chamado de fase degradativa ou oxidativa. Nas vias catabólicas, as moléculas exógenas ou as moléculas de reserva são degradadas mediante oxidação, resultando em moléculas mais simples, tais como acetil-CoA, lactato,  $\text{CO}_2$  e  $\text{NH}_3$ . Esse processo está acompanhado de produção de energia química mediante reações oxidativas que levam à conservação da energia na forma de ATP e de coenzimas reduzidas (NADH e NADPH).

No anabolismo, também conhecido como fase biossintética ou reductiva, ocorre a biossíntese enzimática de moléculas complexas a partir de unidades simples. Neste processo é consumida energia química, a qual é fornecida pelo ATP, e ocorrem reações de redução, para o que são utilizadas as coenzimas reduzidas NADH e NADPH.

As etapas múltiplas presentes nas vias metabólicas são necessárias para fazer mais flexível e versátil o metabolismo intermediário e realizar interconversões. Se as rotas ocorressem em uma única etapa, o metabolismo seria muito rígido e irreversível. Também, através destas etapas, é possível maximizar a produção de ATP com a energia específica requerida em cada estágio. De outra forma, se ocorresse uma etapa só ou umas poucas etapas, energia excessiva seria liberada em poucas reações, produzindo-se muito calor e ocorrendo grande perda de energia.

As vias metabólicas podem ser lineares, cíclicas ou ramificadas. Estas últimas podem ser convergentes (catabolismo) ou divergentes (anabolismo).

O metabolismo, de forma global, compreende a integração de três fases:

(a) Degradação e/ou síntese de moléculas complexas a partir de unidades simples.

(b) Produção de biomoléculas simples, que são compostos intermediários comuns das rotas metabólicas, tal como o acetil-CoA.

(c) Oxidação completa dos compostos intermediários comuns até  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ .

Esta última fase também fornece as moléculas precursoras necessárias para as rotas biossintéticas, recebendo o nome de fase anfibólica, ou seja, esta fase pode ter reações degradativas ou biossintéticas, dependendo das necessidades metabólicas.

As rotas catabólica e anabólica geralmente têm diferentes enzimas, embora, às

vezes, compartilhem caminhos (enzimas) comuns. No controle do metabolismo, é observado que as vias degradativa e de síntese têm rotas diferentes, o que é necessário porque: (a) o reverso da rota catabólica é um impossível energético; (b) a regulação do anabolismo e do catabolismo é diferente e independente, o que significa que se uma rota estiver ativa, a outra deve estar interrompida; e (c) as rotas ocorrem geralmente em diferentes compartimentos celulares. Por exemplo, a oxidação dos ácidos graxos ocorre na mitocôndria, enquanto que sua síntese ocorre no citossol.

As vias metabólicas são reguladas em três níveis:

(a) Pela ação das enzimas alostéricas, as quais controlam vias metabólicas por modificação das suas atividades, através de moduladores estimulatórios ou inibitórios.

(b) Por meio dos hormônios, os quais são mensageiros químicos que regulam o metabolismo de órgãos, tecidos e, em ocasiões, de aparelhos e sistemas; este nível de controle pode ter efeitos de maior alcance do que as enzimas alostéricas.

(c) Pela velocidade das etapas metabólicas, a qual está em função da concentração das enzimas correspondentes, isto é, da taxa de síntese e degradação dessas enzimas, o que depende do controle da expressão gênica nas células.

Diante da grande quantidade de reações químicas existentes no metabolismo e a fim de encontrar sentido em determinada reação ou via metabólica, é necessário perguntar:

(a) Que vantagem tem para a célula e para o organismo a realização dessa reação ou via metabólica?

(b) Que relação existe entre essa reação ou via com outras vias metabólicas e como elas favorecem o crescimento e/ou a manutenção das funções do organismo?

(c) De que forma os níveis de controle do metabolismo que atuam sobre essa via em particular contribuem para manter o equilíbrio do organismo?

### **Função do ATP e do NAD no metabolismo**

A grande maioria da energia livre obtida pela oxidação dos nutrientes durante o catabolismo é conservada mediante reações acopladas à síntese de ATP a partir de ADP e de fosfato inorgânico.

Tanto ATP quanto ADP e Pi estão presentes em todos os seres vivos e servem universalmente como sistemas de transmissão de energia.

A energia presente no ATP é utilizada posteriormente nos processos celulares que requerem energia (biossíntese, contração e motilidade, transporte ativo e transmissão da informação genética), pois o ATP transfere sua energia quando ocorre a perda (hidrólise) de seu grupo fosfato e quando esta reação é acoplada com aquelas reações que demandam energia.

O ADP resultante da hidrólise do ATP é fosforilado novamente em reações acopladas do catabolismo, que produzem energia suficiente para regenerar ATP (fosforilações oxidativa e em nível de substrato). Dessa forma, é gerado um ciclo de energia na célula, no qual o ATP serve de transmissor de energia, que liga as reações produtoras de energia com as reações consumidoras de energia.

Uma segunda forma de transferir a energia química do catabolismo para o anabolismo, simultaneamente com a fosforilação de ADP, é mediante o transporte de átomos de H ou de elétrons. Os hidrogênios (ou os elétrons) são obtidos a partir da oxidação dos substratos alimentícios por desidrogenases específicas, que os recebem dos substratos reduzidos e os transferem às coenzimas oxidadas NAD<sup>+</sup> e NADP<sup>+</sup>:



Essas coenzimas, ao ficarem em forma reduzida (NADH e NADPH), servem de transportadores de elétrons energizados, os quais são transferidos das reações catabólicas às reações de síntese que demandam elétrons nos processos redutivos.

A concentração total de  $\text{NAD}^+ + \text{NADH}$  na maioria dos tecidos está por volta de  $10^{-5}$  M, e a de  $\text{NADP}^+ + \text{NADPH}$  é de  $10^{-6}$  M. Quando a relação  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  é alta na célula, são favorecidos os processos oxidativos para obter a transferência de elétrons para  $\text{NAD}^+$  e assim aumentar a concentração de NADH. Inversamente, quando a relação  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  é baixa, são favorecidos os processos redutivos, isto é, a transferência de elétrons a substratos oxidados.

São conhecidas mais de 200 enzimas oxidoredutases ou desidrogenases que requerem  $\text{NAD}^+$  ou  $\text{NADP}^+$  em reações de oxidação de substrato, ou NADH ou NADPH em reações de redução de substrato. Outras coenzimas que participam em reações de transferência de elétrons são os nucleotídeos flavínicos FMN e FAD, derivados da riboflavina, cujas formas reduzidas são  $\text{FMNH}_2$  e  $\text{FADH}_2$ .

## A divisão do trabalho no metabolismo

Cada célula, cada tecido e cada órgão no organismo animal têm uma função específica, fato que é refletido em sua anatomia e sua atividade metabólica. O músculo esquelético usa a energia metabólica para o movimento, o tecido adiposo armazena e libera gorduras, que servem como combustível nas outras células do organismo, e os neurônios do sistema nervoso utilizam o transporte de íons e neurotransmissores através da membrana para propagação de informação.

Os principais tecidos do organismo animal e o trabalho que eles desempenham serão discutidos a seguir.

### O fígado

O fígado exerce um papel centralizador no metabolismo, sintetizando e distribuindo nutrientes aos órgãos *periféricos* pela circulação sanguínea. A importância do fígado como órgão centralizador fica claramente expressada no fato de os outros órgãos e tecidos serem chamados de extra-hepáticos ou periféricos.

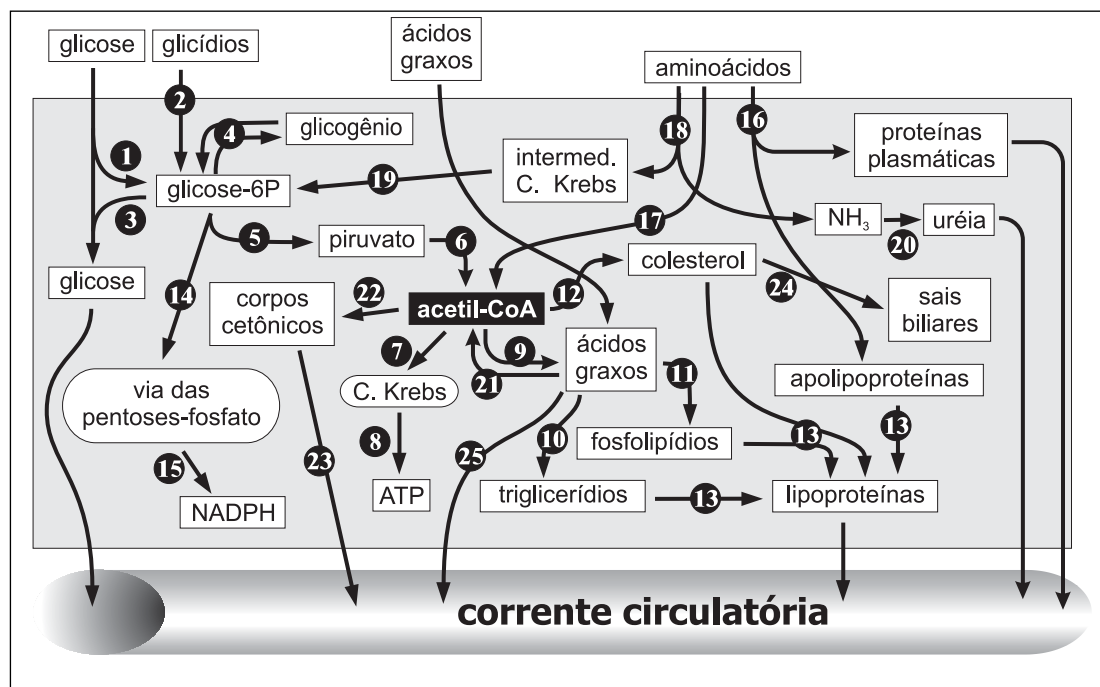
Durante a digestão, no trato gastrointestinal, as 3 principais classes de nutrientes (glicídeos, proteínas e lipídeos) sofrem hidrólise enzimática para serem convertidos em seus monômeros básicos. Essa quebra é necessária porque as células do epitélio intestinal somente podem absorver moléculas pequenas (monossacarídeos, aminoácidos, ácidos graxos, monoglicéridos). Os ruminantes absorvem ácidos graxos voláteis e amônia no rúmen.

Depois da absorção, a maioria dos monossacarídeos e aminoácidos, bem como alguns triglicéridos, são levados pelo sistema portal hepático ao fígado. Alguns triglicéridos vão via linfática à circulação sanguínea e alcançam o tecido adiposo.

No fígado, os nutrientes absorvidos são transformados em combustíveis ou em moléculas precursoras que serão requeridas em outros tecidos periféricos. O fígado ajusta seu metabolismo de uma forma flexível e rápida, em função do tipo de nutriente que o organismo recebe.

Na Figura 4 é apresentado um esquema simplificado do metabolismo hepático, com as rotas metabólicas numeradas que serão referenciadas no texto a seguir, entre colchetes.

A glicose que chega ao fígado é fosforilada e convertida em glicose-6-fosfato pela



**Figura 4** – Esquema do metabolismo hepático de lipídeos, glicídeos e proteínas. Os nomes dos metabólitos estão em retângulos, e os nomes das rotas metabólicas estão em retângulos de bordas arredondadas. Os números correspondentes às diferentes rotas estão referenciados no texto.

enzima glicoquinase [1]. Outros monossacarídeos, como frutose, galactose ou manose, são convertidos em glicose-6-fosfato por vias metabólicas alternativas [2].

A glicose-6-fosfato está em um cruzamento de caminhos das rotas dos carboidratos no fígado. Ela pode tomar cinco possíveis rotas, dependendo das necessidades metabólicas do organismo. Essas rotas estão controladas por enzimas reguladoras (enzimas alostéricas) ou por hormônios que controlam a atividade de certas enzimas. As possíveis rotas da glicose-6-fosfato no fígado são as seguintes:

(a) Pode ser defosforilada pela enzima glicose-6-fosfatase, gerando glicose livre, a qual é exportada para manter a concentração de glicose no sangue [3]. Tal concentração deve estar sempre constante (4-5 mM) para que o aporte de energia ao cérebro e a outros tecidos seja mantido.

(b) Se não houver necessidade de glicose no sangue, a glicose-6-fosfato é convertida em glicogênio hepático e armazenado [4].

(c) Pode ser oxidada para a produção de energia via glicólise [5], descarboxilação do piruvato [6] e ciclo do ácido cítrico [7 → 8]. No entanto, no fígado, o combustível preferido para a produção de energia são os ácidos graxos.

(d) Quando há um excesso de ingestão de carboidratos, não sendo necessário repor a glicose sanguínea, e quando o fígado satura sua capacidade de armazenamento de glicogênio, a glicose-6-fosfato é degradada via glicólise até acetil-CoA [5 → 6]. Este é usado para sintetizar ácidos graxos [9], os quais são incorporados aos triglicerídeos [10], fosfolipídios [11] e colesterol [12]. Esses lipídeos são levados para outros tecidos mediante as lipoproteínas [13].

(e) Finalmente, a glicose-6-fosfato pode entrar na rota das pentoses-fosfato [14] para produzir a coenzima reduzida NADPH [15], necessária para a biossíntese de ácidos graxos e colesterol, e ribose-5-fosfato, necessária para a biossíntese de nucleotídeos.

Nos animais ruminantes, geralmente não ocorre excesso de glicose, pois os carboidratos da dieta são convertidos, no rúmen, em ácidos graxos voláteis. Tais ácidos são absorvidos pelo epitélio do rúmen e transportados pelo sangue ao fígado (principalmente propionato e acetato) ou ao tecido adiposo (principalmente butirato e  $\beta$ -hidroxibutirato). A manutenção dos níveis de glicose sanguínea nos ruminantes está principalmente determinada pela conversão do propionato em glicose via gliconeogênese.

Os aminoácidos que chegam ao fígado têm várias rotas metabólicas:

(a) Podem atuar como precursores de proteínas, dentro do próprio fígado ou para formar proteínas plasmáticas [16].

(b) Podem passar à corrente sanguínea e ir aos órgãos periféricos, onde são utilizados como precursores de proteínas.

(c) Podem servir de precursores de compostos não-proteicos, tais como nucleotídeos e hormônios.

(d) Quando não são necessários como precursores de proteínas ou de outros compostos, são desaminados e degradados para produzir acetil-CoA [17] e intermediários do ciclo de Krebs [18]. Os intermediários desse ciclo podem ser utilizados para gerar glicose via gliconeogênese [19]. O acetil-CoA pode ser utilizado para gerar energia mediante sua completa oxidação no ciclo do ácido cítrico [7  $\rightarrow$  8], ou pode servir como precursor para a biossíntese de ácidos graxos [9]. O grupo amina, na forma de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), é convertido em ureia [20] para ser excretado, pois é tóxico.

Os ácidos graxos que chegam ao fígado podem ter diferentes destinos metabólicos:

(a) Oxidação até acetil-CoA (através da  $\beta$ -oxidação) para a produção de energia [21]. O acetil-CoA, por sua vez, pode entrar no ciclo de Krebs para produzir mais energia [7  $\rightarrow$  8].

(b) O excesso de acetil-CoA produzido na oxidação dos ácidos graxos pode gerar corpos cetônicos (acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato) [22], os quais podem ir aos tecidos periféricos [23] para servirem de combustível via ciclo de Krebs. Os corpos cetônicos podem constituir uma importante fração da energia utilizada pelos órgãos periféricos (30 % no coração; 70 % no cérebro) especialmente em situações de jejum prolongado, quando a glicose encontra-se deficitária, e a fonte de energia provém da oxidação dos ácidos graxos.

(c) Parte do acetil-CoA proveniente dos ácidos graxos ou da glicose é utilizado para sintetizar colesterol [12], o qual é essencial para a estrutura das membranas, e como precursor dos ácidos biliares [24] e dos hormônios esteroidais.

(d) Podem fazer parte dos fosfolípidos e dos triglicerídios das lipoproteínas do plasma [10  $\rightarrow$  13 e 11  $\rightarrow$  13], as quais transportam lípidos ao tecido adiposo para seu armazenamento (na forma de triglicerídeos).

(e) Podem seguir para o sangue, sendo transportados pela albumina sérica [25], podendo ser captados pelas células musculares cardíacas e esqueléticas (por difusão passiva), onde são utilizados como fonte de energia. A albumina é a proteína mais abundante no sangue. Uma molécula de albumina pode transportar até dez moléculas de ácidos graxos.

Além de servir como órgão centralizador, processador e distribuidor de nutrientes, o fígado também serve como órgão detoxificante de compostos orgânicos exógenos, tais como

drogas, aditivos de alimentos, agentes preservativos e outros agentes daninhos sem valor nutricional. No processo de detoxificação, está envolvida uma hidroxilação do composto, com ação do citocromo P-450, o qual torna o composto mais solúvel para ser excretado.

#### O tecido adiposo

O tecido adiposo, composto pelas células adiposas ou adipócitos é um tecido amorfo distribuído amplamente por todo o organismo: sob a pele, ao redor dos vasos sanguíneos maiores e na cavidade abdominal. Em condições normais, forma até 15 % do peso de um animal adulto.

Os adipócitos são células metabolicamente muito ativas, que respondem a estímulos hormonais, interagindo com o fígado, o tecido muscular esquelético e o coração. As células adiposas podem realizar a glicólise, o ciclo de Krebs e a fosforilação oxidativa. Também podem secretar substâncias com atividade hormonal (adipocitocinas), como a leptina.

Quando a ingestão de carboidratos é abundante, os adipócitos podem converter a glicose em acetil-CoA, via piruvato, para sintetizar ácidos graxos e, depois, triglicerídeos, os quais são armazenados em grandes glóbulos de gordura no interior dos adipócitos.

Os adipócitos também armazenam os triglicerídeos provenientes do fígado e do trato gastrointestinal, que chegam pelo sangue transportados nas lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL: *Very Low Density Lipoproteins*). Quando necessário, os triglicerídeos armazenados nos adipócitos são hidrolisados por lipases, que liberam os ácidos graxos, os quais passam à circulação sanguínea e vão para o músculo esquelético e o coração. As lipases dos adipócitos são sensíveis à ação de alguns hormônios: a adrenalina e o

glucagon estimulam sua atividade, enquanto a insulina a inibe.

#### O tecido muscular

O tecido muscular consome cerca de 50 % do oxigênio que entra no organismo sob condições de repouso ou de exercício leve e 90 % sob condições de trabalho muscular intenso.

O metabolismo da célula muscular é especializado em gerar ATP como fonte imediata de energia. Está adaptado para fazer seu trabalho mecânico de forma intermitente, ou seja, trabalho intenso em curto período de tempo (como numa rápida corrida) ou trabalho lento durante um intervalo maior de tempo (como numa longa caminhada).

O músculo pode usar ácidos graxos, corpos cetônicos ou glicose como combustíveis, dependendo do grau de atividade muscular. Durante o repouso ou em trabalho muscular leve, a fonte primária de combustível são os ácidos graxos provenientes do tecido adiposo e os corpos cetônicos provenientes do fígado. Eles entram no ciclo de Krebs na forma de acetil-CoA para sua completa oxidação até  $\text{CO}_2$  e para a produção de ATP mediante a fosforilação oxidativa. Em trabalho muscular moderado é utilizada a glicose, além dos ácidos graxos e dos corpos cetônicos. A glicose sofre glicólise gerando acetil-CoA, o qual entra no ciclo de Krebs para a produção de energia (ATP).

Quando a atividade muscular é intensa, a demanda por ATP é muito alta, e o oxigênio e os combustíveis que chegam ao músculo pelo sangue são insuficientes para produzir, somente mediante respiração aeróbica, a quantidade de ATP requerida. Sob essas condições, o glicogênio armazenado no músculo é metabolizado à glicose, a qual é degradada via glicólise anaeróbica gerando duas moléculas de lactato e duas moléculas de ATP para cada molécula

de glicose. O uso de glicogênio muscular como combustível de emergência para produzir ATP no músculo é favorecido pela adrenalina, a qual estimula a degradação do glicogênio hepático, para liberar mais glicose no sangue, e do glicogênio muscular, para gerar glicose no próprio músculo.

Como o tecido muscular não contém a enzima glicose-6-fosfatase, não pode converter a glicose-6-fosfato em glicose livre para que esta última possa ser usada para manter a glicemia. Em outras palavras, o glicogênio muscular é utilizado na produção de energia exclusivamente para o músculo.

Entretanto, a quantidade de glicogênio no músculo é limitada, no máximo 1 % do peso total da massa muscular, para que possa ser usado indefinidamente. Por outro lado, o acúmulo de lactato, produto final da glicólise anaeróbica, e o conseqüente decréscimo do pH, reduzem a eficiência da atividade muscular. Depois de intensa atividade muscular, a frequência respiratória continua aumentada por mais tempo. Isso ocorre porque o oxigênio é usado para a obtenção de ATP, mediante a fosforilação oxidativa (respiração celular), sendo este ATP usado para a síntese de nova glicose a partir do lactato produzido durante o exercício.

O lactato deve ser levado, através do sangue, desde o músculo até o fígado, para que seja realizada a via gliconeogênica. A glicose assim sintetizada retorna ao músculo para repor o glicogênio gasto e completar assim o chamado *ciclo de Cori*.

O músculo esquelético também possui grandes quantidades de fosfocreatina, composto armazenador de energia graças a sua capacidade para transferir grupos fosfato. Quando não há necessidade energética no músculo, a creatina é fosforilada às custas da transferência do grupo fosfato do ATP. Em períodos de intensa atividade muscular, o sentido da reação é invertido, produzindo ATP.

O músculo cardíaco difere do músculo esquelético nas seguintes características:

- (a) O músculo cardíaco está continuamente ativo em um processo permanente de contração e relaxamento.
- (b) O coração tem um metabolismo completamente aeróbico.
- (c) O tecido cardíaco possui um número muito maior de mitocôndrias, as quais ocupam mais da metade do volume das células.

Os combustíveis usados para o funcionamento cardíaco são uma mistura de glicose, ácidos graxos livres e corpos cetônicos, provenientes do sangue. Similarmente ao músculo esquelético, o músculo cardíaco tem pouca capacidade de armazenamento de glicogênio e tem algumas reservas de energia na forma de fosfocreatina.

O coração é estritamente aeróbico, obtendo sua energia da fosforilação oxidativa. Qualquer falha que impeça o O<sub>2</sub> de alcançar uma porção de músculo cardíaco, como numa obstrução dos vasos sanguíneos do coração por depósitos graxos (aterosclerose) ou por coágulos (trombose coronária), causa a morte daquela região do coração na qual faltou oxigênio, evento conhecido como infarto do miocárdio.

## O cérebro

O metabolismo do cérebro apresenta algumas peculiaridades em relação aos outros órgãos. Nos mamíferos adultos, o cérebro usa, normalmente, glicose como combustível e tem um metabolismo respiratório muito ativo. Quase 20 % do oxigênio consumido pelo organismo é gasto no cérebro sem que este gasto tenha muita variação durante a vigília ou durante o sono.

Como o cérebro contém muito pouco glicogênio, é dependente da glicose sanguí-

nea. Se ocorrer um decréscimo no nível de glicose sanguínea, podem ocorrer danos irreparáveis na função cerebral.

O cérebro não pode usar diretamente ácidos graxos como combustíveis. Porém, em ocasiões de jejum prolongado, usa  $\beta$ -hidroxibutirato, o qual é formado a partir de ácidos graxos no fígado. O cérebro pode oxidar o  $\beta$ -hidroxibutirato via acetil-CoA, evitando que sejam gastas proteínas musculares, as quais são usadas como fonte de energia por outros órgãos, durante períodos prolongados de jejum. O cérebro pode realizar glicólise aeróbica e ciclo de Krebs para obter o ATP necessário para sua atividade.

O ATP é necessário para criar e manter o potencial elétrico através da membrana plasmática dos neurônios, durante a transmissão de impulsos nervosos. A membrana plasmática das células nervosas possui um transportador *antiport* dependente de ATP, o qual leva íons  $K^+$  para o interior e íons  $Na^+$  para o exterior do neurônio. Para cada molécula de ATP hidrolisada, 3 íons  $Na^+$  são transportados para fora do neurônio e 2 íons  $K^+$  entram. Com isso é gerada uma diferença de potencial elétrico através da membrana do neurônio, que tem o lado interior negativo em relação ao exterior. As mudanças de potencial transmembranar constituem sinais elétricos transitórios que passam de um neurônio a outro e são a principal forma de transferência de informação no sistema nervoso.

## O sangue

A corrente circulatória é o meio de inter-conexão entre todos os tecidos. Através dela, são transportados os nutrientes desde o trato gastrintestinal até o fígado e deste para o tecido adiposo e demais órgãos. Também são transportados os produtos de excreção de todos os tecidos para o rim, o oxigênio desde os pulmões até os tecidos e o  $CO_2$  gera-

do na respiração celular desde os tecidos até os pulmões.

Pelo sangue, são transportados os hormônios de um tecido para outro e, assim como o tecido nervoso, serve de regulador e integrador das atividades entre os diferentes órgãos.

O sangue constitui 8 a 10% do peso de um animal. Quase metade deste volume é ocupado por três tipos de células sanguíneas: (a) os eritrócitos, que constituem a grande maioria e que contêm hemoglobina, sendo especializados em transportar  $O_2$ ; (b) os leucócitos, que estão em menor número do que os eritrócitos, sendo de vários tipos e tendo funções de defesa contra as infecções; e (c) as plaquetas (trombócitos), que contribuem no processo da coagulação sanguínea.

A fração líquida do sangue está constituída pelo plasma sanguíneo, que contém 90 % de água e 10 % de solutos. Entre os solutos do plasma estão:

(a) Proteínas plasmáticas (70 % do total de solutos), entre elas a albumina, as lipoproteínas VLDL, as lipoproteínas de baixa densidade (LDL: *Low Density Lipoproteins*), as lipoproteínas de alta densidade (HDL: *High Density Lipoproteins*), as imunoglobulinas (anticorpos), o fibrinogênio, a pró-trombina, as proteínas transportadoras e os hormônios peptídicos.

(b) Moléculas orgânicas pequenas (20 % dos solutos), como a glicose, os aminoácidos, o lactato, o piruvato, os corpos cetônicos, o citrato, a ureia e o ácido úrico.

(c) Compostos inorgânicos (10 % dos solutos) tais como o NaCl, o íon bicarbonato, o íon fosfato, o  $CaCl_2$ , o  $MgCl_2$ , o KCl e o  $Na_2SO_4$ . Os solutos de baixo peso molecular presentes no sangue estão em constante fluxo entre este e os outros tecidos. A entrada de íons inorgânicos pela alimentação é equilibrada com a eliminação através do



rim. Alguns dos íons têm um estado dinâmico estável, isto é, são trocados entre sangue e tecidos, mas sua concentração não variam muito. Assim, os níveis de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , e  $\text{Ca}^{2+}$  no sangue são mantidos em torno de 140 mM, 5 mM e 2,5 mM, respectivamente, através de um controle exercido pelo rim, onde participam mecanismos endócrinos.

A concentração de glicose também é mantida constante. Em animais monogástricos está em torno de 80-110 mg/dL (4,5-6,0 mM), e em ruminantes, em torno de 60 mg/dL (3,3 mM). Uma queda do nível de glicose sanguínea (hipoglicemia) leva a falhas na função cerebral, causando confusão mental. Abaixo de 40 mg/dL ocorre letargia, coma, convulsões e morte. O nível de glicose no sangue é controlado endocrinamente pela insulina, a qual tem ação hipoglicemiante, e pelo glucagon e a adrenalina, que têm efeito hiperglicemiante.

## ENZIMAS

As enzimas ilustram a grande variedade de proteínas existentes na natureza. Graças às enzimas são possíveis todas as reações químicas que ocorrem nos seres vivos e que permitem a manutenção da vida.

O processo enzimático mais antigo que se conhece é o da fermentação da glicose até etanol, feito pelas leveduras, tendo sido descrito por Pasteur, em 1850. O termo enzima (do grego “na levedura”) foi proposto pelo próprio Pasteur, em 1877, pois acreditava-se que as enzimas não podiam atuar fora das células. Entretanto, o grande acontecimento que marcou a história da enzimologia e da própria bioquímica foi o isolamento de todas as enzimas que participam no processo da fermentação da glicose, realizado por Büchner, em 1897, provando que as enzimas podiam atuar em forma isolada das células.

Depois, Sumner, em 1926, isolou a enzima urease em forma cristalina e propôs que era uma proteína. Um conhecido bioquímico da época, Willstätter, rejeitou esta tese, alegando as enzimas serem moléculas de baixo peso molecular. Finalmente, Northrop, em 1930, trabalhando com pepsina e tripsina, mostrou evidências contundentes de que as enzimas eram proteínas. Hoje são conhecidas e classificadas, cerca de 2.000 enzimas, praticamente todas elas sendo proteínas, com exceção de um pequeno grupo de ácidos nucleicos (RNA) com ação catalítica (ribozimas).

A função catalítica das enzimas depende de que sua estrutura esteja intacta. Agentes físicos ou químicos, tais como calor ou extremos de pH ou agentes desnaturantes causam perda da ação catalítica das enzimas. O metabolismo depende da ação direta das enzimas e do seu controle através de diferentes mecanismos que envolvem os hormônios, a expressão gênica e o autocontrole a partir dos próprios metabólitos resultantes da ação enzimática.

As enzimas possuem as seguintes características: (a) alto grau de especificidade (modelo “chave-fechadura”), determinado pelo sítio ativo da molécula proteica enzimática, onde a ligação substrato-enzima é específica, podendo haver especificidade absoluta (a um composto) ou relativa (a um grupo de compostos); (b) são catalisadores que não geram subprodutos, ou seja, não sofrem alterações durante a catálise, e sua eficiência catalisadora é de 100 %; e (c) atuam em soluções intracelulares, isto é, em soluções aquosas sob condições de temperatura e pH moderadas (37 °C e 7,4, respectivamente).

## Classificação sistemática das enzimas

Além dos nomes genéricos com que são conhecidas as enzimas (baseado geralmente na adição do sufixo -ase ao nome de seu substrato ou a uma palavra que descreva sua

atividade), existe uma nomenclatura dentro de um sistema internacional, elaborado pela Comissão de Enzimas da IUB (*International Union of Biochemistry*). Este sistema está baseado no tipo de reação catalisada, estabelecendo seis classes de enzimas, as quais têm subclasses e sub-subclasses. Cada enzima tem designado um código de quatro dígitos. As seis classes, que correspondem ao primeiro dígito, são as seguintes:

1. Oxidorredutases: transferem elétrons.
2. Transferases: transferem grupos funcionais.
3. Hidrolases: participam em reações de hidrólise (transferem grupos funcionais à água).
4. Liases: adicionam grupos a ligações duplas, ou formam ligações duplas pela remoção de grupos.
5. Isomerases: produzem formas isoméricas mediante a transferência de grupos.
6. Ligases (sintetases): condensam grupos em reações acopladas com a hidrólise do ATP, formando uniões C-C, C-S, C-O e C-N.

Os demais dígitos correspondem a subgrupos específicos de ação da enzima.

## Cinética enzimática

Para que uma reação ocorra, ela deve vencer a energia de ativação dessa reação, isto é, aquela quantidade de energia aplicada ao substrato da reação necessária para superar a barreira energética a fim de gerar um produto. Uma forma de superar a energia de ativação para aumentar a velocidade de uma reação é aumentando a temperatura do sistema, obtendo assim maior interação entre as moléculas. A velocidade da reação é duplicada a cada 10 °C de aumento na temperatura do sistema. No entanto, nas células, onde as condições são isotérmicas e as condições de pH são quase neutras, as enzimas atuam como catalisadores, isto é, como outra for-

ma de aumentar a velocidade de uma reação. As enzimas atuam diminuindo a energia de ativação da reação devido à formação de um complexo com o substrato que causa mudanças conformacionais e facilita a passagem do estado transicional para a geração do produto.

A catálise ocorre no sítio ativo da enzima, onde somente se liga o substrato específico, mediante interações que são, geralmente, de tipo não covalente. As enzimas podem aumentar a velocidade da reação, mas não afetam o equilíbrio termodinâmico da reação. Assim, a reação obedece a mudanças de energia livre do sistema, ou seja, é realizada caso seja energeticamente possível. A velocidade da reação pode aumentar, devido à ação catalítica da enzima, de  $10^7$  vezes (como na anidrase carbônica) até  $10^{14}$  vezes (como na urease). Este evento é possível porque o sítio ativo da enzima é complementar com o estado energético de transição do substrato (depois de superar a energia de ativação), isto é, a interação ótima entre o substrato e o sítio ativo da enzima é obtida no estado energético de transição, e não no estado basal.

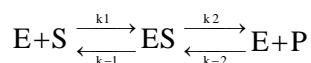
A cinética enzimática é estudada *in vitro* com as enzimas purificadas, identificando o efeito de vários fatores, como a concentração do substrato e as mudanças de pH e temperatura, sobre a velocidade da reação.

Efeito da concentração do substrato na velocidade da reação enzimática

A velocidade da reação enzimática, expressada como velocidade inicial ( $V_0$ ), aumenta com o incremento na concentração do substrato [S], quando é mantida constante a concentração da enzima. Este aumento continua até um ponto no qual é obtida a velocidade máxima de reação ( $V_{max}$ ). Esta velocidade máxima corresponde ao ponto de saturação da enzima, isto é, quando o número

de moléculas do substrato excede o número de moléculas da enzima. A partir desse ponto a velocidade da reação é mantida constante. Em baixas concentrações de substrato, a  $V_o$  aumenta em forma linear à medida que a concentração do substrato aumenta. Porém, depois de determinada concentração do substrato, a velocidade fica cada vez mais lenta até chegar a zero, isto é, quando não há mais aumento de  $V_o$ , atingindo a  $V_{max}$ . A curva correspondente a esta reação descreve uma hipérbole retangular com uma assíntota em  $V_{max}$  (Figura 5).

Michaelis e Menten, em 1913, estudaram a cinética que têm as reações catalisadas por enzimas com um substrato. A reação pressupõe a formação de um complexo da enzima com o substrato, que posteriormente libera o produto e a enzima livre:



As duas reações são reversíveis e têm suas próprias constantes de velocidade:  $k_1$  ( $k_{-1}$  no sentido inverso) e  $k_2$  ( $k_{-2}$  no sentido inverso) que determinam a velocidade da reação. A segunda reação é mais lenta, limitando a velocidade da reação, a qual está determinada pela concentração do complexo ES.

A enzima pode estar em forma livre (E) ou unida ao substrato (ES). Quando há baixa [S] a maior parte da enzima está em forma livre (E). Assim, haverá pouco [ES] e a velocidade da reação será baixa. Quando aumenta [S] há maior [ES] disponível e a reação incrementa sua velocidade, até o ponto em que toda a enzima está como ES, isto é, quando atinge o ponto de saturação. Quando [ES] é constante, a velocidade da reação também se mantém constante (plateau da curva).

Michaelis e Menten deduziram uma constante que é indicadora da velocidade da reação e, por extensão, do grau de afinidade

que a enzima tem por seu substrato. Esta constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ), é definida como a concentração de substrato, em concentração molar, necessária para que a metade da velocidade máxima ( $\frac{1}{2}V_{max}$ ) da reação seja atingida. A relação entre a concentração de substrato e a velocidade da reação pode ser expressada matematicamente a partir da equação de Michaelis-Menten:

$$V_o = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

onde:

$V_o$  = velocidade inicial

$V_{max}$  = velocidade máxima

$K_m$  = constante de Michaelis-Menten

[S] = concentração do substrato (em mol/L).

Quando a velocidade de reação ( $V_o$ ) é a metade da velocidade máxima, ou seja, quando  $V_o = V_{max}/2$ , a equação será

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

e, dividindo ambos os termos por  $V_{max}$ , fica:

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

Portanto,

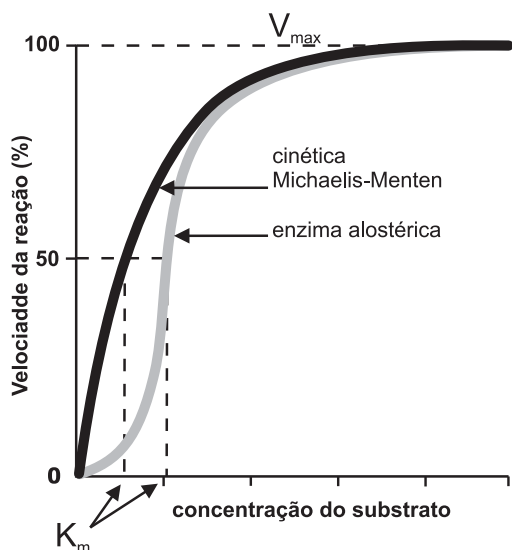
$$K_m + [S] = 2[S]$$

Logo,

$$K_m = [S].$$

A dedução anterior explica a definição da constante de Michaelis-Menten, isto é, a concentração de substrato necessária para obter metade da velocidade máxima da reação.

A equação de Michaelis-Menten é útil para determinar  $V_{max}$  e  $K_m$  de uma enzima. No entanto, pelo fato de corresponder a uma



**Figura 5** – Cinética em enzimas alostéricas e não-alostéricas.

equação hiperbólica é difícil de calcular, sendo mais fácil trabalhar com uma transformação linear. É o caso da equação dos duplos recíprocos ou equação de Lineweaver-Burk, a qual está baseada na inversão da equação de Michaelis-Menten:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]}$$

transformando-a, separando os termos do lado direito da equação, temos:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]}$$

e, simplificando, temos a equação de Lineweaver-Burk:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Esta equação pode ser considerada como a equação de uma linha reta ( $y = ax + b$ ), onde:

$$y = 1/V_0$$

$$x = 1/[S]$$

$$a = K_m/V_{\max}$$

$$b = 1/V_{\max}$$

Esta linearização é muito útil para calcular a  $K_m$  de uma enzima, de forma mais confiável. A  $K_m$  pode ser aplicado àquelas enzimas cuja cinética mostra uma curva hiperbólica (cinética Michaelis-Menten). Os valores de  $K_m$  e de  $V_{\max}$  são característicos de cada enzima e podem variar para os diferentes substratos da mesma enzima (Tabela 3). Nas reações enzimáticas, onde participa mais de um substrato, existe uma  $K_m$  para cada substrato. Assim, na reação de fosforilação da glicose pela hexoquinase, onde o doador do grupo fosfato é o ATP,



a  $K_m$  da hexoquinase é de 0,05 M para a glicose, e de 0,4 M para o ATP, indicando que a enzima tem maior afinidade pela glicose do que pelo ATP.

Efeito do pH e da temperatura sobre a velocidade da reação enzimática

As enzimas possuem valores ótimos de pH e temperatura, isto é, aqueles pontos nos quais sua atividade é maior. O grau de ionização dos grupos ionizáveis da enzima, o qual depende do pH, influi na interação do sítio ativo da enzima com seu substrato. Assim, em nível intracelular, o pH do meio controla a atividade da enzima, pois o pH ótimo não é necessariamente o pH do meio.

Diferentes enzimas podem ter diferentes valores de pH ótimo, em função do pH do meio onde atuam. Assim, na pepsina do suco gástrico, o pH ótimo é de 1,6 (pH do estômago: 1-2); na glicose-6-fosfatase do hepatócito,

TABELA 3 – CONSTANTES DE MICHAELIS MENTEN (MM) DE ALGUMAS ENZIMAS.

Enzima	Substrato	$K_m$
catalase	$H_2O_2$	25
hexoquinase	glicose	0,05
hexoquinase	frutose	1,5
hexoquinase	ATP	0,4
AST	aspartato	0,9
AST	$\alpha$ -cetogluturato	0,1
AST	oxaloacetato	0,04
AST	glutamato	4
anidrase carbônica	$HCO_3^-$	9
$\beta$ -galactosidase	lactose	4
quimotripsina	Gly-Tyr-Gly	108
quimotripsina	N-benzoiltirosinamida	2,5

é de 7,8 (pH do hepatócito: 7,2); na fosfatase alcalina do epitélio intestinal, é de 10 (pH intestinal: 7,0). Uma vez que nenhuma célula do organismo tem um valor de pH tão alcalino, neste caso, como em alguns outros, é presumido que o pH do meio seja um fator de controle sobre a atividade enzimática.

O aumento da temperatura, quando as enzimas são analisadas *in vitro*, até certo ponto provoca um aumento da atividade enzimática, mediante a diminuição da energia de ativação da reação. No entanto, como a maioria das enzimas são proteínas termolábeis, são desnaturadas quando expostas a altas temperaturas, perdendo sua atividade.

### Medida da atividade enzimática

A atividade enzimática pode ser medida conhecendo as seguintes variáveis: (a) os substratos, os produtos e os cofatores da reação enzimática; (b) um método para analisar quaisquer das substâncias anteriores; (c) a estequiometria da reação; e (d) os valores ótimos de pH e temperatura da atividade da enzima estudada. A atividade enzimática é

expressada em unidades internacionais (UI). Uma UI é a quantidade de enzima necessária para transformar 1  $\mu$ mol de substrato por minuto, a 25 °C, sob condições ótimas de trabalho. A atividade das enzimas de uso em clínica é expressa em U/L.

A *atividade específica* de uma enzima corresponde ao grau de atividade e de purificação da enzima, sendo expressado como UI/mg de proteína, isto é, tem maior valor quanto mais purificada estiver a enzima.

A atividade enzimática também pode ser medida pelo número de *turnover* ou número de conversão, também expressado como  $k_{cat}$  (constante de catálise). Essa constante equivale ao número de moléculas de substrato transformadas por uma molécula de enzima por segundo, quando a enzima está saturada com este substrato. O número de *turnover* é medido com a enzima purificada e com um substrato específico (Tabela 4).

### Inibidores da ação enzimática

O estudo dos inibidores da ação enzimática tem proporcionado importantes contribuições ao conhecimento da especificidade

TABELA 4 - NÚMEROS DE *TURNOVER* ( $K_{CAT}$ ) DE ALGUMAS ENZIMAS

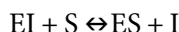
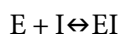
Enzima	Substrato	nº de <i>turnover</i>
catalase	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	40.000.000
anidrase carbônica	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	400.000
colinesterase	acetilcolina	140.000
fumarase	fumarato	800
β-galactosidase	lactose	208
fosfoglicomutase	glicose-6-fosfato	20,7
ATPase	ATP	0,4

dos substratos enzimáticos, da natureza dos sítios ativos nas enzimas, dos mecanismos da atividade enzimática, e das vias metabólicas e seu controle. Sua aplicação farmacêutica é também relevante. Assim, importantes inibidores têm sido utilizados, como a aspirina, que inibe a enzima prostaglandina sintetase, evitando a formação de prostaglandinas, substâncias associadas com o processo inflamatório.

Os diferentes tipos de inibição enzimática podem ser divididos em dois grandes grupos: reversível e irreversível.

#### Inibição reversível

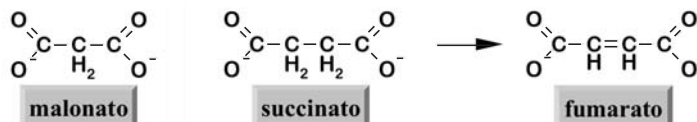
Existem dois tipos de inibição reversível: a *competitiva* e a *não-competitiva*. Na inibição reversível competitiva, o inibidor compete com o substrato pelo sítio ativo da enzima, devido a sua similaridade estrutural. Enquanto o inibidor estiver ocupando o sítio ativo, o substrato não pode se ligar à enzima. A inibição é revertida quando suficiente quantidade do substrato desloca o inibidor do sítio ativo. As reações podem ser expressadas assim:



O complexo enzima-inibidor (EI) não gera nenhum produto. O efeito do inibidor competitivo sobre a cinética enzimática é o

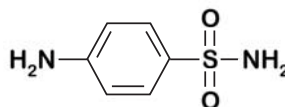
de diminuir a velocidade da reação e aumentar a constante de Michaelis. A  $V_{max}$  pode ser atingida depois que altas quantidades do substrato desloquem a totalidade do inibidor unido à enzima.

Um exemplo de inibidor competitivo é o malonato, que inibe a succinato desidrogenase (enzima do ciclo de Krebs), por competir com seu substrato natural, o succinato, evitando a geração do produto normal, o fumarato. A reação normal é:



sendo que a presença de malonato inibe a reação.

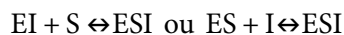
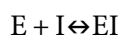
Outro exemplo de inibição competitiva ocorre pela ação das sulfas, cujo efeito bacteriostático está baseado na inibição da enzima que tem como substrato o PABA (ácido p-aminobenzóico), evitando a síntese de ácido fólico nas bactérias, o qual é essencial para seu crescimento. A semelhança estrutural entre substrato e inibidor é evidenciada quando comparadas as estruturas do PABA, na Figura 14, com a da sulfanilamida, abaixo:



Na intoxicação por metanol, ocorre oxidação desse composto por ação da enzima álcool desidrogenase, com formação de formaldeído, o qual causa dano sobre o nervo óptico, provocando cegueira. Nesses casos, é usado etanol para competir com o metanol, favorecendo a formação de acetaldeído, o qual é excretado pela urina, inibindo a formação de formaldeído.

Na *inibição reversível não-competitiva*, o inibidor se liga a um sítio diferente do sítio ativo da enzima, mas também afetando sua atividade, embora não exista similaridade estrutural entre o substrato e o inibidor. A união do inibidor à enzima induz uma mudança conformacional na enzima, reduzindo a taxa de formação de complexo enzima-substrato (ES) e/ou reduzindo a taxa de degradação de ES para formar o produto.

O inibidor não bloqueia a união do substrato com a enzima, mas o complexo ES não forma nenhum produto enquanto o inibidor estiver unido à enzima. A inibição, então, não pode ser revertida com aumento da concentração do substrato. O inibidor pode se ligar à enzima livre ou ao complexo ES:



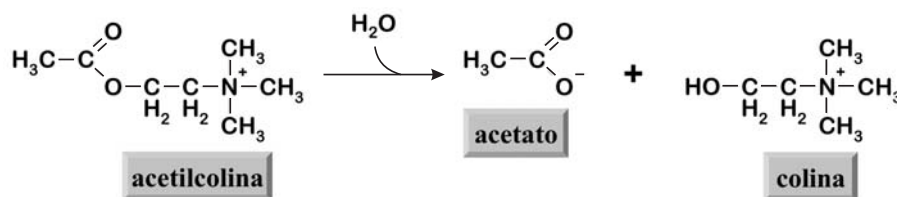
Inibidores que se unem somente ao complexo ES são definidos como incompetivos. A  $V_{\max}$  não é alcançada mesmo com o aumento na concentração de substrato. A afinidade da enzima por seu substrato não varia, pois o sítio ativo está livre e, portanto, não é alterado o valor da  $K_m$ .

Nas condições intracelulares, este tipo de inibição é utilizado por certos moduladores da ação enzimática, que se unem às enzimas controladoras de diferentes vias metabólicas. Estes moduladores alostéricos se ligam ao sítio alostérico da enzima, sítio este diferente do sítio ativo. Como exemplo, pode ser citada a inibição da treonina desidratase pela isoleucina, a qual se une à enzima de forma reversível. A modulação depende do estado metabólico da célula; neste caso, da necessidade de metabolizar a treonina.

### Inibição irreversível

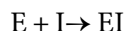
Ocorre com aqueles compostos que se unem irreversivelmente a grupos funcionais do sítio ativo da enzima, em ocasiões mediante ligações covalentes, formando complexos inativos. Como exemplo deste tipo de inibição, estão os compostos organofosforados, os quais são frequentemente usados nos animais domésticos como antiparasitários. Estes compostos, inicialmente derivados do diisopropil-fluorofosfato, inibem a enzima colinesterase, a qual catalisa a reação apresentada mais abaixo.

A acetilcolina é um neurotransmissor nos animais superiores e insetos, sendo a colinesterase a enzima encarregada de sua hidrólise, controlando, assim, a transmissão dos impulsos nervosos. Os compostos organofosforados se unem de forma irreversível a resíduos de serina no sítio ativo da colinesterase, mediante ésteres fosfóricos, impedindo sua ação catabólica e causando paralisia. Os compostos organofosforados atuam também como inibidores



sobre outras enzimas que possuem resíduos de serina em seu sítio ativo, como a tripsina, a quimotripsina, a elastase e a fosfoglicomutase. Mediante este inibidor foi descoberto que a serina formava parte do sítio ativo dessas enzimas.

Nos inibidores irreversíveis não se aplica a cinética de Michaelis-Menten, já que a reação não é reversível:



Outros inibidores irreversíveis são os agentes alquilantes iodoacetato ( $I-CH_2-COO^-$ ) e iodacetamida ( $I-CH_2-CO-NH_2$ ), que se unem a grupos sulfidrilo (-SH) presentes nos sítios ativos de algumas enzimas, alquilando-as e inibindo-as de forma irreversível formando o complexo enzima- $S-CH_2-COO^-$ . Existem alguns inibidores irreversíveis que são substâncias que inicialmente reagem com a enzima, mas cujo produto de reação é um inibidor que se une irreversivelmente à mesma enzima. Recebem o nome de inibidores “suicidas”.

## Regulação enzimática

As enzimas reguladoras são aquelas enzimas que controlam vias metabólicas, encontrando-se geralmente no início das rotas metabólicas. O efeito regulador ou *modulador* pode ser exercido mediante união não-covalente de moduladores (no caso das enzimas alostéricas), ou por modificação covalente da enzima.

### Enzimas alostéricas

Comumente estas enzimas são inibidas pelo produto final da via metabólica, evento conhecido como inibição por *feedback*. O metabólito inibidor (modulador negativo) se une reversivelmente a um sítio diferente do

sítio ativo da enzima: é o sítio regulador ou alostérico (do grego “alos”, outro, e “stereos”, sítio). Este sítio é específico em cada enzima alostérica para o respectivo modulador.

Via de regra, as enzimas alostéricas são grandes e complexas, com várias subunidades e não obedecem à cinética de Michaelis-Menten. A cinética destas enzimas mostra um padrão de tipo sigmoidal, ao invés de hiperbólico típico (Figura 5). Podem também existir moduladores positivos, isto é, metabólitos da via metabólica que aumentam a atividade da enzima. Geralmente, tais moduladores são os próprios substratos da enzima. Em alguns casos, a enzima pode ter simultaneamente dois sítios alostéricos: um para um modulador positivo e outro para um modulador negativo.

Se a enzima tiver o mesmo substrato da reação como modulador positivo (enzima alostérica homotrópica), tem vários sítios ativos e ocorre um aumento na velocidade catalítica por cooperatividade positiva, isto é, a união do substrato ao sítio ativo favorece a união de mais moléculas do substrato aos outros sítios ativos. Em enzimas cujo modulador é diferente do substrato da reação (enzimas alostéricas heterotrópicas), a velocidade catalítica pode aumentar ou diminuir, conforme seja modulador positivo ou negativo, respectivamente, mediante alterações em sua  $K_m$  ou em sua  $V_{max}$ .

### Enzimas reguladas por modificação covalente

Estas enzimas geralmente são modificadas em sua atividade catalítica por processos reversíveis de fosforilação (adição de um grupo fosfato em resíduos de serina, tirosina, treonina ou histidina), adenilação (adição de um AMP a um resíduo de tirosina), uridilação (adição de um UMP em um resíduo de tirosina), ADP-ribosilação (adição de ADP-ribose



a resíduos de arginina, glutamina ou cisteína), ou metilação (adição de um grupo metila a um resíduo de glutâmico).

São enzimas que contêm várias subunidades. A glicogênio fosforilase, enzima que degrada o glicogênio no fígado e no músculo, é ativada por duas fosforilações nos grupos -OH de duas serinas (forma ativa ou fosforilase a) e inativada pela desfosforilação (forma inativa ou fosforilase b). O contrário ocorre com a glicogênio-sintetase, enzima que forma glicogênio: é ativada por desfosforilação e inativada por fosforilação. Ambas as enzimas, por sua vez, estão controladas por hormônios que induzem mecanismos de fosforilação ou desfosforilação (adrenalina, glucagon e insulina).

Outros tipos de regulação enzimática incluem:

(a) proteínas separadas que se unem a enzimas para inibir ou estimular sua atividade, como a proteína inibidora da tripsina e a  $\alpha_1$ -antitripsina que inibe a elastase; (b) clivagem proteolítica de certas enzimas com indução da sua atividade, como na conversão de protrombina em trombina e na ativação dos zimogênios digestivos tripsinogênio e quimotripsinogênio.

### Isoenzimas

São diferentes formas moleculares da mesma enzima, que podem estar presentes no mesmo indivíduo, no mesmo tecido ou na mesma célula, porém, em um compartimento diferente. Cada isoforma pode variar em sua cinética, sua regulação, no cofator que usa ou na distribuição subcelular. Geralmente são muito similares na sequência de aminoácidos. Assim, a lactato desidrogenase (LDH) tem cinco isoenzimas, cada uma com 4 subunidades. Estas subunidades podem ser do tipo A (ou M) e B (ou H), podendo haver isoenzimas

de tipo  $A_4$ ,  $A_3B$ ,  $A_2B_2$ ,  $AB_3$  e  $B_4$ . No músculo esquelético, predominam as isoenzimas com maior número de cadeias A, enquanto no coração predominam as que têm cadeias B.

A distribuição das isoenzimas de uma mesma enzima depende de diversos fatores, tais como (a) as características metabólicas do tecido, como no caso da glicogênio fosforilase presente no fígado ou no músculo, (b) diferente localização intracelular e o papel metabólico realizado, como na isocitrato desidrogenase mitocondrial ou citosólica, (c) a diferenciação do tecido, e (d) o controle sobre as vias metabólicas, como ocorre com a glicoquinase e a hexoquinase no fígado ante diferentes concentrações de glicose.

### COFATORES ENZIMÁTICOS

Os cofatores enzimáticos são componentes requeridos por algumas enzimas para sua atividade catalítica. O cofator é o componente não-proteico da ação enzimática, podendo ser íons metálicos ou moléculas orgânicas (*coenzimas*). As enzimas que necessitam cofatores para exercerem sua ação são chamadas holoenzimas, termo que inclui o complexo catalítico enzima-cofator. Estas enzimas, quando encontradas sozinhas, são denominadas apoenzimas ou apoproteínas.

As enzimas que precisam de íons são chamadas metaloenzimas, e o íon pode atuar de várias formas:

- (a) Como centro catalítico primário, no sítio ativo da enzima.
- (b) Como complexo de coordenação ou grupo de união entre o substrato e a enzima.
- (c) Como estabilizador da conformação da enzima.

Exemplos de metaloenzimas e seus correspondentes íons são anidrase carbônica ( $Zn^{2+}$ ), fosfotransferases ( $Mg^{2+}$  ou  $Mn^{2+}$ ),

citocromos ( $\text{Fe}^{2+}$  ou  $\text{Fe}^{3+}$ ), citocromo oxidase ( $\text{Cu}^+$ ), piruvato quinase ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ), ATPase ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ), urease ( $\text{Ni}^{2+}$ ), dinitrogenase ( $\text{Mo}$ ) e glutation peroxidase ( $\text{Se}$ ).

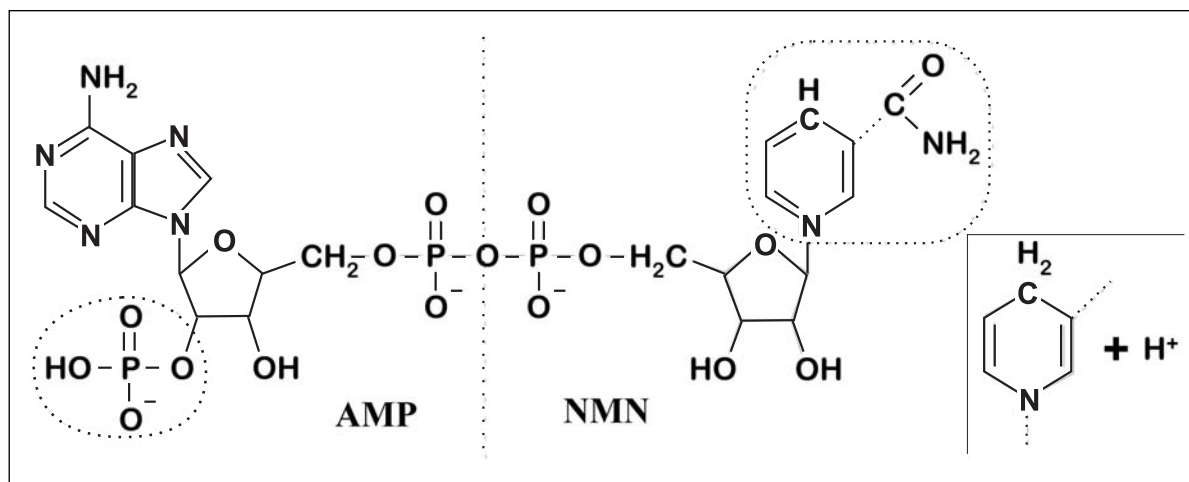
As coenzimas são geralmente derivadas de alguma vitamina hidrossolúvel, principalmente do complexo B, atuando como transportadoras intermediárias de grupos funcionais, átomos ou elétrons. A coenzima incorporada à estrutura da enzima recebe o nome de *grupo prostético*.

Entre as principais coenzimas encontram-se os nucleotídeos piridínicos (derivados de nicotinamida) e flavínicos (derivados de riboflavina), a tiamina-pirofosfato (derivada da vitamina  $\text{B}_1$ ), a coenzima A (derivada do ácido pantotênico), o piridoxal-fosfato (derivado da vitamina  $\text{B}_6$ ), a biocitina (derivada da biotina), a coenzima  $\text{B}_{12}$  (derivada da cianocobalamina ou vitamina  $\text{B}_{12}$ ) e a lipoil-lisina (derivada do ácido lipóico).

## Nucleotídeos piridínicos

As formas coenzimáticas dos nucleotídeos piridínicos são o NAD (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo) e o NADP (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato). Esses nucleotídeos são derivados da nicotinamida, amida do ácido nicotínico (niacina), vitamina do complexo B (Figura 6).

No sentido exato da palavra, a niacina não é uma vitamina (composto essencial que precisa ser incorporado na dieta), pois ela pode ser sintetizada no organismo a partir de triptofano (Trp). Porém, a conversão de Trp em niacina é relativamente ineficiente e só acontece depois que os requerimentos de Trp estão cobertos. Por outro lado, a biossíntese de niacina necessita de tiamina, riboflavina e piridoxina. Assim, em termos práticos, tanto a niacina quanto o Trp são essenciais e precisam estar na dieta. A deficiência de niacina causa glossite. A deficiência moderada causa



**Figura 6** – Estrutura do NAD e do NADP.

O grupo fosfato, presente exclusivamente no NADP, bem como a nicotinamida, estão circundados por linhas tracejadas. No quadro menor, é mostrada a forma reduzida do grupo nicotinamida. AMP, adenosina mono-fosfato; NMN, nicotinamida mononucleotídeo.

pelagra em humanos, doença caracterizada pelos três Ds: dermatite, diarreia e demência. No cão, a deficiência de niacina causa a doença chamada “língua preta”, devido à glossite. Os sinais neurológicos são devidos à degeneração do sistema nervoso. A avitaminose está associada a dietas pobres em proteína, alcoolismo crônico e síndrome de má absorção. A niacina é encontrada nas carnes, nas leguminosas e nos cereais.

Os nucleotídeos NAD e NADP são chamados também nucleotídeos de piridina, pois a nicotinamida é um derivado da piridina. Estes nucleotídeos atuam como coenzimas de muitas enzimas oxidorreduzidas, as quais atuam como receptoras de elétrons de substratos específicos. NAD<sup>+</sup> e NADP<sup>+</sup> (formas oxidadas) sofrem redução reversível em seu anel nicotinamida, devido à oxidação de um substrato, que doa um par de átomos de H. O nucleotídeo oxidado recebe um íon hidreto (H<sup>-</sup>), equivalente a um próton e dois elétrons, e transforma-se em NADH ou NADPH (formas reduzidas). As formas reduzidas, por sua vez, podem doar H para reduzir outros compostos e, assim, voltar à forma oxidada. A união do NAD à enzima é fraca (não-covalente). O nucleotídeo se movimenta através da superfície de uma enzima a outra, atuando como um transportador de elétrons entre um metabólito e outro.

Existem aproximadamente 200 desidrogenases identificadas: as desidrogenases NAD-dependentes participam da transferência de elétrons em processos oxidativos (catabólicos), enquanto as desidrogenases NADP-dependentes participam da transferência de elétrons em processos redutivos (biossintéticos ou anabólicos). Os estados oxidado (NAD<sup>+</sup>) e reduzido (NADH) podem ser diferenciados por espectrofotometria ultravioleta, pois o espectro de absorção do NADH apresenta dois comprimentos de onda de má-

xima absorção (260 e 340 nm), enquanto que o NAD<sup>+</sup> apresenta absorção apenas a 260 nm.

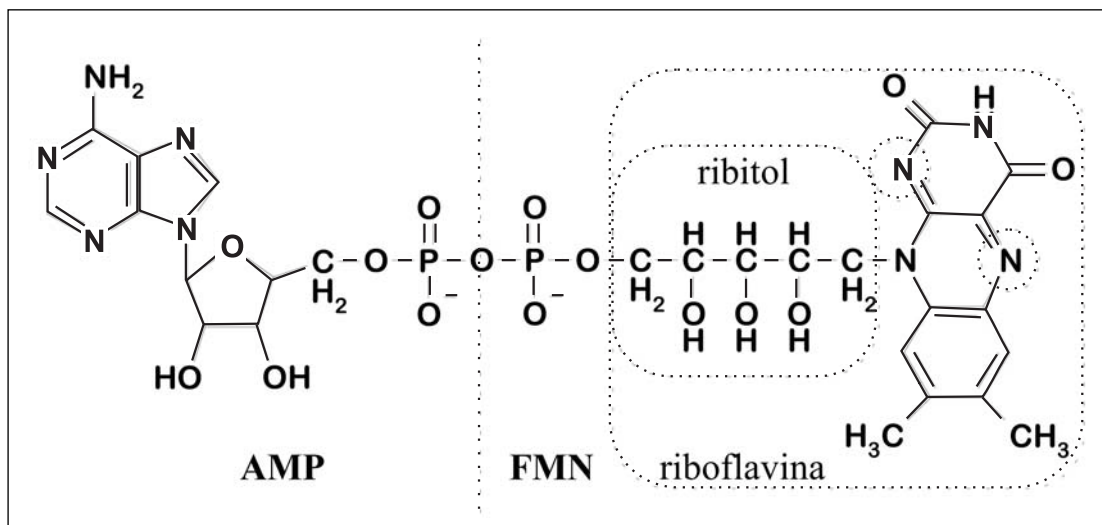
### **Nucleotídeos flavínicos**

As formas coenzimáticas dos nucleotídeos flavínicos são o FAD (flavina-adenina-dinucleotídeo) e o FMN (flavina-mononucleotídeo). Ambas as formas são derivadas da riboflavina ou vitamina B<sub>2</sub> (Figura 7). Sinais clínicos característicos da deficiência de riboflavina incluem glossite e dermatite escamosa (especialmente nas dobras nasolabiais e na área escrotal). Esta vitamina é encontrada no leite, na carne, nos ovos e nos cereais. A deficiência severa está relacionada com subnutrição e alcoolismo crônico.

Pode-se dizer que as coenzimas flavínicas não são nucleotídeos verdadeiros, pois, ao invés de pentose como açúcar, eles contêm ribitol. Os flavonucleotídeos estão unidos fortemente à enzima, atuando como grupo prostético (flavoproteína), podendo esta união ser covalente, como no caso da succinato desidrogenase. As formas oxidada (FAD e FMN) e reduzida (FADH<sub>2</sub> e FMNH<sub>2</sub>) podem ser diferenciadas por espectrofotometria, pois a forma oxidada tem dois pontos de máxima absorção, a 370 e a 450 nm, enquanto que a forma reduzida somente tem o pico de absorção a 450 nm. As flavoenzimas atuam como oxidorreduzidas em muitos processos oxidativos, como do ácido pirúvico, dos ácidos graxos e dos aminoácidos, bem como na cadeia de transporte eletrônico.

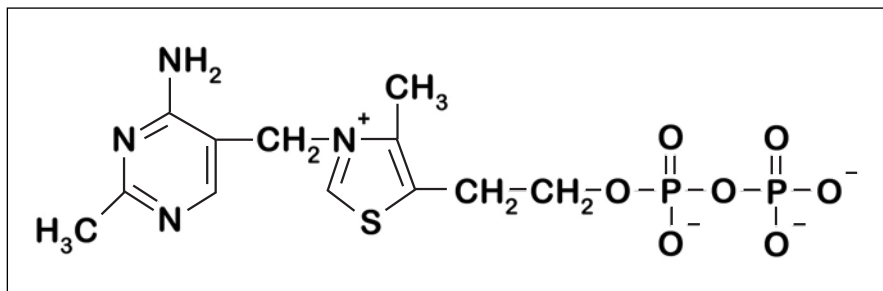
### **Tiamina-pirofosfato (TPP)**

Também é conhecida como tiamina-difosfato (Figura 8). É derivada da tiamina (vitamina B<sub>1</sub>). O grupo ativo da TPP é o tiazol, e necessita também do Mg<sup>2+</sup> como cofa-



**Figura 7** – Estrutura do FAD e do FMN.

As estruturas da riboflavina e do ribitol estão circundados por linhas tracejadas, assim como os átomos de N onde são introduzidos os H para formar  $\text{FADH}_2$  (ou  $\text{FMNH}_2$ ), que são as formas reduzidas. AMP, adenosina monofosfato; FMN, flavina mononucleotídeo.



**Figura 8** – Estrutura da tiamina pirofosfato.

tor. A TPP funciona como coenzima em dois tipos de reações:

(a) Na descarboxilação-oxidação do piruvato, com sua conversão em acetil-CoA, e do  $\alpha$ -cetoglutarato no ciclo de Krebs, formando succinil-CoA.

(b) Nas reações das transcetolases, na via das pentoses-fosfato.

Por outro lado, a TPP parece ter importante papel na transmissão do impulso ner-

voso: a coenzima se localiza nas membranas periféricas dos neurônios, sendo requerida na biossíntese de acetilcolina e nas reações de translocação de íons na estimulação nervosa.

O conhecimento da ação bioquímica da TPP não explica ainda claramente todos os sinais clínicos decorrentes da deficiência de tiamina: perda de apetite, constipação, enjojo, depressão, neuropatia periférica, irritabilidade e fadiga. Deficiência de moderada a severa causa confusão mental, ataxia (andar camba-

leante e disfunção motora) e oftalmoplegia (perda da coordenação ocular). Deficiência severa causa beribéri em humanos e polineurite em aves, doenças caracterizadas por acúmulo de fluidos (edema) no sistema neuromuscular, dor, atrofia e debilidade muscular, paralisia e morte. Também pode ocorrer falha cardíaca congestiva.

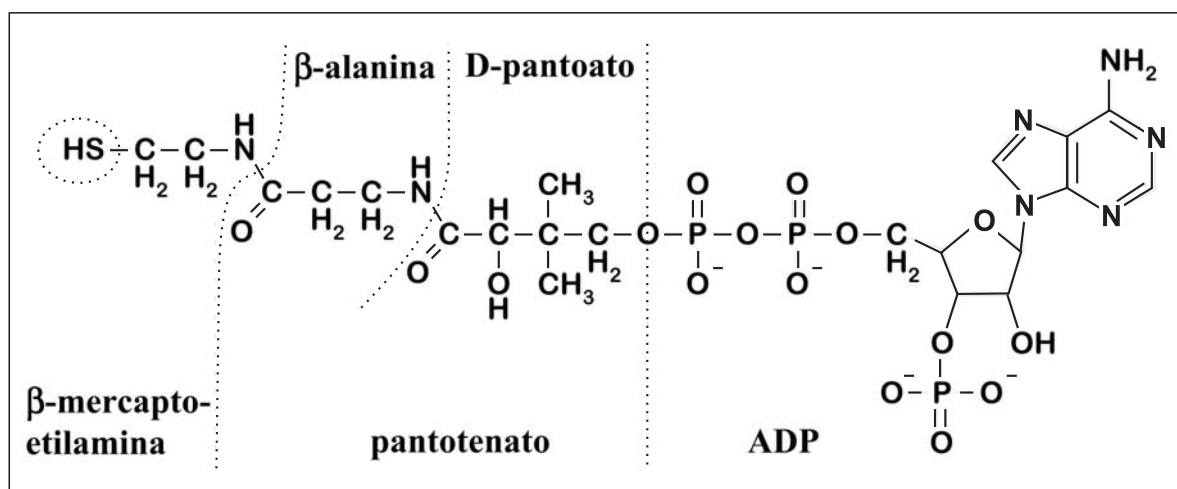
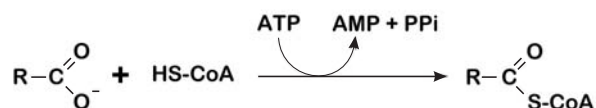
A deficiência de tiamina é observada em desnutrição avançada, em alimentação exclusivamente à base de arroz polido e em alcoolismo crônico. Em aves, é frequente quando ocorrem tratamentos prolongados com amprólio, um composto anticoccidial, antagonista da tiamina. O café e o chá também contêm substâncias antitiamínicas, mas que não representam problema com consumos normais dessas bebidas.

### Coenzima A (CoA)

A coenzima A é derivada do ácido pantotênico. É um nucleotídeo de adenina que contém β-mercaptoetilamina (Figura 9). O ácido pantotênico também é componente

da porção fosfopanteteína da proteína transportadora de grupos acila (ACP: *Acyl Carrier Protein*) que atua na biossíntese de ácidos graxos. Pelo menos 70 enzimas utilizam a coenzima A ou a ACP, sendo uma coenzima importante no metabolismo de lipídeos, proteínas e no ciclo de Krebs. É difícil observar deficiência de ácido pantotênico devido a sua ampla distribuição nos alimentos naturais.

A coenzima A atua como transportador de grupos acila em reações de: (a) oxidação e biossíntese de ácidos graxos; (b) oxidação do piruvato; e (c) acetilações (a letra A no nome da coenzima é devido a sua participação em reações de acetilação).



**Figura 9** – Estrutura da coenzima A.

O grupo tiol (SH) ativo da coenzima A está circundado por linha tracejada. ADP, adenosina difosfato.

O grupo ativo da coenzima A é o tiol (-SH), o qual é esterificado com um grupo acila (R-COOH) gerando um tioéster, durante o transporte do grupo acila.

### Piridoxal-fosfato

É a forma coenzimática da vitamina B<sub>6</sub>. Pode estar como piridoxamina, piridoxina, piridoxina-fosfato ou piridoxal, sendo estas duas últimas as formas ativas. No organismo, todas as formas são convertidas em piridoxal-fosfato, coenzima requerida para a biossíntese, catabolismo e interconversão dos aminoácidos (Figura 10).

São muitas as reações que dependem de piridoxina. Entre os processos mais importantes nos quais há participação desta coenzima, podem ser citados:

(a) Reações de transaminação entre aspartato e oxalacetato, α-cetoglutarato e glutamato, e alanina e piruvato (Figura 11).

(b) Reações da glicogenólise, nas quais a piridoxina é componente essencial da glicogênio fosforilase e se une a resíduos de lisina, estabilizando a enzima.

(c) Biossíntese das aminas serotonina, noradrenalina e histamina.

(d) Formação de niacina a partir de triptofano.

(e) Biossíntese do ácido δ-aminolevulínico (ALA), precursor do grupo heme.

(f) Biossíntese de esfingolipídeos, componentes da mielina.

A deficiência moderada de piridoxina pode causar irritabilidade, nervosismo e depressão, bem como anemia sideroblástica (por

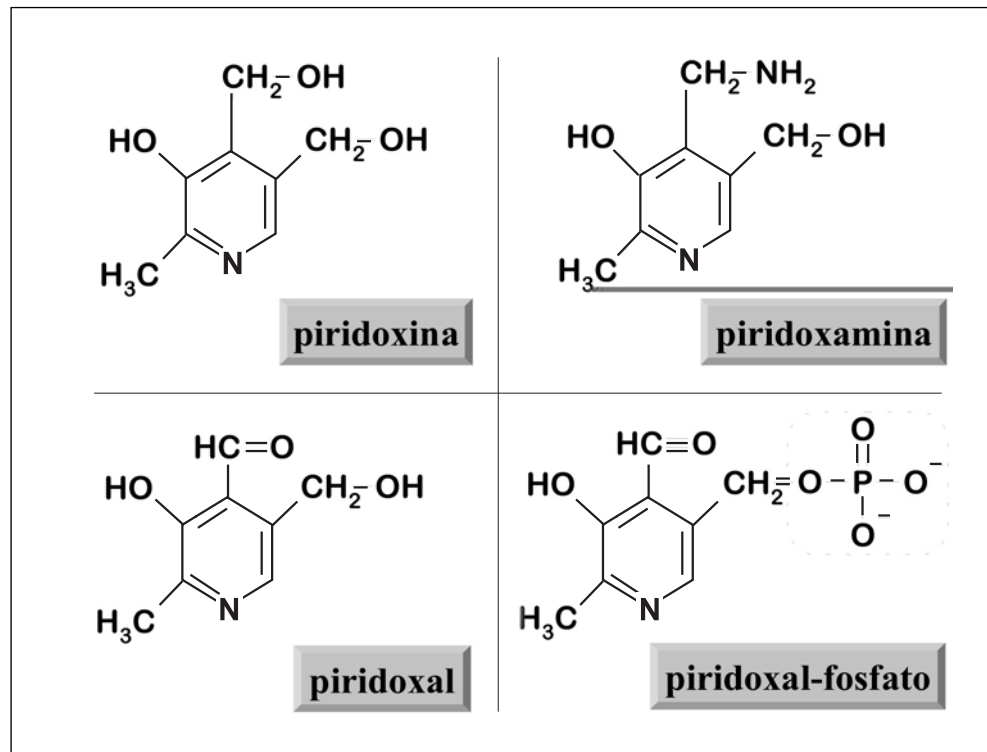
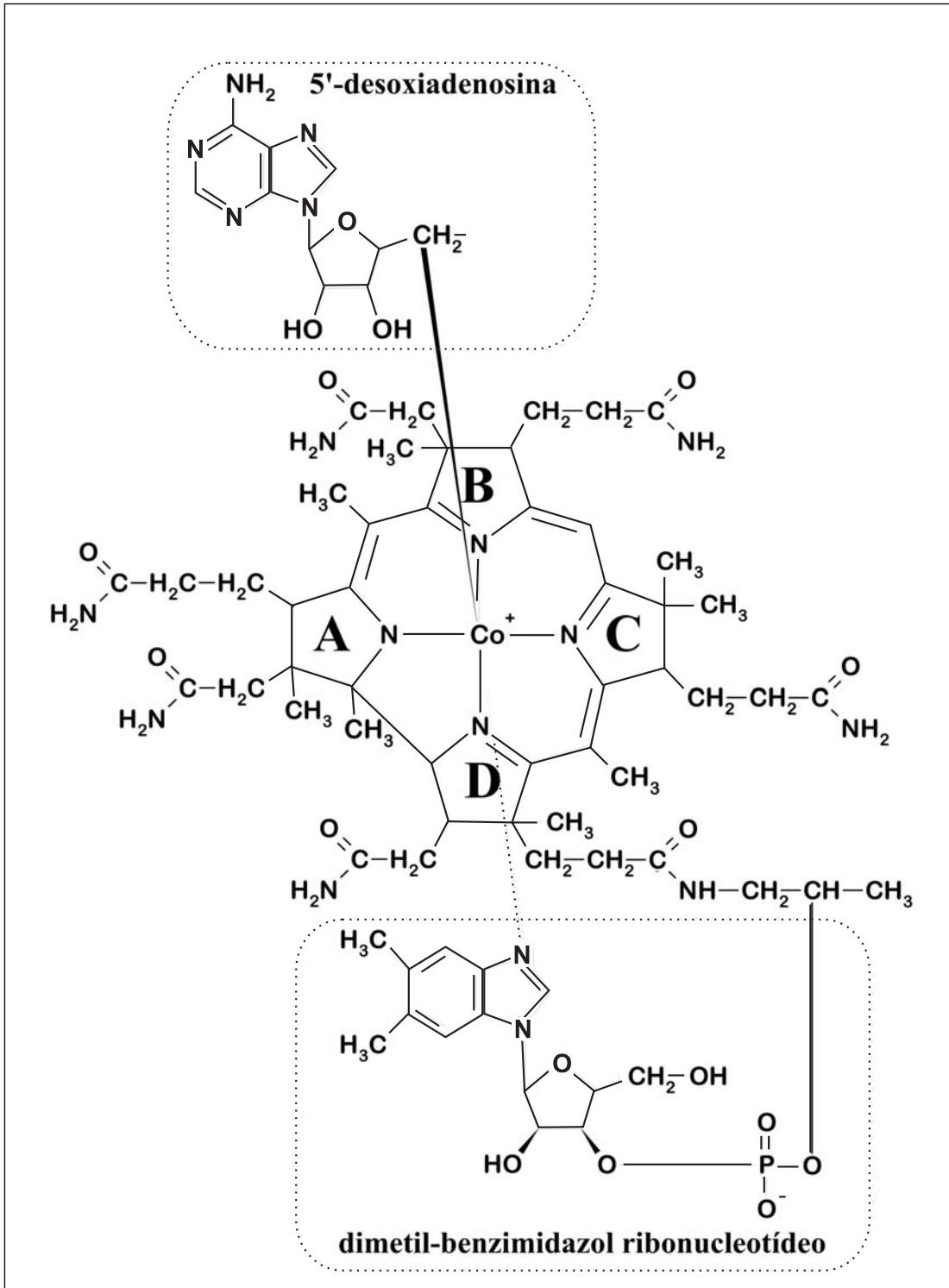


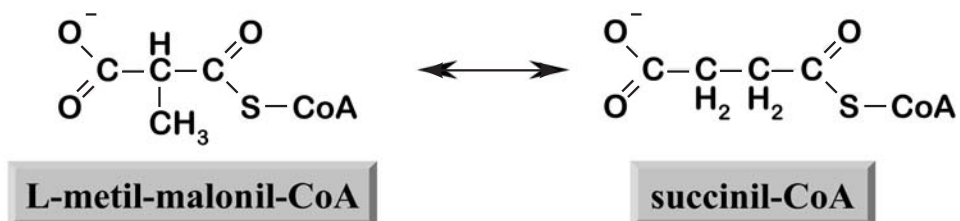
Figura 10 – Estrutura das diferentes formas da vitamina B<sub>6</sub> e do piridoxal-fosfato.





**Figura 12** – Estrutura da coenzima B<sub>12</sub> (5' desoxiadenosil-cobalamina).



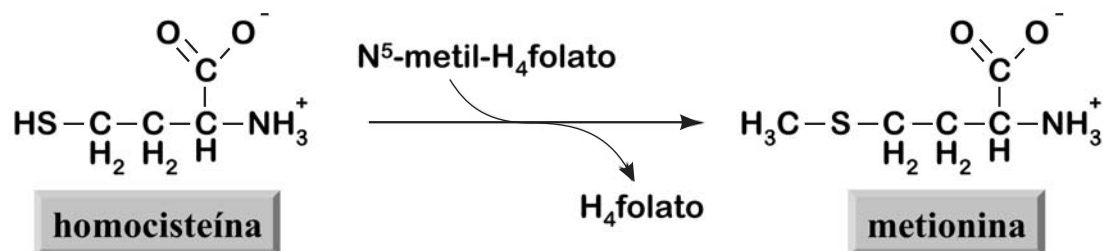


Nessa reação o grupo -CO-S-CoA do C2 do metil-malonil é transferido ao C3, sendo trocado com um H que estava neste último. Esta reação faz parte do metabolismo dos ácidos graxos e de alguns aminoácidos. Nos animais ruminantes, é uma reação indispensável para a conversão do propionato (proveniente do metabolismo dos carboidratos no rúmen) até succinil-CoA, fonte de glicose (rota da gliconeogênese).

O derivado metil da coenzima B<sub>12</sub> é requerido na conversão de homocisteína em metionina. A deficiência de vitamina B<sub>12</sub> provoca anemia perniciosa, uma anemia megaloblástica associada com deterioração neurológica. A anemia é devida ao efeito da B<sub>12</sub> sobre o metabolismo do folato, no qual ela participa da formação de tetraidro-folato:

Na deficiência de B<sub>12</sub> ocorre deficiência de derivados de H<sub>4</sub>folato, necessários para a síntese de purinas e dTMP (e portanto de DNA). A deterioração neurológica deve-se à desmielinização progressiva do tecido nervoso. Na deficiência de B<sub>12</sub> ocorre interferência com a formação de mielina devido ao acúmulo de metil-malonil, o qual é inibidor competitivo do malonil-CoA, intermediário na síntese de ácidos graxos, interferindo, portanto, na síntese de esfingomielina.

O metil-malonil pode também substituir o malonil na síntese residual de ácidos graxos, causando a produção de ácidos graxos ramificados, os quais afetam a estrutura normal das membranas nervosas. Nos ruminantes, é difícil encontrar esta deficiência devido à produção de cianocobalamina pelos micror-



ganismos do rúmen, a menos que a dieta seja deficiente em cobalto.

A vitamina B<sub>12</sub> apresenta-se distribuída amplamente nos alimentos, especialmente nas carnes. As reservas de B<sub>12</sub> no fígado podem durar até seis anos. As deficiências são raras e estão relacionadas com falhas na secreção de HCl gástrico e do fator intrínseco, com a síndrome de má absorção ou com dietas vegetarianas de longa duração.

### Biotina

Constitui o grupo prostético de várias enzimas que participam em reações de carboxilação (Figura 13). As mais importantes dessas enzimas são a piruvato carboxilase (que catalisa a conversão do piruvato em oxalacetato), participando na via da gliconeogênese, e a acetil-CoA carboxilase (que catalisa a conversão do acetil-CoA em malonil-CoA), participando na biossíntese de ácidos graxos. A biotina é encontrada no amendoim, no chocolate e nos ovos, sendo também sintetizada pelas bactérias intestinais. A deficiência de biotina pode ser observada em tratamentos prolongados com antibióticos via oral ou em consumo excessivo de ovos crus, os quais contêm a avidina, uma proteína presente na clara, que se une à biotina e impede sua absorção.

### Ácido fólico (Folacina)

Esta vitamina está envolvida com os processos da hematopoiese. Está amplamente distribuída nos alimentos, especialmente nas carnes. Possui de um a sete resíduos de glutamato em sua estrutura (Figura 14). Depois de ser absorvido no intestino, o ácido fólico é reduzido a tetra-hidrofolato (H<sub>4</sub>folato) nos lisossomos, pela enzima H<sub>2</sub>folato-redu-tase. Na circulação, a vitamina encontra-se como N<sup>5</sup>-metil-H<sub>4</sub>folato. Dentro das células, o H<sub>4</sub>folato aparece na forma poliglutâmica, a qual é biologicamente mais potente, sendo, dessa forma, armazenado no fígado.

O H<sub>4</sub>folato participa de reações biossintéticas como carregador de unidades de 1 carbono. Assim, participa da biossíntese da colina, serina, glicina, metionina, purinas e dTMP. As duas últimas são as reações mais significativas, pois tanto purinas quanto dTMP devem ser sintetizados, enquanto os outros compostos podem ser fornecidos pela dieta. Portanto, o efeito mais notório da deficiência de H<sub>4</sub>folato é a inibição da síntese de DNA, devido à baixa disponibilidade de purinas e de dTMP. Isso leva à detenção das células na fase S do ciclo celular, o que provoca uma característica mudança megaloblástica na forma e no tamanho das células de divisão

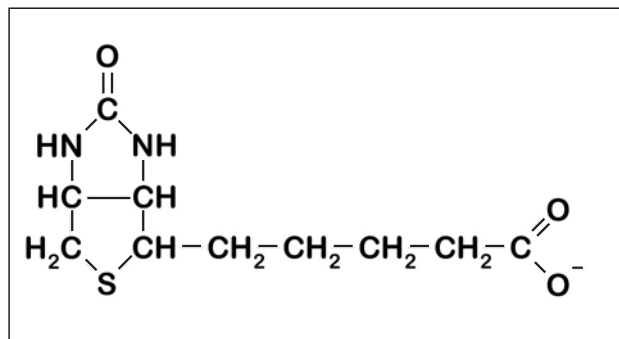
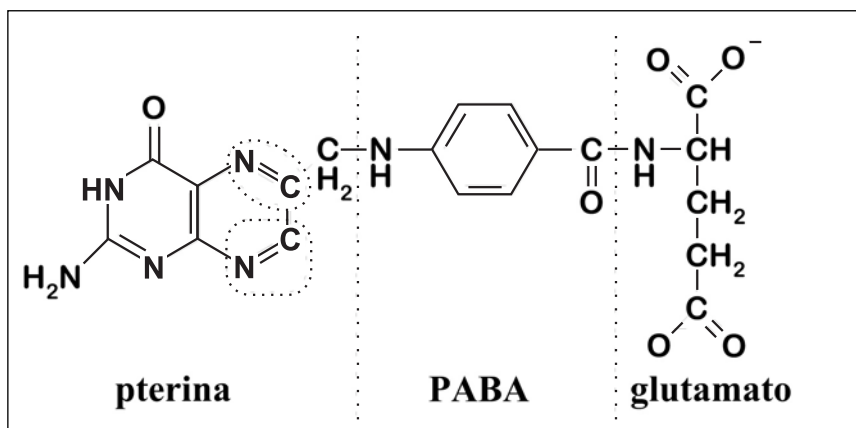


Figura 13 – Estrutura da biotina.



**Figura 14** – Estrutura do folato.

Os átomos de C e N, onde são introduzidos os dois hidrogênios para formar dihidrofolato, estão delimitados por um quadrado tracejado. Dois átomos de hidrogênio adicionais são introduzidos nas posições marcadas por uma elipse tracejada para a formação do tetrahidrofolato. PABA, ácido *p* aminobenzoico.

rápida. Observa-se também redução na maturação dos eritrócitos com aumento do seu tamanho e maior fragilidade das membranas, provocando anemia macrocítica, típica da deficiência de folato. A deficiência de folato, embora difícil de acontecer, pode ser causada por ingestão ou absorção inadequadas, ou por aumento na demanda (na gestação e na lactação) desta vitamina.

#### FOTOSÍNTESE

A formação de energia química, que faz possível a vida na Terra, é originada a partir da energia solar, fato que foi postulado pela primeira vez pelo físico alemão Von Mayer em 1845. Uma vez que essa transformação de energia só pode ser realizada pelos organismos fotossintéticos, a vida na Terra só é possível devido à fotossíntese.

A fotossíntese é um processo químico realizado pelas plantas, as algas e certos microrganismos, mediante o qual a energia solar é capturada e convertida em energia

química na forma de ATP e compostos orgânicos reduzidos. Esse processo, que pode ser considerado como oposto ao processo da respiração realizada pelos animais, é a fonte primária de energia de todos os seres vivos.

Considera-se como o descobridor da fotossíntese o físico holandês Jan Ingenhousz, que em 1779, baseado nos experimentos de Priestley (o descobridor do oxigênio), encontrou que as plantas produzem oxigênio na presença de luz solar. Senebier, em 1782, adicionou que, além da luz do sol, o dióxido de carbono era necessário para que a fotossíntese pudesse realizar-se.

Os seres autótrofos e os heterótrofos estão em equilíbrio na biosfera. Assim, os seres autótrofos captam a luz solar para formar ATP e NADPH, moléculas que usam para produzir compostos orgânicos a partir de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O e liberando O<sub>2</sub> na atmosfera, enquanto os seres heterótrofos consomem os compostos orgânicos produzidos pelos seres autótrofos, para obter energia mediante a oxidação desses compostos utilizando o O<sub>2</sub> atmosférico e

liberando  $\text{CO}_2$  ao meio. O  $\text{CO}_2$  é utilizado de novo pelos organismos autótrofos, fechando o ciclo. Calcula-se que a quantidade de energia livre capturada na fotossíntese durante um ano é 10 vezes maior que a energia gasta em combustíveis fósseis (petróleo, carvão, gás natural) pela humanidade.

## A clorofila

Em 1817 Pelletier e Caveton isolaram o pigmento verde das folhas das plantas e o chamaram de clorofila (do grego, folha verde). Em 1872, Sachs demonstrou que o produto imediato da fotossíntese era a glicose. Em 1906, Willstätter purificou a clorofila e descobriu que estava composta por duas partes, com diferentes características de absorção da luz, chamando-as clorofila a e clorofila b. Também encontrou que a molécula de clorofila continha  $\text{Mg}^{2+}$

e estava composta de anéis pirrólicos. Fischer, na década de 1930, esclareceu que a estrutura da clorofila estava composta por quatro anéis pirrólicos muito similares ao anel heme da hemoglobina (Figura 15).

A fotossíntese pode ser realizada nas plantas devido à capacidade que têm as clorofilas e outros pigmentos de absorver a energia solar. As clorofilas são os pigmentos que mais absorvem luz nas plantas, havendo outros compostos que também absorvem luz e, em geral, são chamados de pigmentos cromóforos, entre os quais estão o beta-caroteno, a ficoeritrina e a ficocianina.

A clorofila encontra-se nos cloroplastos, organelas das células das folhas similares às mitocôndrias, no sentido de que têm dupla membrana e possuem seu próprio DNA, embora sejam muito maiores. A membrana externa dos cloroplastos é permeável a íons e a

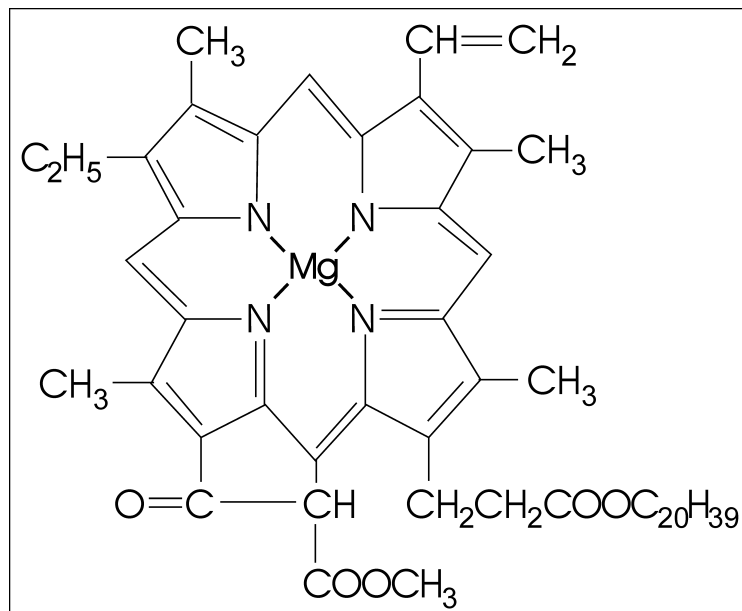
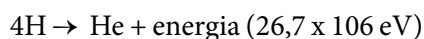


Figura 15 – Estrutura da clorofila.

pequenas moléculas. A parte correspondente à matriz contém o estroma, espaço fluido que contém as enzimas das reações obscuras da fotossíntese, nas quais o CO<sub>2</sub> é reduzido a glicose. Fazendo parte da membrana interna dos cloroplastos existem muitas estruturas membranais planas e discoidais chamadas tilacoides, que, empilhados como moedas, formam unidades chamadas grana. Os grana estão interligados por extensões de tilacoides chamadas lamelas. Embebidos nas membranas tilacoides estão os pigmentos fotossintéticos e as enzimas requeridas para as reações de luz da fotossíntese.

### Características da energia solar

A energia solar provém da fusão de átomos de H causada por efeito das enormes temperatura e pressão presentes no sol para formar átomos de He na seguinte reação:



A energia da radiação eletromagnética (Tabela 5) é expressada como quanta (e) em elétron-vóltio (eV), sendo diferente para cada frequência, a qual depende do comprimento de onda. Por exemplo, a energia da luz vermelha, a luz de menor frequência na faixa visível do espectro eletromagnético, é de 1,65 eV e a da luz violeta, a de maior frequência, é 3,3 eV.

A clorofila absorve fortemente a luz vermelha e a violeta refletindo comprimentos de ondas intermediárias cuja mistura dá a cor verde, característica das folhas das plantas. A fotossíntese realiza-se a partir das porções visível e infravermelha próxima do espectro eletromagnético, fato que tem uma clara conotação evolutiva, pois é justamente essa a faixa do espectro que chega à Terra desde o sol com maior intensidade.

TABELA 5 - ESPECTRO DA RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

Tipo de radiação	Comprimento de onda
Raios gama	0,01-0,1 nm
Raios X	< 30 nm
Ultravioleta	< 400 nm
Luz visível	400-700 nm
Violeta	415 nm
Azul	465 nm
Vinho	500 nm
Verde	535 nm
Amarelo	580 nm
Laranja	615 nm
Vermelho	680 nm
Infravermelho	700-1000 nm
Micro-ondas	< 1 m
Ondas de rádio	> 1000 m

## Reação geral da fotossíntese

Arnon, em 1954, foi o primeiro a poder realizar fotossíntese a partir de cloroplastos isolados. A fotossíntese não somente produz carboidratos como fonte de energia para os animais, mas também é a via por meio da qual o carbono entra de novo na biosfera, sendo também a principal fonte de oxigênio da atmosfera. A reação geral do processo da fotossíntese, na qual é aproveitada a energia solar, revela um processo de oxidorredução em que a água doa elétrons (como H) para reduzir o CO<sub>2</sub> e convertê-lo em glicídeo (CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>, ou seja:



O oxigênio livre produzido provém da água, e não do CO<sub>2</sub>, o que significa que a água é o agente redutor no processo, como foi predito desde 1930 por Van Niel e comprovado depois mediante a utilização de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O marcados com o isótopo <sup>18</sup>O<sub>2</sub>. Entretanto, a H<sub>2</sub>O não reduz diretamente o CO<sub>2</sub>. A energia solar produz a oxidação (saída de elétrons) fotoquímica da H<sub>2</sub>O devido à existência de excelentes doadores e receptores de elétrons, e o receptor final deles é o NADP<sup>+</sup>, o qual é reduzido a NADPH, e o O<sub>2</sub> é liberado.

A fotossíntese agrupa dois processos: (1) as reações lumínicas, que ocorrem quando a planta está iluminada; e (2) as reações obscuras ou reações de fixação do CO<sub>2</sub> (ciclo de Calvin), que ocorrem tanto em ambiente de luz quanto de escuridão. No processo lumínico os pigmentos fotossintéticos absorvem a energia solar, a qual é utilizada para fosforilar ADP e produzir ATP, no processo conhecido como fotofosforilação, descoberto pelo grupo de Arnon, bem como para produzir NAPH.

Tanto o NADPH quanto o ATP produzidos nas reações lumínicas são utilizados para a síntese redutiva dos carboidratos nas cha-

mas reações obscuras. A formação de O<sub>2</sub>, que ocorre somente com a luz, e a redução do CO<sub>2</sub>, que não requer luz, são processos diferentes e separados embora ambos ocorram nos cloroplastos.

## Reações lumínicas dos cloroplastos

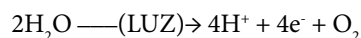
Os pigmentos presentes nas membranas tilacoides dos cloroplastos podem converter a energia da luz solar em energia química, pois suas moléculas podem ser excitadas com os fótons (quantos de luz). A energia de 1 “mol” de fótons ( $6 \times 10^{23}$  fótons = 1 einstein) é de 170 a 300 kJ, dependendo do comprimento de onda da luz. Quando ocorre absorção de luz, os elétrons das moléculas dos pigmentos passam para um estado excitado (os elétrons passam para um orbital mais externo), ficando em situação instável. Ao voltar para seu estado basal (estável) emitem parte da energia absorvida (fluorescência), a qual pode ser utilizada para realizar um trabalho químico. A excitação das moléculas por um fóton e sua fluorescência são processos muito rápidos, entre 10<sup>-15</sup> e 10<sup>-12</sup> segundos, respectivamente.

Na fotossíntese existem dois fotossistemas que funcionam de forma independente e complementar. Um deles absorve luz de comprimentos de onda de 700 nm ou mais (fotossistema I) e o outro absorve luz de comprimentos de onda de 680 nm ou menos (fotossistema II). Ambos os fotossistemas são necessários para que a fotossíntese possa funcionar eficientemente.

O primeiro evento é a transferência de elétrons excitados pela luz desde os centros de reação (chamados P680 e P700 para os fotossistemas II e I, respectivamente) para uma cadeia de transporte de elétrons. Os centros de reação são um complexo de moléculas de clorofilas unidas a proteínas e de quinonas,

moléculas que podem ser oxidadas ou reduzidas recebendo ou doando elétrons. A fonte de elétrons é a água (fotólise da água) e o receptor final deles é o NADP<sup>+</sup>, que resulta reduzido a NADPH.

A fotólise da água ocorre no fotossistema II, podendo ser resumida assim:

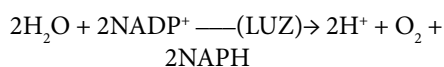


Essa reação é conhecida como a reação de Hill (por Robert Hill, que em 1937 estudou as reações de luz da fotossíntese). Durante a transferência dos elétrons (e<sup>-</sup>), os prótons (H<sup>+</sup>) são enviados para o interior dos tilacoides, através de suas membranas, produzindo um gradiente de energia. Este gradiente eletroquímico gera energia suficiente para fosforilar ADP e produzir ATP, de forma similar à fosforilação oxidativa que ocorre na mitocôndria.

No fotossistema I completa-se a transferência de elétrons para o receptor final, o NADP<sup>+</sup>. A reação global do fotossistema I pode ser resumida assim:



Desse modo, os produtos finais das reações lumínicas são ATP e NADPH. A soma-tória das reações globais dos fotossistemas I e II, eliminando os intermediários, pode ser resumida assim:



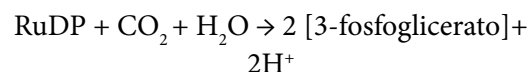
### Reações obscuras da fotossíntese (ciclo de Calvin)

Nas reações obscuras da fotossíntese, também chamadas de ciclo de Calvin, o CO<sub>2</sub> atmosférico é fixado pela planta para produzir carboidratos (glicose e amido). São chamadas obscuras porque nelas não intervém a energia solar, embora ocorram também

durante o dia. As rotas metabólicas desses processos foram esclarecidas pelo bioquímico Melvin Calvin durante a década de 1950. O ciclo de Calvin é realizado nos cloroplastos e pode ser estudado como se estivesse integrado por duas partes. Na primeira parte, ocorre a fixação do CO<sub>2</sub> pelo composto ribulose-1,5-difosfato (RuDP), mediante ação da enzima Rubisco, etapa que culmina com a formação de glicose. Na segunda parte, ocorre a regeneração do RuDP.

#### 1) Fixação de CO<sub>2</sub> e síntese de glicose

A fixação do CO<sub>2</sub> é realizada pela enzima Rubisco (ribulose 1,5-difosfato carboxilase/oxigenase), a enzima mais importante e mais abundante na natureza, pois ela é a responsável pela produção de toda a biomassa na Terra a partir de CO<sub>2</sub>. Calcula-se que existem 40 milhões de toneladas da enzima Rubisco na biosfera (quantidade equivalente a quase 7 kg/pessoa). Esta enzima carboxila (introduzindo um CO<sub>2</sub>) e reduz a molécula de ribulose-1,5-difosfato (RuDP). Também cliva a molécula resultante (uma hexose) para dar duas moléculas de 3-fosfoglicerato. A reação global catalisada pela enzima Rubisco pode ser escrita assim:



Essa reação é irreversível devido à alta energia liberada no processo ( $\Delta G^\circ = -51,9 \text{ kJ/mol}$ ). Depois, cada molécula de 3-fosfoglicerato é fosforilada no C-1 às expensas de ATP pela enzima fosfoglicerato quinase para produzir 1,3-difosfoglicerato (1,3-DPG), o qual é logo reduzido para formar gliceraldeído-3-fosfato pela enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase tendo o NADPH como agente redutor. O gliceraldeído-3-fosfato pode então entrar na via glicolítica para gerar glicose nova (gliconegênese).

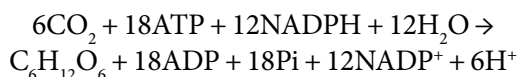
Até este ponto, por cada molécula de  $\text{CO}_2$  fixada são gastas 2 moléculas de ATP e 2 de NADPH para produzir as duas moléculas de gliceraldeído-3-fosfato e, portanto, uma molécula de glicose.

Para fixar 6 moléculas de  $\text{CO}_2$  a fim de ter a síntese líquida de uma molécula de glicose, são necessárias, portanto, 12 moléculas de ATP e 12 de NADPH, produzindo-se 12 moléculas de gliceraldeído-3-fosfato. Dessas 12 moléculas, 2 vão formar uma glicose e as restantes 10 voltam para regenerar 6 moléculas de RuDP.

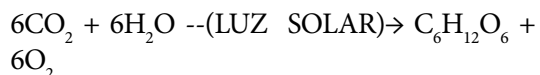
## 2) Regeneração da ribulose-difosfato (RuDP)

Das 10 moléculas de gliceraldeído-3-fosfato geradas no processo anterior, 4 moléculas ficam como tal, 2 moléculas são oxidadas a di-hidroxiacetona-fosfato e 4 moléculas são transformadas em 2 de fructose-6-fosfato. Estas moléculas combinam-se para dar 6 moléculas de ribulose-1,5-difosfato mediante a ação de várias transcetolases e transaldolases, de forma similar aos arranjos e combinações que ocorrem na via das pentoses-fosfato. O produto final é ribulose-5-fosfato, composto que é fosforilado pela ribulose-5-fosfato quinase às expensas do ATP, para dar RuDP. Assim, para completar as 6 moléculas de RuDP são gastas 6 moléculas de ATP adicionais às 12 necessárias na fase de fixação e síntese de glicose.

A reação global do ciclo de Calvin, sem incluir os intermediários, pode ser escrita assim:



Incluindo as reações lumínicas e as obscuras, a reação global da fotossíntese pode-se escrever assim:



Sabendo que a variação de energia livre dessa reação é de 2.840 kJ/mol, pode-se calcular o grau de eficiência de captação de energia do processo, considerando os seguintes fatos:

(1) São captados 2 fótons (1 por cada fotosistema) para causar o fluxo de um elétron desde  $\text{H}_2\text{O}$  até NADPH.

(2) Para gerar uma molécula de  $\text{O}_2$  é necessária a transferência de 4 elétrons (duas moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$ ).

(3) São produzidos  $6\text{O}_2$ .

(4) O total de fótons necessários no processo são: 2 fótons/elétron x 4 elétrons/ $\text{O}_2$  x  $6\text{O}_2$  = 48 fótons.

(5) A energia de 1 “mol” de fótons (1 einstein) no intervalo de luz absorvida no processo de fotossíntese (400 a 700 nm) está entre 170 e 300 kJ.

Então, para 48 fótons a energia absorvida é de 8.160 a 14.400 kJ, a qual é gasta para sintetizar 1 mol de glicose, o que significa uma eficiência de conservação da energia de  $(2.840/8.160) = 38,8\%$  a  $(2.840/14.400) = 19,7\%$ , dependendo do comprimento de onda de luz absorvida.

## Plantas C4

Algumas plantas chamadas C4 (cana-de-açúcar, milho, sorgo) sob as condições do trópico, isto é, alta luminosidade, alta temperatura, baixos níveis de  $\text{CO}_2$  e altos níveis de  $\text{O}_2$ , fixam o  $\text{CO}_2$  através do fosfoenolpiruvato (PEP) para produzir oxalacetato (OAA), composto de 4 carbonos. A via de captação de  $\text{CO}_2$  pelas plantas C4 foi proposta por Hatch e Slack em 1966.

A enzima que realiza essa reação, a PEP-carboxilase, é mais eficiente do que a Rubisco para fixar  $\text{CO}_2$ . Mediante esse processo as



plantas C4 evitam ou diminuem a fotorrespiração, evento que ocorre em todas as plantas, quando os níveis de  $\text{CO}_2$  atmosféricos são baixos, e consiste na oxidação da RuDP devido à ação oxigenase da própria enzima Rubisco, consumindo  $\text{O}_2$  e ATP e liberando, em vez de fixar,  $\text{CO}_2$ . O processo da fotorrespiração não tem utilidade conhecida.

A proporção de  $\text{O}_2$  no ar é de 20 % e a de  $\text{CO}_2$  é de 0,04 %, portanto facilmente as plantas podem fazer fotorrespiração. O aumento da temperatura causa diminuição da afinidade da Rubisco pelo  $\text{CO}_2$ , de forma que aumentaria a fotorrespiração. No trópico, as plantas C4 conseguem contornar esse problema.

As folhas das plantas C4 têm uma disposição celular diferente das plantas C3, pois além das células mesófilas, próprias de todas as folhas das plantas C3, as plantas C4 possuem grupos de células vizinhas e interligadas com elas, chamadas células da bainha.

O processo de fixação do  $\text{CO}_2$  pelas plantas C4 é realizado nas células mesófilas (onde também se realiza nas plantas C3), mas, nas plantas C4, o  $\text{CO}_2$  é indiretamente enviado para as células da bainha, vizinhas das mesófilas, de forma a manter níveis sempre altos de  $\text{CO}_2$ , evitando a fotorrespiração e, no caso de ela acontecer, o  $\text{CO}_2$  liberado é coletado nas células mesófilas.

## REFERÊNCIAS

- ACKERSON, B. J. Entropy-when order is disordered. *Nature*, v. 365, p. 12, 1993.
- AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci*, v. 90, p. 7915-7922, 1993.
- ATKINS, P. W. *The Second Law*. New York: Scientific American Books, Inc., 1984.
- BABCOCK, G. T.; WICKSTRÖM, M. Oxygen activation and the conservation of energy in cell respiration. *Nature*, v. 356, p. 301-309, 1992.
- BOYER, P. D. The unusual enzymology of ATP synthase. *J. Biochem*, v. 26, p. 8503, 1987.
- FESUS, L. Biochemical events in naturally occurring forms of cell death. *FEBS Letters*, v. 328, p. 1-5, 1993.
- GODVINJE, J.; COLEMAN, W. J. How plants make oxygen. *Sci. Am.*, v. 262, p. 50-58, 1990.
- HANSEN, D. E.; RAINES, R. T. Binding energy and enzymatic catalysis. *J. Chem. Educ.*, v. 67, p. 483-489, 1990.
- HANSON, R. W. The role of ATP in metabolism. *J. Biochem. Educ.*, v. 17, p. 86-92, 1989.
- HINCKLE, P. C.; McCarty, R. E. How cells make ATP. *Sci. Am.*, v. 238, p. 104-123, 1978.
- KAUFMAN, B. T. Why NADP?. *Trends Biochem. Science*, v. 18, p. 278-279, 1993.
- KRAUT, J. How do enzymes work? *Science*, v. 242, p. 533-540, 1988.
- NITSCKE, W.; RUTHERFORD, A.W. Photo synthetic reaction centres: variations on a common structural theme? *Trends Biochem. Sci.*, v. 16, p. 241-245, 1991.
- PEDERSEN, P. L.; CARAFOLI, E. Ion motive ATPases. I. Ubiquity, properties and significance to cell function. *Trends Biochem. Sci.*, v. 12, p. 145-150, 1987.
- \_\_\_\_\_. Ion motive ATPases. II. Energy coupling and work output. *Trends Biochem. Sci.*, v. 12, p. 186-189, 1987.
- RACKER, E. From Pasteur to Mitchell: a hundred years of bioenergetics. *Fed. Proc.*, v. 36, p. 210, 1980.
- SENIOR, A. E. ATP synthesis by oxidative phosphorylation. *Physiol. Rev.*, v. 68, p. 177-231, 1988.
- SIEGENTHALER, V.; SARMIENTO, J. L. Atmospheric carbon dioxide and the ocean. *Nature*, v. 365, p. 119-125, 1993.
- SIES, H. Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.*, v. 215, p. 213-220, 1993.
- SKULACHEV, V. P. The laws of cell energetics. *Eur. J. Biochem.*, v. 208, p. 203-209, 1992.
- WESTHEIMER, F. H. Why nature chose phosphates. *Science*, v. 235, p. 1173-1178, 1987.
- WILLIAMS, R. J. P. Are enzymes mechanical devices? *Trends Biochem. Sci.*, v. 18, p. 115-116, 1993.
- YOUVAN, D.C.; MARRS, B.L. Molecular mechanisms of photosynthesis. *Sci. Am.*, v. 256, p. 42-48, 1987.



# Alterações do equilíbrio hidroeletrolítico e acidobásico

## A ÁGUA NOS ORGANISMOS ANIMAIS

A água é a substância mais abundante nos seres vivos, compondo 60 % a 75 % do peso corporal. Nos animais domésticos adultos, este valor está próximo de 60 %, enquanto que nos neonatos é de 75 %. Todas as reações químicas do organismo são realizadas em meio aquoso, e o equilíbrio de tais reações depende da concentração dos produtos de ionização da água, isto é, dos íons  $H^+$  e  $OH^-$ . A água nos animais está localizada em dois compartimentos: (a) o compartimento intracelular, que contém 55 % a 60 % do total da água do organismo; e (b) o compartimento extracelular, que contém 40 % a 45 % do total da água.

A água ingressa no organismo através dos alimentos e da água bebida e é eliminada por quatro vias diferentes: pele, pulmões, rins e intestino. Apesar das variações no consumo e na perda de água e de eletrólitos no organismo, as concentrações desses compostos nos diferentes compartimentos, é mantida de forma relativamente constante. O volume de água no compartimento extracelular num animal adulto corresponde, dependendo da espécie, a 15-30 % do seu peso corporal. O fluido extracelular inclui (a) o plasma, (b) o fluido intersticial, (c) a linfa e (d) os fluidos transcelulares. Entre estes últimos, está o fluido gastrointestinal, que tem especial importância nos grandes animais, atingindo 30-45 L nos equinos, e 30-60 L nos bovinos.

## Propriedades físico-químicas da água

Apesar do pequeno tamanho da molécula, a água tem altos valores dos pontos de fusão (0 °C) e de ebulição (100 °C). O calor de vaporização, definido como a energia calórica necessária para converter 1g de água em vapor sob condições de temperatura de ebulição e pressão atmosférica, tem também um valor relativamente alto na água (2,26 kJ/g). A água também tem um alto calor específico (energia calórica necessária para aumentar a temperatura de 1g de água em 1°C) quando comparado com moléculas de peso molecular similar. As características anteriores revelam que a molécula de água possui uma grande força de atração entre suas moléculas. Isso é devido ao caráter dipolar de sua estrutura, onde os átomos de hidrogênio compartilham um par eletrônico com o átomo de oxigênio, e os pares de elétrons do oxigênio não compartilhados geram uma carga parcial negativa ( $\delta^-$ ). Por sua vez, a força de atração eletrônica do átomo de oxigênio, elemento mais eletronegativo (eletronegatividade = 3,5) que o hidrogênio (eletronegatividade = 2,1), origina uma carga parcial positiva ( $\delta^+$ ) sobre os átomos de hidrogênio, resultando em uma molécula dipolar, porém eletricamente neutra.

O caráter dipolar faz com que uma molécula de água possa realizar pontes de hidrogênio com até outras quatro moléculas de água. É considerado que, em estado líquido, cada

molécula de água se une mediante pontes de hidrogênio a 3 ou 4 moléculas vizinhas, enquanto que em estado sólido o faz com quatro (Figura 1A). O grande número de pontes de hidrogênio entre as moléculas da água causa uma grande coesão entre elas, embora a água seja bastante fluida devido à meia-vida curta de tais ligações ( $10^{-9}$  segundos). A energia da ponte de hidrogênio, definida em termos da energia necessária para romper uma ligação, é bem menor (20 kJ/mol) do que a da ligação covalente (460 kJ/mol).

A água é um líquido polar, por sua tendência a atrair eletrostaticamente outras moléculas. Ela pode realizar pontes de hidrogênio com outros átomos eletronegativos, tais como o oxigênio e o nitrogênio. As pontes de hidrogênio também podem ser formadas entre moléculas diferentes da água: o hidrogênio unido com oxigênio ou com nitrogênio, mas não com carbono, pode ter ligação com N ou O (Figura 1B).

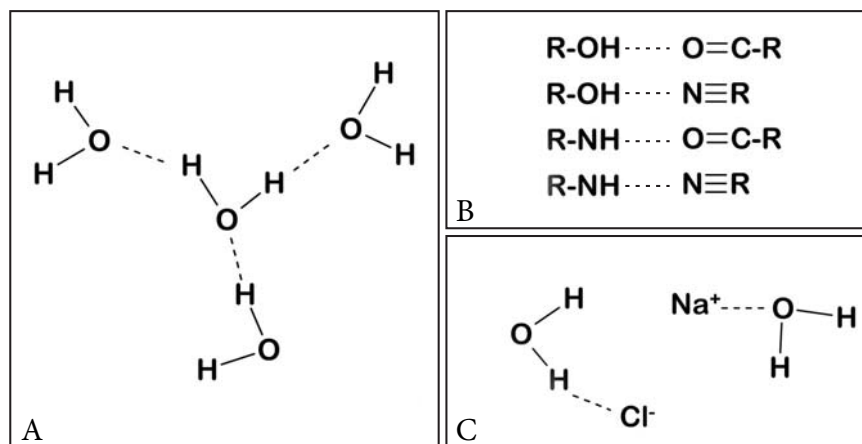
Devido a suas características polares, a água pode dissolver:

(a) sais cristalinos (exemplo, NaCl) por interagir com os íons que unem os átomos do sal entre si (Figura 1C);

(b) compostos orgânicos polares (açúcares, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos) devido à formação de pontes de hidrogênio com os grupos hidroxila ou carbonila;

(c) substâncias anfipáticas (fosfolipídeos, proteínas, ácidos nucleicos), com as quais a água forma micelas, interagindo com a porção hidrofílica e repelindo a porção hidrofóbica.

As propriedades coligativas da água, ou seja, os pontos de congelamento e ebulição, a pressão de vapor e a pressão osmótica, podem ser modificadas pela interação de alguns solutos dissolvidos na água. Os solutos tendem a romper a estrutura normal da água, ou seja, suas pontes de hidrogênio, diminuindo o número e a força dessas ligações, causando menor interação entre as moléculas de água e mudando assim suas propriedades. Essa modificação pode ser favorável para alguns organismos animais, impedindo o congelamento do sangue dos peixes que habitam águas com temperaturas abaixo do ponto de congelamento, já que a concentração dos solutos presentes no sangue diminui a temperatura de fusão da água. Por outro lado, a presença, no sangue, de proteínas, as quais são substâncias que não podem atravessar os

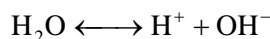


**Figura 1** – Interações por pontes de hidrogênio. Em A é mostrada a interação entre moléculas de água, em B, entre moléculas orgânicas, e em C, entre moléculas de água e íons.

capilares, dá maior pressão osmótica ao plasma dentro dos capilares do que ao fluido extracelular, fazendo com que a água flua para o interior dos capilares.

### Os produtos de ionização da água

A água tem uma leve tendência a ionizar-se de forma reversível, conforme a seguinte equação:



A 25 °C, somente uma pequena proporção das moléculas de água estão ionizadas, mas, apesar disso, os produtos de ionização ( $\text{H}^+$  e  $\text{OH}^-$ ) têm um profundo efeito biológico. Quantitativamente, o grau de ionização da água pode ser expresso mediante a constante de equilíbrio da reação ( $K_{\text{eq}}$ ):

$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]}$$

A concentração de  $\text{H}_2\text{O}$  é alta, comparada com os produtos  $[\text{H}^+]$  e  $[\text{OH}^-]$ . Como a densidade da água é de 1 g/mL, em 1 litro haverá 1.000 g ou 55,5 moles de água (peso molecular da água = 18 g). Isso significa que a concentração molar da água é de 55,5 M, concentração esta que pode ser considerada estável devido a sua pouca ionização. Também é conhecido, por medições de condutividade elétrica, que o valor da constante de equilíbrio ( $K_{\text{eq}}$ ) é de  $1,8 \times 10^{-16}$  M a 25 °C. Então, substituindo na equação da constante  $K_{\text{eq}}$ , teremos:

$$1,8 \times 10^{-16} = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{55,5}$$

Ordenando, é obtido o produto de ionização da água:

$$[\text{H}^+][\text{OH}^-] = 1 \times 10^{-14} \text{ M}^2$$

Quando as concentrações de  $\text{H}^+$  e  $\text{OH}^-$  são iguais, como ocorre com a água neutra, a concentração de  $\text{H}^+$  é de  $1 \times 10^{-7}$  M. Se a concentração de  $\text{H}^+$  for alta, a concentração de  $\text{OH}^-$  diminui, e vice-versa. Dessa forma, o produto de ionização sempre será igual a  $1 \times 10^{-14}$ . No caso de uma solução de NaOH 0,1 N, sabendo-se que  $[\text{H}^+][\text{OH}^-] = 1 \times 10^{-14}$ , a concentração de  $[\text{H}^+]$  será:

$$[\text{H}^+] = 1 \times 10^{-14} / 1 \times 10^{-1}$$

$$[\text{H}^+] = 1 \times 10^{-13} \text{ M}$$

Para designar a concentração de  $\text{H}^+$  em termos mais práticos, é usada a escala de pH, para soluções entre 1,0 M de  $\text{H}^+$  e 1,0 M de  $\text{OH}^-$ . A escala de pH foi proposta pelo químico dinamarquês S.P.L. Sørensen com base na seguinte equação:

$$\text{pH} = \log \left[ \frac{1}{[\text{H}^+]} \right] \text{ ou } \text{pH} = -\log[\text{H}^+]$$

Os valores de concentração de  $\text{H}^+$  e  $\text{OH}^-$  derivados da ionização da água explicam porque a escala de pH vai de 0 a 14. Assim, o valor do pH para uma solução neutra é:

$$\text{pH} = \log [1/(1 \times 10^{-7})]$$

$$\text{pH} = \log (1 \times 10^7)$$

$$\text{pH} = \log 1 + 7 \log 10$$

$$\text{pH} = 7$$

e o pH de uma solução de HCl 1,0 M é:

$$\text{pH} = \log 1/1$$

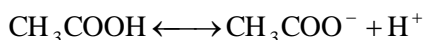
$$\text{pH} = \log 1$$

$$\text{pH} = 0$$

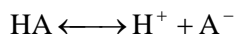
### ÁCIDOS E BASES

Conforme o conceito de Brønsted-Lowry, os ácidos podem ser definidos como aquelas substâncias que doam prótons ( $\text{H}^+$ ), enquanto que as bases são aquelas substân-

cias que aceitam prótons. Numa reação de doação de prótons (ionização), sempre há um par ácido-base conjugado, ou seja, para cada doador de prótons há sempre um receptor de prótons. A capacidade de doação dos prótons está determinada pelo grau de ionização do ácido em uma solução aquosa. A ionização é alta nos ácidos fortes, como HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HNO<sub>3</sub>, enquanto que a ionização é baixa nos ácidos fracos, como nos ácidos orgânicos acético, propiônico e láctico. Tomando, como exemplo, o ácido acético, a reação está composta pelo ácido doador de H<sup>+</sup> e pelo acetato, base conjugada receptora de H<sup>+</sup>, numa reação reversível:



A força de ionização ou dissociação de um ácido é expressada mediante a constante de dissociação (K<sub>a</sub>). Por exemplo, na reação geral:



a constante de dissociação é:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

Os ácidos fortes têm maior K<sub>a</sub> do que os ácidos fracos porque a sua força de dissociação é maior (maior o numerador). Outra forma de expressar a força de dissociação é mediante o pK<sub>a</sub>, o qual é definido pela equação:

$$\text{pK}_a = \log \frac{1}{K_a} \quad \text{ou} \quad \text{pK}_a = -\log K_a$$

A Tabela 1 mostra as constantes de dissociação e o valor do pK<sub>a</sub> de alguns ácidos de amplo uso em bioquímica. Quanto menor o valor do pK<sub>a</sub>, maior a força de ionização do ácido (maior K<sub>a</sub>) e, portanto, mais forte o ácido. Ao contrário, um maior valor de pK<sub>a</sub> (portanto menor valor de K<sub>a</sub>) é observado num ácido fraco. Existe uma relação entre o pK<sub>a</sub> e o pH, de forma que o valor pK<sub>a</sub> pode ser definido como aquele valor de pH no qual 50 % do ácido se encontra dissociado.

#### SOLUÇÕES TAMPÃO OU BUFFER

Se a um ácido fraco em solução aquosa for adicionada uma quantidade equivalente de base, como NaOH, o comportamento da solução em termos de pH determina a curva de

TABELA 1 - CONSTANTES DE DISSOCIAÇÃO (K<sub>a</sub>) E pK<sub>a</sub> DE ALGUNS ÁCIDOS E BASES A 25 °C

Ácido ou Base	K <sub>a</sub> (M)	pK <sub>a</sub>
Fosfórico (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	7,25 × 10 <sup>-3</sup>	2,14
Fórmico (HCOOH)	1,78 × 10 <sup>-4</sup>	3,75
Carbônico (H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	1,70 × 10 <sup>-4</sup>	3,77
Láctico (CH <sub>3</sub> CHOHCOOH)	1,38 × 10 <sup>-4</sup>	3,86
Acético (CH <sub>3</sub> COOH)	1,78 × 10 <sup>-5</sup>	4,76
Propiônico (CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH)	1,35 × 10 <sup>-5</sup>	4,87
Fosfato monobásico (H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	1,38 × 10 <sup>-7</sup>	6,86
Amônia (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	5,62 × 10 <sup>-10</sup>	9,25
Bicarbonato (HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	6,31 × 10 <sup>-11</sup>	10,20
Fosfato dibásico (HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	3,98 × 10 <sup>-13</sup>	12,40

titulação. À medida que aumenta o pH com a adição de OH<sup>-</sup>, o ácido passará por diferentes estados de ionização. Tomando como exemplo o ácido acético (Figura 2), ele passará desde CH<sub>3</sub>COOH, em pH ácido, até CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, em pH alcalino. Quando o pH for igual ao pK<sub>a</sub>, isto é, aquele pH no qual estão dissociados 50 % de CH<sub>3</sub>COOH (pH 4,76 neste caso), a relação ácido/base é igual a 1:

$$\frac{\text{CH}_3\text{COOH}}{\text{CH}_3\text{COO}^-} = 1$$

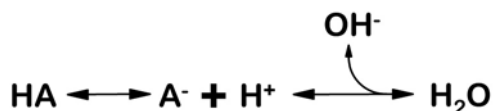
Perto do valor do pK<sub>a</sub> existe menor variação dos valores de pH, isto é, ocorre um efeito amortecedor ou tampão (*buffer*), embora estejam acontecendo mudanças na concentração de H<sup>+</sup> ou de OH<sup>-</sup>. Costuma-se atribuir o termo *buffer* a Sørensen. Entretanto, é provável que os primeiros a referir este conceito tenham sido os franceses A. Fernbach e L. Hubert, quem usaram o termo “tampon”, em 1900. Fernbach e Hubert usaram o termo para fazer analogia entre esse tipo de solução e o topo (tampon) do trem, dispositivo metálico montado sobre molas e colocado em pares na

frente e atrás dos vagões para amortecer os choques. Anos depois, Sørensen traduziu este termo ao alemão –*puffer*– e depois ao inglês –*buffer*– e, dado seu prestígio internacional, a difusão deste último ficou garantida.

Um sistema tampão está constituído por um ácido fraco (doador de prótons) e por sua base conjugada (receptor de prótons), em meio aquoso:



No sistema tampão, se ocorrer adição de OH<sup>-</sup>, e considerando a dissociação de HA, forma-se água. Da mesma forma, se ocorrer adição de H<sup>+</sup> ao meio, a base (A<sup>-</sup>) aceita os prótons para formar de novo HA:



Dessa forma, a adição de H<sup>+</sup> ou de OH<sup>-</sup> não afetará notoriamente o pH da solução, principalmente no intervalo onde a ação-tampão é mais eficiente, isto é, quando o pH = pK<sub>a</sub> ± 1.

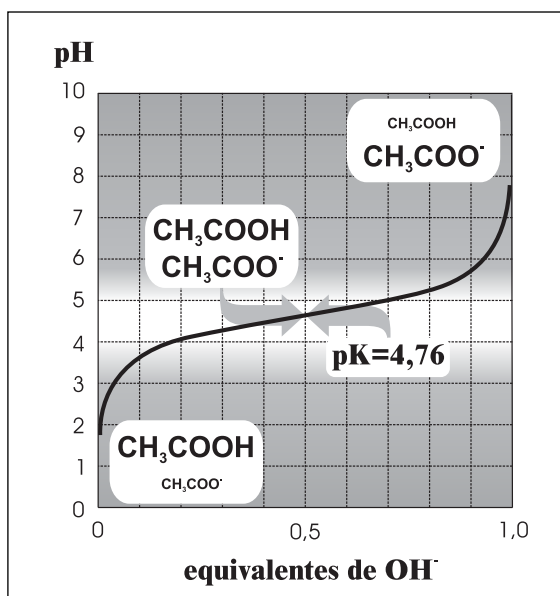


Figura 2 – Curva de titulação do ácido acético.



Uma forma adicional de relacionar o pH de uma solução que contenha um ácido fraco, conhecendo seu  $pK_a$ , é mediante a equação de Henderson-Hasselbalch, a qual expressa a constante de dissociação de outra forma. Partindo da equação da constante de dissociação:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

resolvendo  $[H^+]$ , teremos:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

aplicando o inverso em todos os termos:

$$\frac{1}{[H^+]} = \frac{1}{K_a} \times \frac{[A^-]}{[HA]}$$

aplicando logaritmos a todos os termos da equação:

$$\log \frac{1}{[H^+]} = \log \frac{1}{K_a} + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

substituindo os dois primeiros termos da equação por pH e  $pK_a$ , respectivamente, temos a equação de Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

A equação de Henderson-Hasselbalch pode ser expressada como:

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{receptor de } H^+]}{[\text{doador de } H^+]}$$

Considerando essa equação, fica claro que o  $pK_a$  corresponde, numericamente, ao pH no qual ocorrem 50 % de dissociação do ácido, ou seja, quando  $[HA] = [A^-]$ , uma vez que:

$$pH = pK_a + \log 1$$

$$pH = pK_a$$

A equação de Henderson-Hasselbalch também serve para calcular: (a) o  $pK_a$  de um ácido, conhecendo o pH e a relação molar ácido-base; (b) o pH de uma solução, conhecendo o  $pK_a$  do ácido e a relação molar; e (c) a relação molar, conhecendo o  $pK_a$  e o pH.

## SISTEMAS TAMPÃO NOS ORGANISMOS ANIMAIS

Os sistemas tampão reduzem as variações no pH de soluções nas quais ocorrem mudanças na concentração de ácidos ou de bases. No organismo animal, o pH do meio pode afetar a interação iônica entre as biomoléculas, devendo, portanto, ter mecanismos rigorosos de controle. De especial importância é a interação iônica que possam ter as proteínas, já que sua atividade pode ser afetada em função do pH, principalmente quando se trata da ação catalítica das enzimas, da ação biológica dos hormônios ou dos anticorpos. O pH também pode afetar o equilíbrio das reações de oxidorredução nas quais há transferência de H entre as coenzimas.

O pH do plasma arterial mantém valores estreitos entre 7,35 a 7,45, sendo que o pH compatível com a vida é de 6,8 a 7,8. O pH intracelular varia em função da célula. No eritrócito este valor é de 7,2, enquanto em outras células é 7,0. As células musculares constituem uma exceção, pois, sob exercício prolongado, o pH pode cair para 6,0, devido ao acúmulo de ácido láctico.

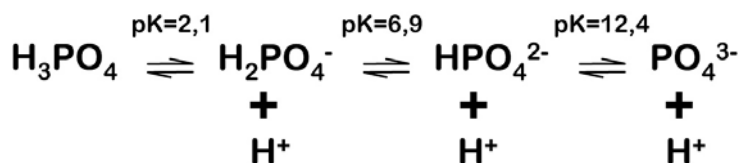
Os fluidos do organismo mantêm constante seu pH pela ação de vários tipos de controle. Primeiro, pelos sistemas tampão e, complementarmente, por eventos equilibradores em nível pulmonar, mediante a troca gasosa de  $O_2$  e  $CO_2$ , e em nível renal, através da excreção de  $H^+$  e reabsorção de  $HCO_3^-$ .

No fluido intracelular os tampões mais relevantes são o fosfato e as proteínas. A atividade tamponante destas últimas é consequência da

presença de grupos dissociáveis contidos em resíduos de aminoácidos ácidos (glutâmico, aspártico) e básicos (lisina, histidina). Também colaboram alguns nucleotídeos, como o ATP, que têm grupos fosfatos dissociáveis. Nos fluidos extracelulares, o sistema tampão mais importante é o bicarbonato (Tabela 2).

### O sistema tampão fosfato

Considere a equação de dissociação do ácido fosfórico:



Como pode ser observado, os valores de  $\text{pK}_a$  da primeira e da última reação de dissociação indicam que, por estarem distantes do pH normal, tanto o ácido fosfórico quanto o íon  $\text{PO}_4^{3-}$  não estão presentes em quantidades apreciáveis, nas condições fisiológicas. Assim, o sistema tampão fosfato opera com os fosfatos monobásico ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) e dibásico ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ), sendo o primeiro o ácido fraco, e o segundo, a base conjugada do tampão. Esse sistema tem um limite para sua capacidade tamponante, determinado pela exaustão de um dos componentes.

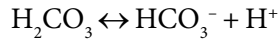
TABELA 2 - CONCENTRAÇÃO (mEq/L) DOS PRINCIPAIS COMPONENTES DOS FLUIDOS CORPORAIS

Componente	Plasma sanguíneo	Fluido intersticial	Fluido intracelular
Na <sup>+</sup>	152	143	14
Cl <sup>-</sup>	113	117	5
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	27	27	10
Ca <sup>2+</sup>	5	5	0,005
K <sup>+</sup>	5	4	157
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2	2	113
Proteína	16	2	74
Mg <sup>2+</sup>	3	3	26

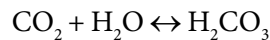
Sendo o  $pK_a$  deste sistema de 6,86, sua atividade tampão mais eficiente está localizada nos pHs entre 6,1 e 7,7, o que é adequado para o pH intracelular (7,0-7,4).

### O sistema tampão bicarbonato

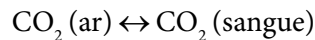
No espaço extracelular funciona como tampão o sistema ácido carbônico/bicarbonato, conforme a equação:



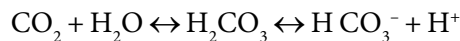
Este par ácido-base, de forma isolada (*in vitro*), tem um  $pK_a$  de 3,7, o que o faria pouco eficiente como tampão nas condições do pH do sangue. Entretanto, *in vivo*, este tampão tem como importante característica que um dos seus componentes, o ácido carbônico ( $H_2CO_3$ ), é formado a partir de  $CO_2$  e  $H_2O$ , numa reação reversível pela ação da enzima anidrase carbônica, a qual se encontra praticamente em todas as células do organismo:



O  $CO_2$  é um gás dissolvido no sangue que tem troca nos pulmões com o ar que está nos alvéolos:



A nova equação do sistema será, então:

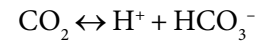


suprimindo o  $H_2CO_3$ , resulta na seguinte equação:



Essa equação é mais realista, já que o equilíbrio da reação  $CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3$  está mais inclinado para a esquerda, porque o valor da relação  $H_2CO_3/CO_2$  no sangue é de 1:200. A proporção normal de  $HCO_3^-/CO_2$  no sangue é de 20:1. Como a concentra-

ção de água no plasma é virtualmente constante, a reação e sua constante de equilíbrio ficariam assim:



A  $K_{eq}$  dessa equação corresponderá a:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{[CO_2]} = 7,95 \times 10^{-7}$$

Dessa forma, o valor do pK para o sistema bicarbonato é modificado para 6,1, tornando-se mais efetivo no pH de 7,4, valor que prevalece no plasma sanguíneo dos mamíferos. O valor de referência de  $HCO_3^-$  no plasma é de 20-24 mM, e o valor de referência de  $pCO_2$  é de 40 mmHg. A conversão da pressão do gás (em mmHg) para concentração do gás dissolvido (em mM) é feita pela multiplicação pelo fator 0,03. Assim:

$$pCO_2 \text{ (mmHg)} \times 0,03 = [CO_2] \text{ (mM)}$$

Mediante a equação de Henderson-Hasselbalch aplicada para o sistema  $HCO_3^-/CO_2$ , pode ser calculado o pH do sangue:

$$pH = 6,1 + \log \{ [HCO_3^-] / pCO_2 \}$$

$$pH = 6,1 + \log 24 - \log (0,03 \times 40)$$

$$pH = 6,1 + 1,38 - 0,079$$

$$pH = 7,4$$

Assim, no sistema tampão bicarbonato, podemos considerar como componente ácido o  $CO_2$ , o qual não é propriamente um ácido, mas um anídrido ácido, enquanto que o íon bicarbonato corresponde à base conjugada.

### Controle respiratório do tampão bicarbonato

Embora o sistema  $HCO_3^-/CO_2$  atue como tampão na faixa de pH entre 5,1 e 7,1, conforme é deduzido do seu  $pK_a$  (6,1), ele é efetivo numa faixa mais ampla devido à remoção do componente ácido ( $CO_2$ ) na respiração.

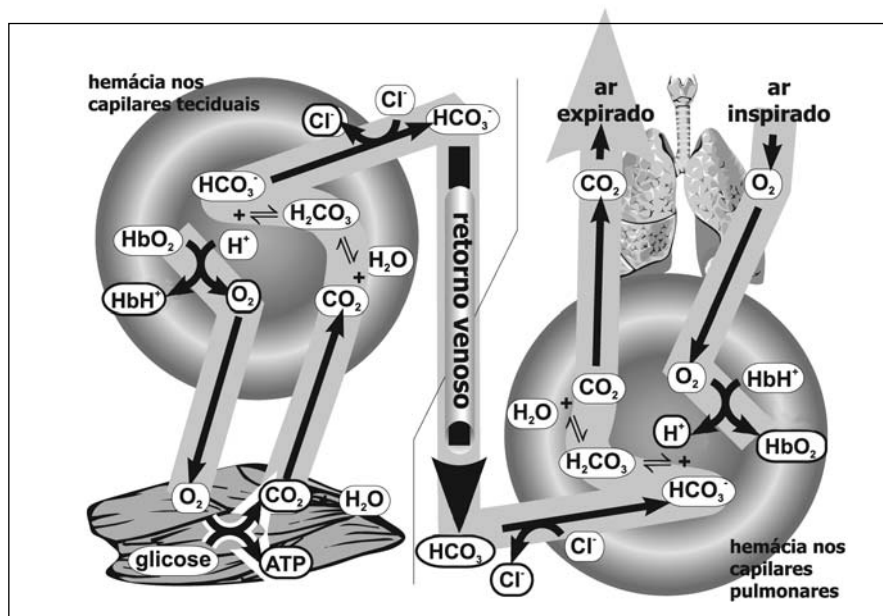
Em um sistema tampão típico ( $HA \leftrightarrow H^+ + A^-$ ), quando ocorre aumento de  $H^+$ , a reação é deslocada para a esquerda, aumentando a  $[HA]$  e diminuindo a  $[A^-]$ . Portanto, a relação  $[A^-]/[HA]$  diminui. Conforme a equação de Henderson-Hasselbalch, a diminuição nessa relação causa diminuição do pH (acidificação). No entanto, se a fração  $[HA]$  estiver sendo constantemente removida, a relação  $[A^-]/[HA]$  permanecerá estável, e o pH sofrerá menor alteração. É o que acontece no sistema  $HCO_3^-/CO_2$ , no qual o  $CO_2$  (equivalente à fração HA) é removido pela respiração. Portanto, a relação  $HCO_3^-/CO_2$  muda pouco e o pH é menos alterado. Esta remoção de uma fração do sistema significa que o sistema é aberto. A Figura 3 mostra uma representação esquemática da inter-relação entre o transporte de  $O_2$  e  $CO_2$  e o sistema tampão bicarbonato.

Quando ocorre adição de base ( $OH^-$ ), esta é neutralizada pelo ácido carbônico, o qual é convertido em bicarbonato. A concentração do bicarbonato é controlada pelo rim.

O sistema  $HCO_3^-/CO_2$  é complementado, ainda, por outros sistemas. No caso de um aumento de  $CO_2$  (acidose), o excesso de  $H^+$  produzido é removido pelo sistema das proteínas ou do fosfato. Nesse caso, o  $HCO_3^-$  aumenta mais do que o  $H^+$ , pois este último é removido, favorecendo o aumento de pH. Por outro lado, se ocorre uma diminuição de  $CO_2$ , a reação compensatória no sentido  $H^+ + HCO_3^- \rightarrow CO_2$  é favorecida pelo aumento de  $H^+$  fornecido com a dissociação dos grupos  $H^+$  proteínas e  $H^2PO_4^-$ .

O equilíbrio do sistema bicarbonato não depende somente da concentração de  $HCO_3^-$ , mas também da concentração de  $CO_2$ , a qual, por sua vez, determina a concentração de  $H_2CO_3$ .

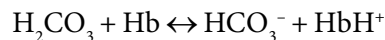
A concentração plasmática de  $CO_2$  depende da frequência e da intensidade da respiração, a qual é regulada pelo sistema nervoso central, no centro respiratório, e por outros centros dos grandes vasos (corpos aórticos e carotídeos). Esses centros são sen-



**Figura 3** – Inter-relação entre o transporte de  $O_2$  e  $CO_2$  e o sistema tampão bicarbonato. As rotas de transporte de  $CO_2$  e  $O_2$  estão indicadas pelas setas espessas.

síveis a variações no pH sanguíneo e na pressão parcial de CO<sub>2</sub> arterial (pCO<sub>2</sub>). Quando o pH tende a diminuir (acidose), é estimulada a respiração, diminuindo a pressão alveolar de CO<sub>2</sub> e, portanto, diminuindo a concentração de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> extracelular. Quando existe tendência à elevação do pH (alcalose), a frequência respiratória diminui, com o consequente aumento da pCO<sub>2</sub> alveolar e da concentração de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

Adicionalmente, o sistema bicarbonato aumenta sua eficiência em manter o pH constante no sangue devido à presença dos eritrócitos, já que o H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pode entrar neles e reagir com a hemoglobina (Hb), na seguinte reação:



Nos eritrócitos, a hemoglobina funciona como tampão em forma seis vezes mais efetiva que as outras proteínas, devido a sua alta concentração nessas células e a seus 38 resíduos de histidina. Para captar H<sup>+</sup>, a hemoglobina deve estar desoxigenada, forma na qual é encontrada nos capilares venosos que recebem o CO<sub>2</sub> proveniente dos tecidos.

#### Controle renal do tampão bicarbonato

Além dos controles mencionados, o pH extracelular também pode ser regulado via renal, mediante a excreção de íons H<sup>+</sup> e a reabsorção de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Esse evento pode ser realizado por três mecanismos inter-relacionados, nos quais estão envolvidos três compartimentos: o sangue, a célula tubular renal e a luz tubular. Os mecanismos incluem (a) reabsorção de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/excreção de H<sup>+</sup>, (b) excreção de ácido, e (c) excreção de amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>).

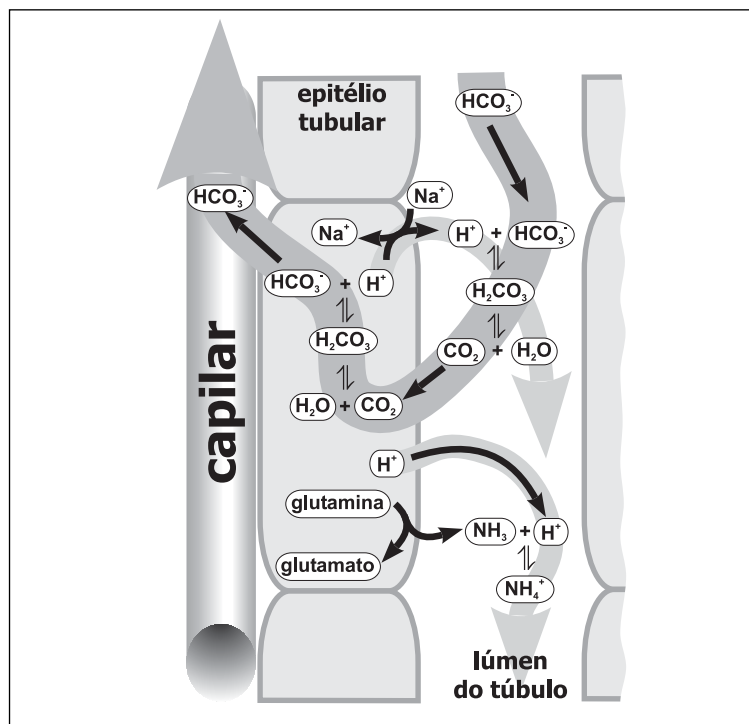
A reabsorção de bicarbonato envolve a formação de H<sup>+</sup> e HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> a partir de CO<sub>2</sub> e

H<sub>2</sub>O nas células tubulares, pela ação da anidrase carbônica. O H<sup>+</sup> é excretado na luz tubular, em parte de forma passiva por gradiente eletroquímico, e em parte de forma ativa na troca pelo íon Na<sup>+</sup> (sistema *antiport*), enquanto que o bicarbonato segue para o espaço intersticial e, posteriormente, para o sangue (Figura 4).

Substâncias com ação inibitória sobre a anidrase carbônica, como as sulfonamidas, reduzem a formação de CO<sub>2</sub>, a partir do H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, na luz tubular, bem como a formação do H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, a partir do CO<sub>2</sub>, no interior da célula tubular. Dessa forma, a reabsorção do íon bicarbonato fica comprometida, causando uma acidose de tipo metabólica, por perda de base.

O íon H<sup>+</sup> presente no fluido tubular pode reagir com: (a) o bicarbonato para formar H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, o qual é convertido em CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O (nesse caso ocorre reabsorção de CO<sub>2</sub>, ou seja, reabsorção de bicarbonato); (b) o HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> para formar H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, o qual é excretado como ácido titulável; ou (c) o NH<sub>3</sub>, o qual provém da desaminação da glutamina na célula tubular, para formar amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), composto que não é reabsorvido e é excretado pela urina.

Os carnívoros têm urina mais ácida (pH 6,0 a 7,0) do que os herbívoros (pH 7,0 a 8,5), em função da maior excreção de H<sup>+</sup> proveniente da maior quantidade de aminoácidos proteicos na dieta. A excreção de ácido titulável requer a reabsorção do cátion correspondente (Na<sup>+</sup>) para manter a neutralidade. Em casos de acidose, a concentração de Na<sup>+</sup> pode, contudo, estar diminuída devido à excreção de K<sup>+</sup>. No entanto, a excreção deste cátion é muito regulada e logo deve funcionar o mecanismo de excreção de amônio, para evitar uma hipocalcemia, o que acarretaria consequências fatais (falha cardíaca). Na alcalose, a reabsorção renal de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> está diminuída enquanto que a excreção de H<sup>+</sup> está aumentada.



**Figura 4** – Esquema geral da reabsorção de bicarbonato e excreção de  $H^+$  nos túbulos renais. A rota de reabsorção de bicarbonato e de excreção de  $H^+$  estão indicadas pelas setas espessas.

## Outros órgãos que interferem no equilíbrio acidobásico

### Fígado

Durante o exercício extenuante, a necessidade de produção de energia pelas células musculares é maior que o aporte de  $O_2$ , não permitindo que toda a glicose seja metabolizada no ciclo de Krebs.

Assim, pelo menos parte da energia necessária deverá ser produzida pela metabolização anaeróbica da glicose, com produção de lactato. Este excesso de lactato produzido nos músculos é transportado pelo sistema circulatório até o fígado, onde será utilizado

para síntese de glicose (gliconeogênese). A glicose resultante poderá, então, ser estocada sob forma de glicogênio hepático ou, caso a demanda energética requiera que a glicemia seja reposta, colocada novamente em circulação para ser captada pelo tecido muscular. Também no músculo, a glicose poderá ser utilizada para estocagem, sob forma de glicogênio ou metabolizada para suprir a demanda energética.

Esta interconversão cíclica de lactato em glicose é chamada de ciclo de Cori (Figura 5). Este ciclo foi identificado pelos bioquímicos tchecos, naturalizados estadunidenses Gerty Theresa Cori e seu esposo Carl Ferdinand Cori (ganhadores do prêmio Nobel de

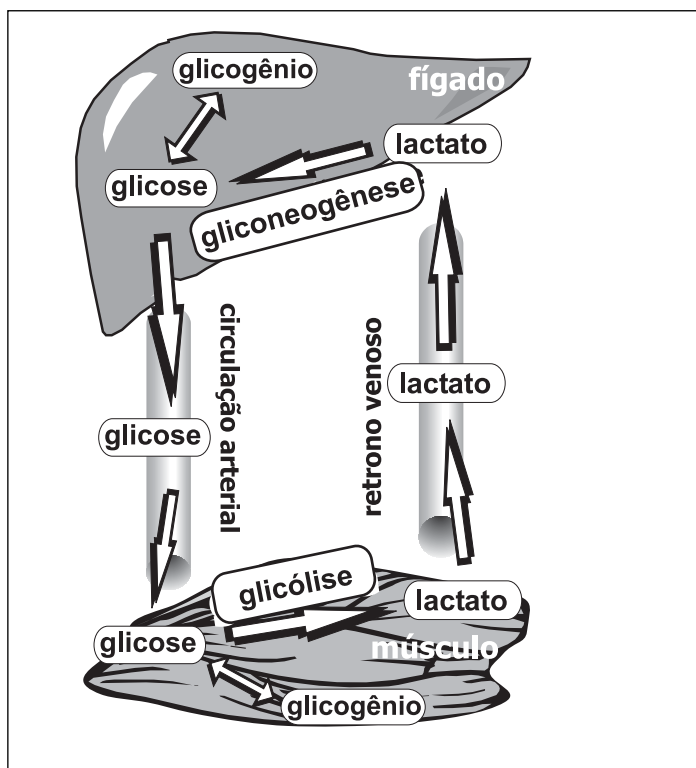


Figura 5 – Ciclo de Cori.

Fisiologia e Medicina em 1947). Dessa forma, o fígado é responsável por remover um ácido orgânico em circulação e convertê-lo numa substância neutra (glicose), reduzindo a acidificação sanguínea provocada pelo exercício.

Sob o ponto de vista fisiológico, é provável que o ciclo de Cori, assim descrito, somente ocorra em períodos de jejum, situação na qual o metabolismo hepático está direcionado para a gliconeogênese. Em condições normais, o lactato pode ser captado por diversos outros tecidos e metabolizado para produção de energia.

Em condições normais, o lactato também é produzido de forma maciça pelas hemácias, células que por não possuírem mitocôndrias são obrigadas a fazer glicólise anaeróbica. O lactato assim produzido pode ser captado

pelo fígado ou por diversos outros tecidos e metabolizado para produção de energia.

#### Estômago

O pH do suco gástrico normalmente é inferior a 2,0. O ácido clorídrico responsável por este pH extremamente ácido é secretado pelas células parietais da mucosa gástrica.

Num mecanismo de transporte ativo, íons  $H^+$  são bombeados para o interior da cavidade estomacal contra um gradiente de concentração de aproximadamente  $10^{-7}$  M, no interior da célula parietal, para  $10^{-0,4}$  M, no lúmen do estômago. A fonte imediata destes prótons  $H^+$  é o ácido carbônico, que, ao dissociar-se, gera também o íon bicarbonato, o qual será transportado para o fluido

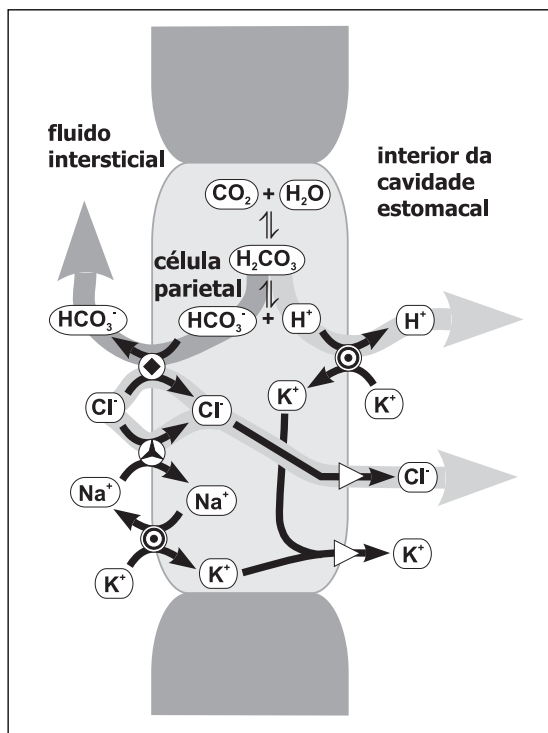
intersticial (e, posteriormente, para o sangue), com a concomitante entrada de um íon  $\text{Cl}^-$  na célula parietal. Um desenho esquemático dos eventos envolvidos na produção e secreção de ácido clorídrico na mucosa estomacal é apresentado na Figura 6. Neste modelo proposto, o ácido clorídrico não é secretado como tal, mas, sim, num processo onde os íons  $\text{H}^+$  e  $\text{Cl}^-$  são transportados por processos diferenciados para a cavidade do estômago. O  $\text{Cl}^-$ , que difunde passivamente do interior da célula parietal, é ativamente transportado do fluido intersticial para esta por dois mecanismos: troca pelo íon bicarbonato (sistema *antiport*) e entrada acoplada junto com o  $\text{Na}^+$ . O ácido carbônico (que irá gerar  $\text{H}^+$  e bicarbonato) é originado do  $\text{CO}_2$  e da água, numa reação catalisada pela anidrase carbônica. No processo de produção de suco gástrico ácido, há uma alcalinização associada do plasma sanguíneo (pelo bicar-

bonato), constituindo-se na chamada vaga alcalina que sucede às refeições.

### EQUILÍBRIO HÍDRICO

A capacidade dos animais para manter constante a composição dos fluidos intra e extracelulares é um grande avanço evolutivo, pois permite uma grande independência com relação às mudanças do meio. Os mecanismos de controle estão basicamente localizados nos rins, no sangue e nos pulmões, tendo como objetivo manter o volume, a composição iônica e o pH desses fluidos, para que possam ser realizadas as reações enzimáticas do metabolismo.

Aproximadamente 60-75 % do peso corporal é água. Do total de água, 2/3 estão localizados dentro das células constituindo o fluido intracelular. O fluido existente fora das células, ou seja, o fluido extracelular (restante



**Figura 6** – Produção de ácido clorídrico pelas células parietais do estômago. Os principais processos de transporte de íons através de membranas estão representados usando a seguinte convenção: (◆) sistema *antiport*, (▲) transporte acoplado, (⊙) transporte ativo e (▶) difusão. As setas espessas indicam as rotas de excreção de  $\text{H}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{Cl}^-$ .



1/3), está em vários subcompartimentos: 2/3 estão no fluido intersticial, que banha as células, e 1/3 constitui o plasma sanguíneo. A principal diferença entre o líquido intersticial e o plasma é que este último contém proteínas. No fluido extracelular também estão incluídos a linfa, o líquido cerebrospinal e o líquido transcelular, isto é, aquele contido no trato gastrointestinal.

A chamada *água metabólica* é uma das fontes de água e provém dos processos de oxidação. A oxidação total de 1g de gordura, carboidrato ou proteína, resulta na produção de 1,07, 0,06 ou 0,41g de água, respectivamente.

Como a água passa livremente através das membranas, o volume em cada compartimento está determinado pelos solutos que caracterizam cada espaço. No plasma são as proteínas e o  $\text{Cl}^-$ , no fluido extracelular é o sódio, e no espaço intracelular é o potássio (Tabela 2).

As mudanças no espaço extracelular afetam os outros compartimentos, e seu controle constitui a regulação homeostática. O controle é realizado basicamente sobre o volume e sobre a pressão osmótica do fluido extracelular, mediante a ação hormonal do sistema renina-angiotensina-aldosterona, como ponto primário, e da vasopressina (VP) ou hormônio antidiurético (ADH). Outros pontos de controle incluem sinais neurais, como, por exemplo, o centro da sede.

As mudanças no *volume efetivo circulante* (líquido extracelular no sistema vascular) produzem mudanças na pressão sanguínea e na osmolaridade do plasma. O controle da pressão osmótica do fluido extracelular, por sua vez, está determinado pela regulação do volume sanguíneo, ou seja, pela ingestão e pela excreção de água.

A ingestão de água está controlada pelos mecanismos da sede, que respondem a dois estímulos diferentes:

(a) Desidratação celular, cujos receptores neurais estão localizados nas áreas laterais pré-ópticas do cérebro e respondem a uma diminuição hídrica de 1-2 % nas células. Perdas de água maiores a 4 % do total corporal leva a sintomas de desidratação, enquanto que perdas de 10 a 20 % (dependendo da espécie) são fatais.

(b) Diminuição no volume extracelular detectado através de barorreceptores localizados nos grandes vasos sanguíneos. Estes últimos receptores também estimulam a liberação de renina e a produção de angiotensina II, a qual estimula diretamente o centro da sede. O sistema renina-angiotensina estimula a síntese e secreção de aldosterona no córtex adrenal. Este hormônio aumenta a taxa de reabsorção de  $\text{Na}^+$  nos túbulos renais, aumentando, portanto, o volume do fluido extracelular, e promovendo, também, a excreção de  $\text{K}^+$  e de  $\text{H}^+$  nos mesmos túbulos.

A excreção de água é regulada pela ação da vasopressina, cuja secreção na neuro-hipófise é estimulada por aumentos de 1-2 % na osmolaridade plasmática, através de osmorreceptores localizados na região supra-óptica do hipotálamo. No entanto, o volume do plasma está regulado de forma mais rígida pelo conteúdo de  $\text{Na}^+$ , mediante sua excreção e sua reabsorção em nível renal. O aumento no volume do fluido extracelular leva ao aumento da excreção renal de  $\text{Na}^+$ , provocando uma maior perda de água na urina para diminuir o volume extracelular. Os mecanismos que regulam a excreção de  $\text{Na}^+$  são a taxa de filtração glomerular e a taxa de reabsorção tubular controlada pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona, principalmente (Figura 7).

## O sistema renina-angiotensina

Este sistema tem um importante papel na manutenção do volume efetivo circulante.

A renina é uma enzima proteolítica produzida pelas células juxta-glomerulares das artérias aferentes dos glomérulos renais.

A secreção de renina pode ser estimulada por:

- (a) decréscimo na pressão arterial,
- (b) diminuição na concentração de sódio,
- (c) estímulo  $\beta$ -adrenérgico,
- (d) prostaglandinas,
- (e) hipovolemia.

Os eventos que inibem a secreção de renina são:

- (a) hipervolemia,
- (b) aumento da pressão arterial renal,
- (c) hipernatremia,
- (d) estímulos  $\alpha$ -adrenérgicos,
- (e) angiotensina II.

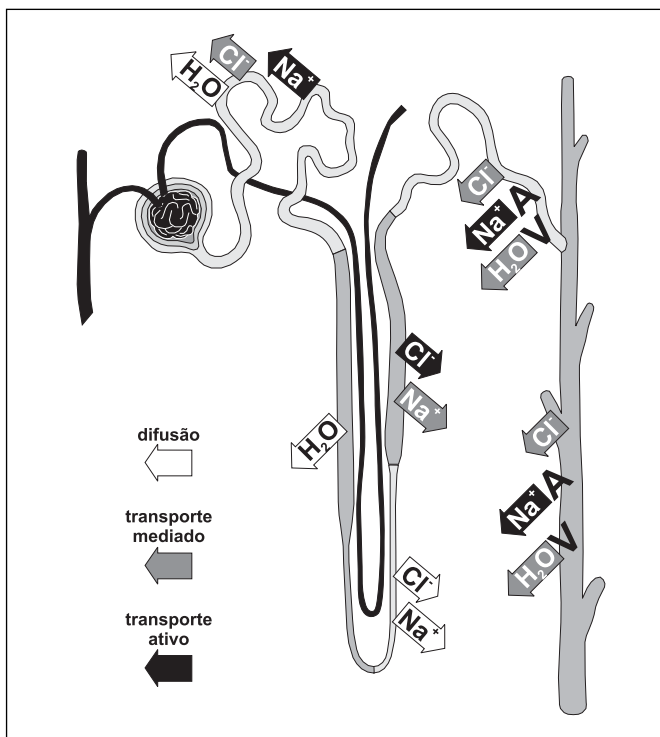
A renina converte o angiotensinogênio, proteína que circula no plasma sanguíneo, em angiotensina I, um decapeptídeo com limitação da ação biológica. A angiotensina I é convertida enzimaticamente no pulmão e nas células endoteliais dos vasos sanguíneos em angiotensina II, octapeptídeo biologicamente ativo.

A angiotensina II atua em vários níveis:

- (a) Estimulando a biossíntese de aldosterona no córtex adrenal.
- (b) Causando vasoconstrição e estimulando a liberação de catecolaminas, que também causam vasoconstrição e aumento da pressão arterial.
- (c) Induzindo sede para, mediante a ingestão de água, elevar o volume e a pressão sanguíneas.

A angiotensina II também é encontrada no cérebro, constituindo um possível neurotransmissor.

**Figura 7** – Principais processos de reabsorção de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{H}_2\text{O}$  no néfron. Os processos com interferência de aldosterona ou vasopressina estão indicados por um A ou V, respectivamente, junto da seta correspondente.



A aldosterona é produzida na zona glomerular do córtex adrenal por estímulo da angiotensina II, sendo o hormônio mais potente que atua na reabsorção do sódio no rim. A aldosterona também pode ser secretada por estímulo direto do aumento na concentração plasmática de  $K^+$ , obedecendo a pequenos aumentos (da ordem de 0,1 mEq/L).

O mecanismo de ação da aldosterona é mediante a indução da formação de proteínas que incrementam a permeabilidade da membrana apical (luminal) para o sódio, levando este íon da luz do túbulo para a célula do túbulo de forma passiva, e desta para o espaço intersticial por transporte ativo, através da bomba Na-K ATPase. A aldosterona estimula a síntese de várias enzimas mitocondriais, levando à formação do ATP necessário para que a bomba funcione.

### **Vasopressina (Hormônio Antidiurético)**

A vasopressina ou hormônio antidiurético (ADH) tem função importante na regulação da osmolalidade dos tecidos. Ela é sintetizada no hipotálamo e armazenada na neuro-hipófise. A secreção de ADH está relacionada com a concentração de sódio no plasma, pois este cátion é o determinante primário da osmolalidade plasmática. Um aumento da osmolalidade plasmática é detectado por sensores do hipotálamo, e a resposta é estimular tanto o centro da sede, para aumentar o consumo de água, como a secreção de ADH.

O ADH também é liberado quando diminui o volume efetivo circulante, porém o sistema renina-angiotensina exerce o controle primário sobre mudanças neste volume.

A vasopressina aumenta a reabsorção de água nos túbulos contorcidos distais e nos dutos coletores, utilizando o AMP cíclico (cAMP) como segundo mensageiro, o qual ativa proteína-quinases que atuam alterando

a permeabilidade das células tubulares (Figura 7). Quando a ingestão de água é pouca, o aumento na tonicidade dos fluidos corporais induz a secreção de vasopressina, e o rim elabora urina hipertônica (concentrada e em pouco volume). A perda de volume extracelular (como hemorragias) também estimula a secreção de vasopressina.

O ADH atua extrarrenalmente como vasoconstritor arterial, aumentando a pressão sanguínea. A ação do ADH permite manter a osmolalidade do plasma em intervalos normais relativamente restritos (270-300 mOsm/kg  $H_2O$ ).

### **EQUILÍBRIO ELETROLÍTICO**

O  $Na^+$  é o principal cátion extracelular, enquanto que o  $K^+$  e o  $Mg^{2+}$  são os principais cátions intracelulares. O  $Cl^-$  e o  $HCO_3^-$  são os ânions que predominam no espaço extracelular, ao passo que as proteínas e o  $HPO_4^{2-}$  são os principais ânions intracelulares (Tabela 2). O NaCl contribui principalmente para a pressão osmótica do plasma. O  $Ca^{2+}$ , o  $Mg^{2+}$ , as proteínas e os fosfatos contribuem para a pressão osmótica do fluido intracelular.

As concentrações de  $Na^+$  e  $K^+$  são mantidas pela bomba Na-K ATPase das membranas plasmáticas, a qual transporta de forma ativa o  $Na^+$  para o exterior das células e o  $K^+$  para o interior. A membrana plasmática tem uma permeabilidade muito limitada para os fosfatos orgânicos e para as proteínas.

O rim é o órgão mais importante na regulação do volume e da composição dos fluidos corporais. As unidades funcionais do rim, os néfrons, realizam três processos: (a) ultrafiltração, através dos capilares glomerulares; (b) reabsorção seletiva de fluidos e de solutos nos túbulos proximais, alça de Henle, túbulos distais e dutos coletores; e (c) secreção seletiva de solutos no lúmen dos túbulos proximal e distal.

O volume total do filtrado glomerular diário no humano é de 180 L, e a reabsorção é de 179 L, produzindo aproximadamente 1 litro de urina. Em torno de 75 % do  $\text{Na}^+$ , do  $\text{Cl}^-$  e da água do filtrado glomerular são reabsorvidos nos túbulos proximais. O restante é reabsorvido ao longo da alça de Henle, túbulos contorcidos distais e dutos coletores. A reabsorção de sódio nos túbulos é realizada por três mecanismos: (a) o sódio é transportado do lúmen para o interior da célula tubular devido ao gradiente químico presente, sendo logo enviado, de forma ativa, para o espaço intersticial, mediante a bomba Na-K ATPase, processo favorecido pela aldosterona; (b) troca de  $\text{Na}^+$  presente no líquido luminal do túbulo pelo  $\text{H}^+$  do interior da célula tubular, mediante um transportador de membrana *antiport*; e (c) ingresso do sódio impulsionado por íons  $\text{Cl}^-$ , os quais estão na luz do túbulo com gradiente favorável para que sejam transportados para a célula tubular. Os ânions ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) são reabsorvidos passivamente devido ao gradiente elétrico preestabelecido pela transferência de  $\text{Na}^+$ . A água passa também passivamente com o soluto ( $\text{Na}^+$ ). O ajuste restante é realizado pelos hormônios vasopressina e aldosterona (Figura 7).

A homeostase do  $\text{K}^+$ , o principal cátion intracelular, é regulada de forma diferente do  $\text{Na}^+$ . O mecanismo renal está mais orientado para a prevenção da hipercalemia (aumento da concentração plasmática de potássio), a qual pode gerar problemas cardíacos, e menos orientado para a prevenção da hipocalemia. O  $\text{K}^+$  é secretado no túbulo distal, embora 85 % a 90 % do  $\text{K}^+$  filtrado sejam reabsorvidos no túbulo proximal por mecanismos de transporte ativo. O processo de secreção é passivo, obedecendo a um gradiente, já que a luz tubular encontra-se eletronegativa devido à reabsorção ativa do  $\text{Na}^+$ . Também pode haver excreção ativa de  $\text{K}^+$  nos dutos coletores. A secreção tubular do  $\text{K}^+$  é regula-

da por (a) o  $\text{K}^+$  intracelular, (b) a aldosterona (por favorecer a reabsorção ativa de  $\text{Na}^+$ ), (c) a taxa de fluxo urinário (maior fluxo, maior excreção) e (d) o estado acidobásico, em que a alcalose provoca saída de prótons  $\text{H}^+$  e entrada de  $\text{K}^+$  nas células, levando a um aumento do  $\text{K}^+$  intracelular e uma diminuição do  $\text{K}^+$  plasmático (hipocalemia), ocorrendo maior excreção de  $\text{K}^+$  renal devido ao aumento deste íon nas células tubulares.

### Diferença aniônica (DA)

A diferença aniônica (DA) ou *anion gap* se refere à diferença entre o cátion mais importante ( $\text{Na}^+$ ) e os ânions mensuráveis ( $\text{Cl}^-$  e  $\text{HCO}_3^-$ ). Ao  $\text{Na}^+$  pode-se adicionar o  $\text{K}^+$ , embora este não acrescente mais do que 4 mmol/L:

$$DA = ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]) - ([\text{Cl}^-] + [\text{HCO}_3^-])$$

Na verdade, a DA dá uma idéia dos chamados ânions não-mensuráveis, quais sejam, as proteínas plasmáticas carregadas negativamente (albumina), ácidos orgânicos (lático e cetoácidos) e ácidos inorgânicos (sulfatos e fosfatos). A DA normal na maioria das espécies está por volta de 10-20 mmol/L.

A DA pode estar diminuída quando aumenta a concentração de  $\text{Cl}^-$ . Isso pode ocorrer na hiperclorêmia em acidose metabólica compensada, quando há diminuição de  $[\text{HCO}_3^-]$  com aumento de  $[\text{Cl}^-]$ , ou quando aumentam as proteínas com carga positiva (aumento de IgG no mieloma múltiplo).

Aumentos de DA são observados em acidose metabólica por ácidos orgânicos (cetose, aumento de lactato, diabetes) e em acidoses urêmicas ou em intoxicações (salicilato, paraldeído, metaldeído, metanol, etilenoglicol). Nesses casos, os ânions dos ácidos provocam a diminuição de  $[\text{Cl}^-]$  sanguíneo. Assim, numa acidose metabólica com alta DA, há

suspeita de acúmulo de ânions (ácidos), enquanto uma acidose com baixa DA pode estar relacionada com uma hiperclorêmia. Por outro lado, quando a mudança de DA não acompanha a mudança da concentração de bicarbonato, pode estar relacionada a um desequilíbrio acidobásico misto, no qual coexistem acidose e alcalose. Em distúrbios acidobásicos primários, o bicarbonato e a  $p\text{CO}_2$  desviam-se na mesma direção. Se esses dois parâmetros se desviarem em direções opostas, trata-se de uma alteração mista.

### Excesso de base (EB)

Geralmente os valores de pH e  $p\text{CO}_2$  não refletem os desequilíbrios acidobásicos primários, mas representam as respostas compensatórias. Assim, o excesso de base (EB) indica o desvio da base-tampão dos valores de referência. Base-tampão se refere à soma de todos os ânions no sangue, em condições-padrão.

O EB é interpretado como o desvio na concentração de referência do bicarbonato. Em um animal com acidose metabólica, o valor de EB indica a quantidade de bicarbonato requerida para corrigir o equilíbrio acidobásico.

Para calcular esse valor, pode ser usada a seguinte fórmula:

$$\text{EB (mEq/L)} = \text{PC (kg)} \times 0,3 \times [25 - \text{BP (mEq/L)}]$$

onde PC equivale ao peso corporal e BP corresponde à concentração plasmática de bicarbonato. A constante 0,3 representa o volume do espaço extracelular onde está localizado o bicarbonato (30 % do peso corporal). Assim, em um animal de 20 kg com concentração plasmática de bicarbonato de 15 mEq/L, o bicarbonato requerido para voltar ao normal será de:

$$20 \times 0,3 \times 10 = 60 \text{ mEq de } \text{HCO}_3^-$$

### Osmolalidade

A principal força que influi na distribuição de água nos espaços intra e extracelulares é a pressão osmótica, a qual depende dos solutos dissolvidos, principalmente eletrólitos, compostos orgânicos de baixo peso molecular (glicose, ureia, aminoácidos) e proteínas.

O papel das proteínas na distribuição (entrada e saída) de água é de especial importância nos capilares, uma vez que a concentração de eletrólitos e compostos de baixo peso molecular é praticamente a mesma entre o plasma e os fluidos tissulares, uma vez que ambos são espaços extracelulares.

O plasma tem uma pressão oncótica (pressão osmótica devida às proteínas) maior que a dos fluidos tissulares, o que resulta na mobilização de água para o interior do plasma. Essa força é contrária à pressão hidrostática do sangue, que tende a forçar a saída de líquidos para o espaço tissular. Assim, nos capilares arteriais, a pressão hidrostática é maior que a oncótica, ocasionando a saída de líquidos. Nos capilares venosos e linfáticos, a situação se inverte, pois a pressão hidrostática é menor do que a oncótica, e os líquidos entram nos capilares.

A albumina é a principal proteína que contribui com a pressão oncótica. Para que ocorra formação de edema, a concentração de albumina deve cair pelo menos em 50 %.

Como o  $\text{Na}^+$  é o principal cátion presente no plasma, e a concentração de cátions deve estar equilibrada com a dos ânions ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , proteínas, sulfato, fosfato), o total de eletrólitos pode ser calculado multiplicando a concentração de Na por 2. Assim, a osmolalidade (em mOsm/kg  $\text{H}_2\text{O}$ ) pode, então, ser calculada pela seguinte fórmula (onde todos os valores são fornecidos em mmol/L):

$$\text{Osmolalidade} = 2 \times [\text{Na}^+] + [\text{glicose}] + [\text{ureia}]$$

## ALTERAÇÕES DO EQUILÍBRIO HÍDRICO

### Desidratação

A desidratação é uma alteração do equilíbrio hídrico em que a perda de líquidos do organismo é maior que o líquido ingerido. A consequência é uma diminuição do volume sanguíneo circulante que leva a mudanças tisulares.

#### Etiologia

Existem duas causas principais de desidratação: por consumo insuficiente de água e por perda excessiva de líquidos, sendo esta última a mais comum. A perda de água pode ser devido a vômito, diarreia, sudoração excessiva, poliúria, hiperventilação, hemorragia, ingestão excessiva de carboidratos em ruminantes e patologias gastrointestinais (peritonite, obstrução). O baixo consumo deve levar em consideração a qualidade e a quantidade de água, especialmente em animais de alta produção.

Quando a perda de água ocorre sem perda ou com pouca perda de eletrólitos, como na respiração ofegante por estresse, por calor ou por exercício intenso, ou na restrição de água, a osmolaridade e a concentração de sódio tendem a aumentar. Nesse caso ocorre desidratação hipertônica, na qual a perda de água excede à perda de  $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ . As perdas de água são compartilhadas pelos espaços intra e extracelulares. Portanto, a hipernatremia (aumento da concentração plasmática de sódio) produzida pela perda de água é caracterizada por contração do volume intracelular e redução do volume das células.

Quando a perda de água vem acompanhada de perda de cátions ( $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ), o volume total diminui, ficando, no entanto, isotônicos os líquidos do organismo. Isso ocorre, por

exemplo, na sudoração excessiva em cavalos, em vômito, diarreia aguda, choque hipovolêmico, sequestro de fluidos no trato gastrintestinal, febre prolongada, queimaduras exudativas, ferimentos abertos e hemorragias.

Quando ocorre perda excessiva de  $\text{Na}^+$  com queda na osmolaridade de plasma, como na administração inapropriada de diuréticos ou na insuficiência adrenocortical para produzir aldosterona, há uma desidratação hipotônica.

#### Implicações metabólicas

A capacidade de sobreviver sem água é nula. Alguns animais podem manter um equilíbrio hídrico em circunstâncias adversas (camelo, carneiro Merino). Porém, essa capacidade não é ilimitada e depende da possibilidade de armazenamento de água no rúmen e nos espaços extracelulares, da possibilidade de ajustar as concentrações de eletrólitos e do funcionamento renal. Quando ocorre falha nos mecanismos reguladores do equilíbrio hídrico, a morte ocorre por acidose, desequilíbrio eletrolítico, toxemia e septicemia.

Na desidratação ocorre declínio na concentração de líquido nos tecidos com alteração do metabolismo tissular e diminuição do volume circulante. A resposta fisiológica inicial é a desapareição de líquido dos tecidos e a conservação do volume sanguíneo, mediante a extração de líquidos do espaço intersticial. Os órgãos essenciais (coração, tecido nervoso) aportam pouco líquido, ocorrendo mais perdas nos tecidos conectivo, muscular e cutâneo. A resposta secundária é a diminuição do conteúdo líquido do sangue (volume circulante), com aumento da concentração dos solutos plasmáticos, levando à viscosidade do sangue que afeta a dinâmica circulatória e aumenta a insuficiência circulatória periférica. Inicialmente o rim se encarrega de manter o equilí-

brio hídrico por diminuição da produção de urina, que fica mais concentrada. Esse mecanismo é controlado pela vasopressina (ADH) e pela aldosterona. Em nível de trato digestivo, diminui a umidade e o volume das fezes.

No metabolismo tisular, a desidratação ocasiona aumento do catabolismo de gordura, glicídeos e proteínas para produzir água metabólica. As condições anaeróbicas em função da diminuição do volume circulante, que causa pouca irrigação sanguínea, favorecem a apresentação de acidose (pelo aumento de lactato), enquanto a diminuição da filtração renal permite o acúmulo de ureia e creatinina (azotemia pré-renal). Também há leve hipertermia, pois não existe líquido suficiente para manter a dissipação do calor corporal.

#### Sinais clínicos

Os sinais clínicos da desidratação aparecem quando a perda representa mais de 8 % do peso corporal, o que em um bovino equivale a aproximadamente 40 litros de água. Em animais confinados e em clima cálido, é necessário manter água fresca para consumo suficiente, considerando que, em condições normais, um animal consome pelo menos 12 % do peso vivo em água e perde 62 % da água corporal em manutenção (sudoração) e 38 % na respiração, perda que aumenta em situação climática desfavorável (umidade e temperatura ambientais excessivas). Em pequenos animais, configura-se polidipsia um consumo de água superior a 100 mL/kg/dia, e uma poliúria, uma produção de urina maior do que 50 mL/kg/dia.

Os principais sinais clínicos de desidratação são ressecamento e perda de elasticidade da pele, pulso fraco, taquicardia, diminuição na produção de saliva, oligúria, afundamento do globo ocular, debilidade muscular, perda de apetite, convulsões, he-

moconcentração, queda da produção de leite, perda marcada de peso, perda da função renal, uremia e morte.

Considera-se uma desidratação leve até 6 % de perda de líquidos; moderada, 6 a 8 %; severa, 10 a 12 %; e choque, mais de 15 % de perda de água corporal (Quadro 1). Uma forma de avaliação laboratorial do grau de desidratação é através do hematócrito e da concentração de hemoglobina e de proteínas totais no plasma (principalmente a albumina), as quais aumentam proporcionalmente o nível de desidratação. A ureia também se encontra elevada na desidratação (Tabela 3).

A diarreia é uma frequente manifestação clínica em múltiplas doenças, a qual afeta de forma dramática animais jovens, prejudicando o equilíbrio hidroeletrolítico e acidobásico. Na diarreia, existe perda de líquidos, o que causa desidratação, perda de bicarbonato de sódio, que leva à acidose metabólica, perda de eletrólitos (Na, K, Cl) e alterações no metabolismo energético, principalmente levando a hipoglicemia. As principais manifestações clínicas da diarreia envolvem anorexia, hematócrito elevado, acidose metabólica, hiponatremia, hipocalemia, hipoglicemia, oligúria e azotemia (Quadro 1).

#### Tratamento

No tratamento, deve considerar-se a composição, quantidade e via das perdas de líquidos para repor e para eleger a rota de administração mais adequada. O volume a ser aplicado deve assegurar a restauração do líquido perdido, mais o necessário para retomar as funções normais, e o equilíbrio acidobásico. Na medida do possível, a via de reidratação deve ser oral, e o ritmo de hidratação deve inicialmente calcular-se para 24 horas, a fim de permitir a compensação intracelular e evitar um possível edema pulmonar. No Quadro 2 estão relacionadas as principais in-

QUADRO 1 - SINAIS CLÍNICO-LABORATORIAIS DA DESIDRATAÇÃO EM BOVINOS

Sinais clínicos	Grau da desidratação		
	<i>Leve</i>	<i>Moderada</i>	<i>Severa</i>
Afundamento dos olhos (mm)	1-2	2-4	>4
Tempo de preenchimento capilar (s)	1 - 2	3-5	>5
Mucosas	úmidas, quentes	anêmicas, quentes	secas, frias
Reflexo de sucção (lactantes)	+	-	-
Estado físico	normal	prostrado	extremidades frias, coma
Temperatura	normal	normal	hipotermia
Perda de peso corporal (%)	4-6	6-8	>8
pH sanguíneo	7,3	7,25	<7,15
Excesso de base (mmol/L)	-5,0	-10,0	<-15,0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/L)	20	15	<10
Hematócrito (%)	40	45	>50

Fonte: Bouda et al. (1997).

TABELA 3 - VALORES LABORATORIAIS ANTES E DEPOIS DE REIDRATAÇÃO ORAL EM BEZERROS COM DIARREIA

Parâmetro	Antes da reidratação (n= 29)	Depois da reidratação (n= 27)
pH	7,284	7,366
Excesso de base (mmol/L)	-5,86	+0,3
HCO <sub>3</sub> (mmol/L)	18,9	24,6
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	39,3	43,2
Hematócrito (%)	38,9	32,0
Ureia (mg/dL)	55,5	27,2
Glicose (mg/dL)	65,2	81,6
Proteína total (g/L)	62,1	59,0
Cálcio (mmol/L)	2,82	2,58
Cloro (mmol/L)	102,7	99,5
Potássio (mmol/L)	5,23	4,47
Sódio (mmol/L)	132,6	138,1

Fonte: Bouda et al. (1997).



dicações terapêuticas em casos de alterações hidroeletrólíticas para pequenos animais.

Um protocolo sugerido em caso de desidratação leve por diarreia em bezerros pode incluir reidratação oral, administrando bicarbonato, sais e glicose. Uma fórmula básica pode incluir NaHCO<sub>3</sub> (36 g), NaCl (38 g), KCl (10 g) e glicose (200 g) em 2 L de água para administrar três vezes ao dia. Recomenda-se não administrar leite e aplicar a reidratação oral por dois dias, no mínimo.

Para desidratação moderada e severa em bezerros, recomenda-se usar soluções intravenosas isotônicas de NaCl (18 g), NaHCO<sub>3</sub> (17 g) KCl (2,2 g) e glicose 10 % para 4 L de água. O primeiro litro da solução deve administrar-se via IV durante 20 a 30 minutos, e os seguintes três litros, durante as seguintes duas horas. Depois pode continuar-se com reidratação oral com 6 L por dia, divididos em três doses, a cada 24 h por 36 a 48 h.

Na Tabela 3 mostram-se valores bioquímicos no plasma antes e depois de uma terapia de reidratação.

### **Sobrehidratação**

A sobrehidratação é rara nos animais, mas pode ocorrer iatrogenicamente quando é administrado excesso de fluidos em pacientes com função renal comprometida. Nesse caso, a retenção de sódio é o problema primário, enquanto o excesso de fluidos (numa tentativa de diluir os eletrólitos) é secundário. A hiponatremia (redução da concentração plasmática de sódio) e a hiposmolalidade subsequentes levam à expansão do espaço extracelular com aumento de volume celular, aumento do volume plasmático e do espaço extracelular. Com isso, ocorre sobrecarga cardiovascular que pode levar à formação de edema pulmonar e generalizado. Em geral, o animal compensa a sobrehidratação com aumento da

excreção renal de água. A sobrehidratação também pode levar a hemólise por alteração da osmolaridade do plasma.

### **Poliúria e polidipsia**

A síndrome poliúria/polidipsia se observa frequentemente associada a uma gama de distúrbios hormonais ou não-hormonais. Define-se poliúria como um volume exagerado de urina por dia, ao passo que polidipsia é definida como uma ingestão excessiva de água por dia. O consumo de água diário de cães e gatos normalmente varia entre 20 e 90 mL/kg/dia, considerando a ocorrência de polidipsia quando a quantidade ingerida de água diária for superior a 90-100 mL/kg/dia em cães ou for superior a 45 mL/kg/dia em gatos. Uma densidade urinária menor ou igual a 1.015 sugere a ocorrência de poliúria, definida classicamente por uma diurese superior a 50 mL/kg/dia tanto para cães quanto para gatos. O volume urinário normal para ambas as espécies fica entre 20-45 mL/kg/dia.

### **Etiologia**

Na maioria dos casos, existe uma doença de base que provoca poliúria por mecanismos distintos e polidipsia compensatória. Contudo, algumas condições clínicas estão associadas a polidipsia primária e poliúria compensatória. As principais causas de poliúria/polidipsia estão listadas no Quadro 3.

Em geral a ocorrência de polidipsia psicogênica está associada a uma alteração comportamental, muitas vezes para chamar atenção do proprietário (especialmente cães), e comumente animais com esse tipo de distúrbio vivem em ambientes restritos. Contudo, pode haver distúrbios idiopáticos no centro da sede causando uma ingestão excessiva de água. De qualquer forma, nesses casos ocor-

QUADRO 2 – ALTERAÇÕES HIDROELETROLÍTICAS E INDICAÇÕES TERAPÊUTICAS

<b>Alteração</b>	<b>Perda hidroeletrolítica</b>	<b>Alteração metabólica</b>	<b>Alternativas de terapia</b>
estresse, exercício intenso, febre	água	desidratação hipotônica	solução de glicose 5 %; solução hipotônica (NaCl 0,45 %)
anorexia	K <sup>+</sup>	desidratação isotônica, acidose metabólica	solução isotônica Ringer-lactato + KCl + glicose
vômito	água, K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , H <sup>+</sup>	desidratação iso ou hipertônica, alcalose metabólica	solução isotônica Ringer-lactato; solução hipotônica (NaCl 0,45 %)
vômito crônico	água, K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , H <sup>+</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	desidratação isotônica, acidose metabólica	solução isotônica Ringer-lactato
diarreia	água, K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	desidratação iso ou hipertônica, acidose metabólica	solução isotônica Ringer-lactato; solução isotônica NaCl 0,9 % + bicarbonato
diarreia crônica	água, K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	desidratação isotônica, acidose metabólica	solução isotônica NaCl 0,9 % + bicarbonato
obstrução intestinal	água, Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	acidose metabólica	solução isotônica Ringer-lactato
hiperadrenocorticismo	água, K <sup>+</sup>	desidratação isotônica, alcalose metabólica leve	solução isotônica NaCl 0,9 %; solução isotônica Ringer-lactato + KCl
hipoadrenocorticismo	água, Na <sup>+</sup> , retenção de K <sup>+</sup>	acidose metabólica, hipercalemia	solução isotônica NaCl 0,9 %; solução isotônica Ringer-lactato
insuficiência renal aguda oligúrica	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , retenção de K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup>	desidratação iso ou hipertônica, acidose metabólica	diurético (glicose 20 %, manitol, furosemida, dopamina); solução hipotônica NaCl 0,45 % + bicarbonato
insuficiência renal aguda poliúrica	água, K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	acidose metabólica	solução isotônica Ringer-lactato
insuficiência renal crônica	água, K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	desidratação iso ou hipertônica, acidose metabólica, hiponatremia	solução isotônica NaCl 0,9 % + bicarbonato + KCl
insuficiência hepática	K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , HPO <sub>4</sub> <sup>=4</sup>	hiponatremia, hipocalemia, hipofosfatemia, acidose metabólica	solução isotônica NaCl 0,9 % + glicose + bicarbonato + KCl; fosfato, proteína
insuficiência cardíaca	retenção de água e Na <sup>+</sup>	acidose metabólica	solução de glicose 5 % evitar Na
obstrução uretral	Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , retenção de K <sup>+</sup>	desidratação iso ou hipertônica, acidose metabólica	solução isotônica NaCl 0,9 %
diabetes mellitus tipo I	água, K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	acidose metabólica	solução isotônica NaCl 0,9 % + KCl + fosfato; solução hipotônica 0,45 % se osmolaridade plasma > 350 mOsm/L; bicarbonato se concentração plasma < 13 mEq/L
diabetes mellitus tipo II	K <sup>+</sup>	hiperglicemia, hiperosmolaridade, acidose metabólica, desidratação hipertônica	solução isotônica 0,9 % + KCl; solução hipotônica 0,45 % quando densidade urinária estiver normal

Fonte: Montiani e Pachaly (2000).

QUADRO 3 – PRINCIPAIS CAUSAS DE POLIDIPSIA PRIMÁRIA COM POLIÚRIA SECUNDÁRIA  
E DAS PRINCIPAIS CAUSAS DE POLIÚRIA PRIMÁRIA COM POLIDIPSIA SECUNDÁRIA.

<b>Causas de polidipsia primária</b>	<b>Causas de poliúria primária</b>
Polidipsia psicogênica (compulsão por beber água)	Diabetes insípida central (falta de ADH)
Diabetes insípida dipsinogênica (distúrbio do centro da sede)	Diabetes insípida nefrogênica primária (congenita ou familiar)
Transtornos metabólicos (hipertireoidismo, insuficiência hepática)	Diabetes insípida nefrogênica secundária (acromegalia, insuficiência renal crônica, drogas, doenças hepáticas, hiperadrenocorticism, hipercalcemia, hipertireoidismo, hipoadrenocorticism, hipocalcemia, diurese pós-obstrutiva, pielonefrite, piometra)
	Diurese osmótica (diabetes mellitus, glicosúria renal primária, diurese pós-obstrutiva, falência renal, hipoadrenocorticism – natriurese, uso de diuréticos, dietas pobres em proteínas)

re uma supressão da secreção do ADH em decorrência da ingestão excessiva de água. Essa incapacidade pode estar associada a alterações congênitas ou a lesões adjacentes aos neurônios secretores do hormônio.

A diabetes insípida nefrogênica primária refere-se a uma condição rara na qual os túbulos renais são irresponsivos ao ADH, apesar de esse ser secretado de forma normal. Essa alteração pode ser funcional ou estrutural, ocorrendo uma insensibilidade do néfron aos efeitos antidiuréticos do ADH.

A forma mais comum de poliúria primária observada na clínica é o que pode ser chamado de diabetes insípida secundária ou adquirida. Nessa situação, uma desordem renal, metabólica ou hormonal promove uma insensibilidade renal ao ADH. Essa insensibilidade geralmente é reversível se a causa do problema for identificada e tratada (por exemplo, piometra, pielonefrite). A ocorrência de poliúria e polidipsia pode agravar ainda mais o problema por causar a perda excessiva de solutos do interstício renal (sódio, ureia). A taxa de fluxo aumentada

nos túbulos renais reduz a absorção desses solutos, provocando uma menor concentração deles na medula renal (*washout* medular). O resultado final é uma diminuição na força osmótica para absorção do líquido tubular, resultando em mais poliúria.

Condições como a diabetes mellitus, síndrome de Fanconi (glicosúria renal primária) ou períodos pós-obstrutivos, nos quais uma grande quantidade de solutos está presente na luz tubular, resultam em diurese osmótica, uma vez que esses solutos impedem a reabsorção adequada de água. Da mesma forma, no hipoadrenocorticism ocorre uma deficiência da secreção da aldosterona, resultando numa reabsorção de sódio inadequada com consequente aumento na carga de sódio no fluído tubular (natriurese). Esta maior carga de sódio no túbulo distal promove um efeito osmótico, inibindo a reabsorção de água com consequente diurese osmótica.

Muitas vezes fica fácil identificar o problema quando a doença que está causando poliúria/polidipsia apresenta uma manifes-

tação clássica. Por exemplo, uma fêmea em diestro com secreção vaginal purulenta e abdômen dolorido e distendido (piometra), um cão de meia-idade a idoso com rarefação pilosa bilateral e abdômen pendular (hiperadrenocorticismo), um felino com queixa de emagrecimento, agitação e tireoides palpáveis (hipertireoidismo) ou um paciente com poliúria/polidipsia, polifagia, perda de peso e surgimento abrupto de cataratas bilaterais (diabetes mellitus). A presença de andar plantígrado em um gato com poliúria e polidipsia é extremamente sugestivo de diabetes mellitus. Os linfonodos do paciente devem ser avaliados em busca de linfadenopatia, que pode indicar linfoma com hipercalcemia secundária. A presença de um tumor perianal (adenocarcinoma de saco anal) também pode estar associado a hipercalcemia, com poliúria/polidipsia concomitante. Contudo, animais com diabetes insípida ou polidipsia psicogênica apresentam-se alertas e ativos, não costumando apresentar alterações no exame clínico. Nem mesmo desidratação é visível nesses pacientes, uma vez que eles só desenvolverão esse sinal se tiverem restrição de água.

#### Exames laboratoriais em casos de poliúria

A urinálise é o exame mais simples e importante a ser solicitado ante a queixa de poliúria/polidipsia. A hipostenúria (densidade específica da urina menor que 1.008), isostenúria (entre 1.008 e 1.012) ou uma densidade inferior a 1.025 devem estar obrigatoriamente presentes. A avaliação da densidade específica da urina é importante, porque permite uma boa diferenciação entre causas para o problema. Por exemplo, a hipostenúria persistente geralmente afasta a possibilidade de insuficiência renal, uma vez que demonstra que os rins ainda são capazes de reabsorver solutos, diluindo ainda mais o filtrado glomerular. A hipostenúria persistente está as-

sociada à polidipsia psicogênica, diabetes insípida central total ou hipertireoidismo em gatos. Ocasionalmente pacientes com hiperadrenocorticismo podem apresentar hipostenúria. Uma densidade específica da urina entre 1.008 e 1.029 está associada com formas de diabetes insípida nefrogênica, embora ocasionalmente casos de polidipsia psicogênica e deficiência parcial na secreção de ADH possam resultar em densidade específica nessa faixa. Pacientes com diabetes mellitus devem obrigatoriamente apresentar glicosúria, o que costuma causar densidade superior a 1.035. Uma densidade específica da urina superior a 1.030, sem glicosúria, descarta a existência de poliúria.

No exame químico da urina, a presença de proteinúria pode indicar desde processos patológicos glomerulares até infecção do trato urinário inferior, mas a avaliação do sedimento urinário é útil nesta avaliação. Por exemplo, a bacteriúria, assim como a piúria, podem indicar pielonefrite, embora diversas doenças que cursam com poliúria/polidipsia predisponham o paciente a infecções do trato urinário sem existência de pielonefrite. É indicada a realização de cultura e antibiograma de amostras de urina com baixa densidade específica da urina, uma vez que o sedimento urinário pode estar diluído no grande volume urinário. Da mesma forma a presença de cilindros hialinos, celulares, granulados ou céreos pode fornecer boas pistas de processos patológicos do trato urinário associadas à poliúria/polidipsia.

O hemograma pode indicar desidratação, pelo aumento do hematócrito, infecções ou anemia (hipoadrenocorticismo, insuficiência renal crônica, neoplasias). Cães com síndrome de Cushing ou gatos com hipertireoidismo tendem a apresentar hemograma de estresse (neutrofilia com eosinopenia e linfopenia). Um perfil bioquímico completo adicional permite uma melhor avaliação do paciente, permitin-

do, na maioria das vezes, firmar um diagnóstico presuntivo. O Quadro 4 apresenta as principais causas de anormalidades bioquímicas observadas em cães com poliúria/polidipsia.

A avaliação da natremia é interessante por auxiliar na investigação de polidipsia primária e de poliúria primária. Animais com polidipsia psicogênica ingerem volumes excessivos de água e acabam diluindo o meio extracelular que se torna hiposomótico, resultando em hiponatremia. Animais que apresentam distúrbios associados a maior perda renal de água, tendem a apresentar diferentes graus de desidratação, concentrando o meio extracelular que se torna hiperosmótico com consequente hipernatremia.

#### Tratamento

O tratamento da polidipsia primária (psicogênica) pode ser realizado através de mudanças ambientais e comportamentais, como aumentar a rotina de exercícios, manter o animal em um ambiente mais espaçoso, aumentar o contato do animal com pessoas, bem como introduzir um novo animal para fazer companhia. Essas medidas podem ter êxito, uma vez que a maioria dos cães com polidipsia primária são cães sedentários que vivem em ambientes pequenos e isolados. A redução gradual da ingestão de água do animal para valores de referência (< 100 mL/kg/dia) pode ser forçada ao longo de 2-4 meses oferecendo-se uma quantidade fixa de água para o cão suficiente para atender sua necessidade diária (60-80 mL/kg/dia) e dividida em várias pequenas porções. Em longo prazo, esse procedimento pode quebrar o ciclo de polidipsia e poliúria, e restabelecer espontaneamente a ingestão de volumes adequados de água.

## Diabetes insípida

O termo diabetes é originário do grego (*diabaino* = passar através) e foi usado pela primeira vez por Areteio di Capadoccia, no século II para designar pacientes portadores de um mal associado a poliúria e polidipsia e emagrecimento progressivo, que acometia pessoas jovens que morriam muito cedo ou pessoas idosas e obesas. Esse mal relatado por Areteio referia-se à diabetes mellitus, porém o termo latino *mellitus* (mel, doce) só foi adicionado ao nome da doença no século XVIII com objetivo de distingui-la da diabetes insípida (sem cheiro, sem gosto), uma vez que os pacientes com diabetes mellitus apresentavam urina adocicada que atraía moscas e outros insetos.

A diabetes insípida refere-se a uma condição patológica associada a intensa poliúria e polidipsia decorrente da deficiência na produção de hormônio antidiurético (ADH) (diabetes insípida central) ou decorrente da reduzida sensibilidade renal ao ADH (diabetes insípida nefrogênica).

ADH é um neuropeptídeo formado por 9 aminoácidos (Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>), sendo secretado pelos neurônios hipotalâmicos dos núcleos supra-óptico e paraventricular, perante situações de aumento na osmolaridade plasmática ou redução no volume sanguíneo. Em circulação, o ADH apresenta uma meia-vida extremamente curta (1 a 3 minutos) e pode atuar sobre diferentes tipos de receptores. O alvo do ADH com relação ao controle hídrico são os receptores V2 localizados nas paredes basal e lateral das células que formam o néfron distal. Uma vez ativados, esses receptores estimulam a maior absorção de água pela formação de

QUADRO 4 – PRINCIPAIS ANORMALIDADES BIOQUÍMICAS OBSERVADAS FRENTE A DIFERENTES CAUSAS DE POLIÚRIA/POLIDIPSIA EM PEQUENOS ANIMAIS.

<b>Anormalidades na bioquímica sanguínea</b>	<b>Causas que cursam com poliúria/polidipsia</b>
Azotemia pré-renal	Hipoadrenocorticismo
Azotemia renal	Insuficiência renal, hipercalcemia
Baixa concentração de ureia	Diabetes insípida central, insuficiência hepática
Aumentos na atividade das enzimas ALT e FA	Doenças hepáticas, insuficiência hepática, hiperadrenocorticismo, hipoadrenocorticismo, diabetes mellitus, uso de fenobarbital
Hiperglicemia	Diabetes mellitus, hiperadrenocorticismo, uso de glicocorticoides
Hipercalcemia	Hipercalcemia maligna, linfoma, adenocarcinoma de sacos anais, hipoadrenocorticismo, insuficiência renal, hiperparatireodismo primário
Hiperlipidemia	Diabetes mellitus, hiperadrenocorticismo
Hipocalemia	Diabetes mellitus, hiperaldosteronismo, insuficiência renal, perdas gastrintestinais
Hipercalemia	Hipoadrenocorticismo, insuficiência renal crônica
Hiponatremia	Hipoadrenocorticismo, polidipsia primária, insuficiência renal
Hipernatremia	Diabetes insípida central ou nefrogênica primária ou secundária

canais de água (aquaporinas) para passagem de água da luz tubular para o interstício renal hiperosmótico. O ADH apresenta distintas funções, porém a sua deficiência acarreta drásticas consequências em face da sua ação sobre os receptores V<sub>2</sub>, uma vez que outros estímulos e hormônios são capazes de controlar o tônus dos vasos e a secreção do ADH.

#### Etiologia

A diabetes insípida central (DIC) é uma desordem extremamente rara, estando associada à incapacidade total ou parcial da neuro-hipófise em secretar ADH em face de es-

tímulos como aumento da osmolaridade ou redução do volume circulante/pressão arterial. Essa incapacidade pode estar associada a alterações congênitas ou a lesões/traumatismos adjacentes aos neurônios secretores do hormônio. Contudo, na maior parte das vezes, a origem do problema é idiopática. A DIC também é frequentemente associada a neoplasias hipofisiárias (macroadenomas ou tumores com mais de 1 cm de diâmetro) ou outras neoplasias intracranianas em animais idosos. A ocorrência de DIC é uma complicação observada após hipofisectomia (cirurgia para retirada de tumores hipofisários). No caso de uma deficiência parcial na produção do ADH, uma deficiente concentração

da urina será observada, porém com menor volume urinário e polidipsia do que é observada perante o DIC total.

A diabetes insípida nefrogênica primária (DINP) refere-se a uma condição rara em que os túbulos renais são irresponsivos ao ADH, apesar de este ser secretado de forma normal. Essa alteração pode ser funcional ou estrutural, contudo ocorre uma insensibilidade do néfron aos efeitos antidiuréticos do ADH. Esse tipo de patologia é congênita e pode estar associada desde a ausência de receptores de ADH, presença de receptores de ADH defeituosos, falha na ativação dos mensageiros intracelulares pós-ativação do receptor V2, até falha nos mecanismos de translocação das aquaporinas para a membrana intracelular.

#### Diagnóstico da diabetes insípida

A principal razão da consulta de um cão com DI é a incontável poliúria e polidipsia. A sede desses pacientes é insaciável e os volumes de ingestão de água e produção de urina são excessivamente elevados. Queixas dos proprietários com relação a noctúria e incontinência urinária são comuns e não há outra queixa ou sinal clínico exceto a poliúria e polidipsia, uma vez que os pacientes se apresentam ativos e alertas. Contudo, sinais neurológicos podem estar presentes em decorrência de neoplasias hipofisiárias ou cerebrais que possam estar comprimindo outras estruturas além da neuro-hipófise, tais como andar em círculos, desorientação, cegueira, comportamentos bizarros, déficits nos nervos cranianos, entre outros. Nos casos secundários a traumatismos cranianos, sequelas do trauma podem estar presentes, especialmente se o histórico do paciente suportar ocorrência de trauma. Sinais clínicos de outras doenças associadas a problemas hipofisiários como nanismo, hiperadrenocorticismo pituitário-dependente, acromegalia

podem estar presentes, evidenciando indiretamente a origem do problema.

O diagnóstico de DI é baseado na exclusão de outras causas de poliúria e polidipsia. A grande maioria dos animais apresenta densidade urinária inferior a 1.008 (hipostenúria). Alguns animais poderão apresentar densidade um pouco mais elevada nos casos de DI parcial, conseguindo concentrar um pouco a urina, mas não se esperam valores superiores a 1.012 (isostenúria). Isso acontece porque ante a deficiência de ADH não ocorre concentração da urina, fenômeno característico do néfron distal, no qual o ADH estimula a reabsorção de água, porém não de solutos. Dessa forma o ultrafiltrado presente na luz tubular perde água para o interstício, e a concentração dos solutos na luz do túbulo aumenta. Um organismo saudável reabsorve diariamente cerca de 98 % do volume diário filtrado, urinando somente 1 a 2 % de todo o volume filtrado ao longo de 24 horas. Cerca de 30 % dessa reabsorção ocorre no néfron distal sob influência do ADH, e na ausência desse hormônio, a desidratação severa, coma e óbito são uma questão de tempo, se não houver água à disposição do indivíduo.

#### Tratamento

Em animais com DIC, a administração de ADH ou seus análogos restabelece a hipertonicidade medular e a capacidade de adequada concentração da urina. O acetato de desmopressina (DDAVP) tornou-se a droga de escolha para essa terapia. A desmopressina está disponível em três formas. A apresentação oral em comprimidos de 0,1 a 0,2 mg, apesar de ter concentração bem superior à preparação intranasal (5 µg/gota), é menos eficaz no controle dos sinais clínicos. A preparação injetável é eficaz administrada por via subcutânea, porém seu custo é até 20 vezes superior ao da preparação para uso

intranasal. Apesar de não ser própria para administração parenteral, a apresentação de uso intranasal, contendo 100 µg/mL pode ser filtrada antes da aplicação por via subcutânea, ou pode ser aplicada via saco-conjuntival, obtendo uma resposta adequada na maioria dos animais, reduzindo a ingestão de água e produção de urina em 50 % ou mais. A administração diária da preparação intranasal por via conjuntival na dose de 1-4 gotas a cada 12 ou 24 horas é suficiente para eliminar totalmente os sinais de poliúria e polidipsia. A desmopressina apresenta uma meia-vida de 8 a 24 horas e é segura para uso em cães e gatos, apesar de que intoxicação por água e hiponatremia possam ocorrer durante o tratamento. No caso de administração uma vez por dia, a aplicação ao entardecer pode prevenir a noctúria e garantir um bom controle da ingesta hídrica.

Pacientes com DINP podem beneficiar-se do uso de diuréticos tiazídicos. Apesar de soar antagônico, esse tipo de medicação provoca maior reabsorção de sódio no túbulo contorcido proximal e conseqüentemente maior reabsorção de água. O resultado é a liberação de um volume menor de fluido para o néfron distal, o que pode auxiliar no controle da poliúria. Clorotiazida na dose de 20-40 mg/kg a cada 12 horas ou hidroclorotiazida (2,5-5 mg/kg a cada 12 horas) podem ser úteis. Contudo, alguns animais podem não apresentar resposta alguma a essas medicações. Restrição dietética de solutos urinários (sódio, proteínas) pode reduzir a carga de solutos que precisa ser excretada diariamente, reduzindo indiretamente o volume urinário.

Por questões financeiras, muitas vezes pode-se optar por não tratar o paciente, desde que ele tenha acesso ininterrupto à água, uma vez que a simples poliúria e polidipsia não representam neste caso um problema ou risco à saúde do animal. Nesses

casos o paciente deve viver no pátio ou canil higienizador, onde a poliúria não venha a causar transtornos.

## ALTERAÇÕES DO EQUILÍBRIO ELETROLÍTICO

Para efeitos de discussão, convém separar os desequilíbrios hídricos dos eletrolíticos. Entretanto, na prática é mais comum observar a combinação de alterações hídricas, eletrolíticas e acidobásicas (Quadro 2). Os dados clinicopatológicos costumam estar afetados não somente pelos problemas primários e suas respostas compensatórias secundárias, mas também pela terapia aplicada. É importante considerar a presença de doenças renais, uso de diuréticos ou drogas nefrotóxicas, consumo de água e alimento, transtornos que impeçam o consumo normal de água (transtornos neurológicos, lesões na cabeça, no pescoço, na boca, língua ou faringe), obstruções no trato gastrointestinal ou, simplesmente, erros de manejo (tubulações de água quebradas ou deficiência de bebedouros). Também são importantes as causas de perdas de fluidos, como vômito, diarreia, poliúria, sudorese excessiva por exercício em equinos, ferimentos e queimaduras.

### Distúrbios do sódio

#### Hipernatremia

A hipernatremia está quase sempre associada à elevação da osmolaridade no plasma. Ocorre em animais desidratados quando as perdas de água excedem as perdas de eletrólitos, como nos seguintes casos:

- (a) estágios iniciais de vômito, diarreia e doença renal;
- (b) queimaduras cutâneas;
- (c) causas iatrogênicas:



- uso exagerado de diuréticos,
  - nutrição parenteral,
  - administração de solução salina hipertônica ou bicarbonato de sódio, com restrição de água de beber,
  - intoxicação com sal combinada com falta de água;
- (d) respiração ofegante por calor ou exercício físico intenso;
- (e) diabetes insípida, se ocorrer restrição de água;
- (f) falta de água de beber;
- (g) diabetes mellitus;
- (h) excesso de mineralocorticoides (hiperaldosteronismo por tumor adrenal).

O excesso de sódio no plasma vem acompanhado de aumento na água corporal, provocando uma sobreidratação isotônica que causa hipertensão e edema generalizado. O problema primário, nesses casos, é a retenção de sódio. Secundariamente, o excesso de água, retida ou ingerida para diluir o sódio, resultará em problemas, tais como insuficiência cardíaca congestiva, hipoalbuminemia e fibrose hepática. Antes que o edema seja visível, deve ocorrer uma expansão do volume extracelular de pelo menos 30 %. A terapia de fluidos com sódio em pacientes com dano renal é causa iatrogênica de hipernatremia, que pode levar ao edema.

A intoxicação com sal pode acontecer em animais que pastam perto de pântanos de água salobra ou em alimentos contaminados, sempre que não for fornecida água doce. Na intoxicação com sódio aparecem sintomas neurológicos devido ao edema do córtex cerebral por aumento do fluido cérebrospinal, quadro mais observado em suínos. Outros sintomas observados são fraqueza, letargia, sede, irritabilidade, depressão, ata-

xia, mioclonia e coma. Esses sinais aparecem quando a concentração plasmática de Na atinge níveis superiores a 170 mmol/L (referência = 132-155 mmol/L) e ocorrem devido à desidratação neuronal (água se desloca para o espaço extracelular).

A dosagem de Na plasmático ajuda no diagnóstico. A urina também dá informação valiosa: a densidade urinária pode estar aumentada (>1.035) porque a hipernatremia causa liberação de ADH, que aumenta a reabsorção tubular de água, concentrando a urina.

O tratamento da hipernatremia envolve a correção da causa primária e, eventualmente, o uso de soluções hipotônicas de NaCl (0,45 %) + dextrose 2,5 %, de forma lenta para evitar a morte por edema cerebral (manifestado por convulsões). O edema cerebral ocorre por translocação do fluido extracelular ao interior do neurônio quando a administração de fluido é rápida. O objetivo do tratamento é restaurar o volume extracelular na hipernatremia com desidratação severa, podendo usar-se solução salina (0,9 %) para expandir o volume plasmático. A dosagem de Na no plasma é útil para avaliar o sucesso do tratamento: se a hipernatremia persistir, pode ser calculado o déficit de água mediante da seguinte fórmula:

$$D = 0,6 \times PC \times [1 - (Na^+_d / Na^+_p)]$$

onde D corresponde ao déficit de água (em litros), PC corresponde ao peso corporal (em kg),  $Na^+_d$  corresponde à concentração de sódio desejada e  $Na^+_p$  à concentração de sódio presente.

Contudo, a correção oral é preferível em caso de déficit de água, caso seja possível.

#### Hiponatremia

O sódio mobilizável está localizado no espaço extracelular, o qual contém aproxima-

damente 2/3 do sódio do corpo. O restante do sódio está nos ossos de forma não-mobilizável.

Uma falsa hiponatremia pode ocorrer em quadros de hiperlipidemia e hiperproteïnemia. Lipídeos e proteínas, quando em altas quantidades, ocupam um espaço significativo no plasma. Uma vez que a medição dos eletrólitos é feita na fração aquosa do plasma, nesses casos, apesar de a quantidade total de sódio estar normal relativamente ao volume de plasma, sua concentração estará diminuída. Da mesma forma, observa-se falsa hiponatremia na hiperglicemia, pois a glicose em excesso provoca aumento na osmolaridade do plasma e induz o deslocamento de água do espaço intracelular para o plasmático, diluindo-o. O sódio plasmático diminui 1,6 mmol/L para cada aumento da concentração de glicose de 100 mg/dL.

As mudanças no equilíbrio hídrico são as principais responsáveis pelas mudanças na concentração de sódio. Assim, a hiponatremia ( $\text{Na} < 140$  mmol/L) pode ser considerada como um excesso relativo de água. Entre as causas de hiponatremia estão:

(a) Perdas no volume efetivo circulante: neste caso, inicialmente ocorre hipernatremia quando há perda significativa de água devido a vômito, diarreia, sudorese excessiva (equinos), dermatite esfoliativa, queimaduras, terapia diurética ou insuficiência adrenal (baixa aldosterona). Porém, a desidratação induz respostas neuro-hormonais que resultam em aumento do consumo de água, via aumento da sede e a conservação renal de água, resultando em hiponatremia compensatória.

(b) Hemorragias, compensadas por aumento no consumo de água.

(c) Sequestro de fluidos que contenham sódio em cavidades: como resultado de ascite, peritonite, obstrução intestinal, efusão pleural ou ruptura da bexiga.

(d) Consumo excessivo de água devido a problemas psicogênicos (polidipsia primária).

(e) Doença renal com deficiente reabsorção de  $\text{Na}^+$ .

(f) Deficiente secreção de vasopressina (ADH), não ocorrendo reabsorção de água e de  $\text{Na}^+$ .

Conhecer a concentração de sódio na urina é útil para ajudar a diferenciar os vários tipos de hiponatremias. Nos casos de perdas de fluidos, como na diarreia e no vômito, a resposta renal compensatória mantém uma adequada reabsorção de sódio e a urina tem uma baixa concentração de sódio. Na insuficiência adrenal, a diminuição de aldosterona provoca redução na reabsorção de sódio e na excreção de potássio, ocorrendo hiponatremia com hipercalemia, ao mesmo tempo que a urina tem uma concentração de sódio elevada. Na deficiência de vasopressina, a hiponatremia vem acompanhada de altos níveis de sódio na urina, pois não ocorre reabsorção. Na polidipsia psicogênica, a hiponatremia está acompanhada de urina com baixa concentração de sódio. A hiponatremia pode causar sinais clínicos, como anorexia, letargia, taquicardia e transtornos musculares (mioclonias, câibras e convulsões).

Em casos de hiponatremia com volume circulante diminuído, uma alta concentração de sódio na urina pode indicar insuficiência renal, enquanto  $\text{Na}$  urinário baixo pode revelar perda de  $\text{Na}$  por vômito, diarreia, hemorragias ou queimaduras. Em casos de hiponatremia com volume circulante normal, um  $\text{Na}$  urinário baixo pode indicar polidipsia primária, e  $\text{Na}$  urinário aumentado pode indicar problemas de ADH ou falha renal.

A deficiência de sódio é rara na dieta normal dos animais monogástricos, pois a suplementação com sal é prática comum. Nos ruminantes, em função de os vegetais

serem baixos em sódio, pode eventualmente ocorrer deficiência. Em vacas lactantes de alta produção ocorrem perdas de sódio no leite e, em dietas baixas de sal, pode acontecer deficiência de sódio com hiponatremia. Nas mastites também aumentam as perdas de sódio no leite.

O tratamento da hiponatremia envolve fluidoterapia com soluções isotônicas de NaCl (0,9 %) em quantidade que permita repor uma concentração plasmática de sódio de 130 mmol/L ou uma osmolalidade de > 290 mOsm/kg. A dosagem de Na no plasma permitiria adequar a quantidade a fornecer mediante a seguinte fórmula:

$$Q_{Na} = 0,6 \times PC \times D_{Na}$$

onde  $Q_{Na}$  é a quantidade de sódio a ser reposada (em mmol), PC é o peso corporal (em kg) e  $D_{Na}$  é o déficit de sódio (em mmol/L).

O tipo de fluido usado vai depender da causa e da severidade da hiponatremia: em casos severos, solução salina (0,9 %) e em casos moderados, solução de Ringer ou Ringer lactato.

O cálculo da osmolalidade do plasma é útil para diferenciar hiponatremia falsa ou verdadeira, utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Osmolaridade plasma (mOsm/kg)} = (2 \times [Na]^*) + [glicose]^* + [ureia]^*$$

\* em mmol/L

Na hiponatremia verdadeira, a osmolalidade é < 280 mOsm/kg (referência = 290-310).

### Distúrbios do potássio

Aproximadamente 95 % do potássio mobilizável está no espaço intracelular. A relação  $K^+_{\text{intracelular}}/K^+_{\text{extracelular}}$  é mantida mediante a bomba Na-K ATPase, a qual permite a saída de sódio e a entrada de potássio nas células.

Esse equilíbrio mantém a excitabilidade neuromuscular e cardíaca mediante a manutenção do potencial de membrana das células. As alterações na concentração de potássio têm profundos efeitos neuromusculares causados por mudanças no potencial de membrana das células. Em geral, a hipocalemia (diminuição da concentração plasmática de potássio) aumenta o potencial de membrana, produzindo um bloqueio por hiperpolarização, que resulta em debilidade muscular e paralisia. Na hipercalemia (aumento da concentração plasmática de potássio), diminui o potencial de membrana, causando hiperexcitabilidade.

A concentração de potássio no plasma (referência: 3,5-5,5 mmol/L) pode revelar tanto fatores internos de equilíbrio do potássio através das membranas celulares entre os fluidos extra e intracelulares quanto fatores externos de equilíbrio entre o consumo e a excreção de potássio.

Entretanto, as respostas compensatórias às mudanças no volume circulatório e o equilíbrio acidobásico podem mostrar quadros confusos ou até contraditórios. Por exemplo, no caso de bezerras com diarreia aguda, existe perda de fluidos e de eletrólitos, entre eles o potássio. Porém, a concentração plasmática de potássio nesses animais pode estar normal ou até aumentada, como resultado da desidratação e da acidose, por sua vez causadas pela perda de sódio e pela deficiência renal para excretar  $H^+$ . O aumento de  $H^+$  provoca acidose, havendo uma tendência a que o  $H^+$  em excesso entre no espaço intracelular com a equivalente saída de  $K^+$ , o qual é mobilizado para o espaço extracelular. O tratamento nesses animais inclui terapia de fluidos e eletrólitos ( $Na^+$ ,  $K^+$ ), embora a concentração de potássio esteja normal ou elevada, pois a interpretação clínica deve avaliar o consumo e as perdas de fluidos, bem como o estado renal e o equilíbrio acidobásico.

## Hipercalemia

Pode ser observada uma falsa hipercalemia em amostras hemolisadas, especialmente em espécies com alta concentração de potássio nos eritrócitos (vaca, cavalo, porco, ovelha). Considera-se hipercalemia quando a concentração de K plasmático é  $> 5,5$  mmol/L. As causas de hipercalemia podem agrupar-se em:

- (a) Translocação de K entre espaços:
  - acidose metabólica ou respiratória,
  - deficiência de insulina,
  - drogas beta-bloqueadoras (propranolol).
- (b) Comprometimento da excreção renal de K:
  - falha renal aguda,
  - insuficiência renal crônica,
  - hipoadrenocorticismo,
  - obstrução uretral,
  - ruptura da bexiga.
- (c) Iatrogênicas:
  - fluidoterapia com K em excesso ou em pacientes com função renal comprometida,
  - diuréticos poupadores de K,
  - inibidores da enzima conversora de angiotensina (cartopril),
  - inibidores das prostaglandinas (indometacina),
  - digitálicos,
  - agonistas alfa-adrenérgicos (fenilpropranolamina).
- (d) Comprometimento muscular:
  - necrose de tecidos,
  - lesões musculares,
  - exercício exagerado.

Na hipercalemia, observam-se arritmias cardíacas e fraqueza muscular. O aumento de K causa diminuição do potencial da membrana muscular, afetando a sua repolarização e diminuindo a excitabilidade do músculo. A dosagem de K no plasma (referência = 3,8-5,0 mmol/L) e o eletrocardiograma ajudam no diagnóstico.

O tratamento na hipercalemia (com K no plasma  $> 7$  mmol/L), além de revisar a causa primária, pode envolver fluidoterapia adicional, dependendo da causa. Assim, em acidoses pode ser fornecida solução de bicarbonato de Na, e na obstrução urinária recomenda-se a aplicação de insulina (0,5 U/kg) e de solução de glicose 5 %.

## Hipocalemia

A hipocalemia é relativamente frequente nos animais domésticos como resultado da perda dos depósitos de potássio ou da redistribuição de potássio entre os espaços extra e intracelulares. Configura-se quando a concentração plasmática de K é  $< 3,5$  mmol/L. Entre as principais causas de hipocalemia estão:

- (a) perdas de origem gastrointestinal por vômito e diarreia;
- (b) perdas renais por alteração da função tubular renal;
- (c) deficiência de potássio na dieta, a qual é rara pois o potássio está em concentração relativamente alta nos alimentos para animais, entretanto, a compensação renal diante de uma deficiência alimentar ou uma perda de potássio não é muito eficiente;
- (d) movimento de potássio do espaço extracelular para o intracelular em alcalose aguda: o  $H^+$  intracelular tende a sair das células para compensar, devendo entrar potássio para manter o potencial de membrana;

- (e) uso exagerado de diuréticos;
- (f) excesso de mineralocorticoides (hiperdrenocorticismo);
- (g) tratamento inadequado de insulina em pacientes diabéticos.

Uma falsa hipocalemia pode ocorrer em hiperlipidemia, hiperproteinemia, hiperglicemia e azotemia, principalmente em dosagens por método seco.

A hipocalemia pode causar, além da alteração (aumento) no potencial de membrana, diminuição no volume intracelular e alteração do pH intracelular, o qual é acidificado pela entrada de  $H^+$  para compensar a saída de  $K^+$ . Também há alterações da atividade de enzimas dependentes de  $K^+$ . Os sinais clínicos incluem debilidade muscular, arritmias cardíacas, rabdomiólise, alterações renais (poliúria) e câibras. Em miopatia hipocalêmica há aumento da atividade de creatina quinase (CK) plasmática.

O tratamento da hipocalemia envolve a correção da causa primária e, eventualmente, correção com soluções de KCl (variam de 7,5 % a 20 %) administradas de forma muito lenta para evitar arritmia cardíaca. O tratamento com fluidos é indicado quando a concentração de K no plasma é  $< 3$  mmol/L ou dependendo dos sintomas. A dosagem de K plasmático ajuda na quantidade de KCl a ser fornecida, a qual não deve exceder 0,5 mmol/kg/hora. A suplementação oral de K é preferível quando possível. As bananas são uma boa fonte de K.

### **Distúrbios do cloro**

Entre as causas das alterações da concentração de cloro estão aquelas associadas ao sódio, em função da estreita relação desses dois eletrólitos. Entretanto, existem alterações no cloro independentes dos níveis

de sódio, as quais estão relacionadas com o equilíbrio acidobásico.

### **Hipercloremia**

A hipercloremia (excesso de concentração plasmática de  $Cl^-$ ) com aumento proporcional de sódio é observada na desidratação. A hipercloremia sem aumento proporcional de sódio é observada na acidose metabólica e na alcalose respiratória compensada. Para entender essas alterações do cloro, deve considerar-se que a sua concentração varia inversamente à concentração de bicarbonato ( $HCO_3^-$ ). Assim, na alcalose respiratória há diminuição da  $pCO_2$  e a compensação inclui a excreção renal de bicarbonato, a qual está associada com o aumento da reabsorção de  $Cl^-$ . A acidose metabólica hiperclorêmica pode estar associada com uma diferença aniônica normal ou baixa e pode ser vista como uma resposta compensatória a uma alcalose respiratória primária.

### **Hipocloremia**

Casos de hipocloremia com diminuição simultânea de sódio são observados na sobreidratação. Quando não há diminuição proporcional na concentração de sódio, a hipocloremia está associada a uma alcalose metabólica (aumento de bicarbonato se relaciona com diminuição de  $Cl^-$ ) ou à compensação de uma acidose respiratória. Na acidose respiratória há aumento da  $pCO_2$  e a compensação é feita pelo aumento da retenção de bicarbonato, com perda de  $Cl^-$ .

### **ALTERAÇÕES DO EQUILÍBRIO ACIDOBÁSICO**

As alterações acidobásicas do sangue podem ocorrer em razão de um de quatro possíveis estados: acidose respiratória, acidose me-

tabólica, alcalose respiratória e alcalose metabólica. Em ruminantes, erros no manejo alimentar podem provocar situações que comprometem o equilíbrio acidobásico, como na acidose ruminal láctica e na alcalose ruminal. O principal ácido do sangue está representado pelo  $\text{CO}_2$ , e a principal base, pelo bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ). A acidose pode ser um excesso de ácido ou uma deficiência de base, enquanto a alcalose pode ser um excesso de base ou uma deficiência de ácido. As principais alterações do equilíbrio acidobásico, os respectivos parâmetros alterados e as respostas compensatórias são mostradas na Tabela 4.

### Acidose metabólica

A acidose metabólica é o problema mais frequente de desequilíbrio acidobásico em veterinária e está caracterizada por uma queda no pH e na concentração de  $\text{HCO}_3^-$ . Pode ser causada pelo aumento de íons  $\text{H}^+$  ou pela perda de bicarbonato. Entre as principais causas podem contar-se:

1. acúmulo de ácido láctico em casos de exercício exagerado ou estados hipóxicos;
2. aumento de corpos cetônicos (ácidos acetoacético e beta-hidroxibutírico) no jejum prolongado, na diabetes mellitus, na cetose de vacas em lactação ou na toxemia da gesta-

ção em ovelhas e cabras com gestação dupla avançada;

3. perda de  $\text{HCO}_3^-$  devido a falhas renais que levem a uma menor capacidade para sua reabsorção ou para a excreção de  $\text{H}^+$ ;
4. perda de  $\text{HCO}_3^-$  em diarreia severa;
5. ingestão de salicilatos, paraldeído, metanol ou etileno-glicol.

Em ruminantes é frequente a apresentação de acidose láctica ocasionada pela rápida fermentação de glicídeos solúveis (concentrados) ingeridos subitamente por animais adaptados ou não. A produção de lactato no rúmen pode aumentar em mais de 200 vezes comparado com dietas de pastagem. O pH do rúmen pode estar abaixo do valor de referência (6,0-7,0) para valores inferiores a 5,0. Em condições experimentais, o pH do sangue venoso pode diminuir de 7,35 para 7,0, exaurindo os teores de bicarbonato de 25 para 10 mM.

Endogenamente, o lactato pode surgir de quadros que levem ao desencadeamento de processos fermentativos anaeróbicos para a produção de energia. No choque hipovolêmico, devido a um avançado quadro de desidratação, como acontece nas diarreias intensas em especial em neonatos, o organismo diminui a circulação sanguínea peri-

TABELA 4 - DESEQUILÍBRIOS ACIDOBÁSICOS E RESPOSTAS COMPENSATÓRIAS

Parâmetro	Valor normal	ACIDOSE				ALCALOSE			
		Metabólica		Respiratória		Metabólica		Respiratória	
		NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
pH	7,4	↓	=	↓	=	↑	=	↑	=
$[\text{HCO}_3^-]/[\text{CO}_2]$	20	↓	=	↓	=	↑	=	↑	=
$[\text{HCO}_3^-]$ (mEq/L)	24 a 27	↓	↓	=	↑	↑	↑	=	↓
$\text{pCO}_2$ (mmHg)	40	=	↓	↑	↑	=	↑	↓	↓

As setas indicam os aumentos (↑) ou as diminuições (↓) nos respectivos parâmetros. Aqueles não alterados são indicados por (=). As setas correspondentes aos parâmetros alterados pela causa primária do transtorno acidobásico estão indicadas por (↓) ou (↑), enquanto aquelas correspondentes às respostas compensatórias estão indicadas por (↘) ou (↗). NC, não compensada; C, compensada.

férica para órgãos não-vitais (musculatura e pele), gerando ácido láctico em excesso. Outra situação que pode levar a um quadro moderado de acidose láctica é a intoxicação por amônia (ureia), por afetar a eficiência do ciclo de Krebs, aumentando a fermentação anaeróbica. Neste caso haveria uma alteração mista que envolve alcalose e acidose.

A menor eliminação de íons  $H^+$  pelos rins, como acontece em certas lesões tubulares ou na desidratação, colabora decididamente para a instalação de acidose metabólica. Quadros diarreicos agudos causam perda considerável de bicarbonato. Além de bicarbonato e outros eletrólitos importantes, como sódio, potássio e cloretos, as fezes diarreicas causam depleção de água no organismo, que invariavelmente provoca desidratação. Animais com lesões bucais crônicas que cursam com sialorreia continuada podem ter acidose metabólica por perda de bicarbonato salivar.

O quadro clínico resultante de uma acidose metabólica é muito variável de acordo com a causa primária. Em geral, ocorre depressão, apatia e menor resposta aos estímulos. Nos quadros iniciais o animal tende a elevar a frequência respiratória. Toda vez que diminui o pH sanguíneo, existe um estímulo ao centro respiratório para aumentar a ventilação, incrementando a frequência respiratória. Porém, quando a acidose metabólica é muito intensa, ( $pH < 7,1$ ) o centro respiratório é inibido, desencadeando uma hipoventilação, que muitas vezes antecede à morte.

#### Resposta compensatória

A resposta compensatória inicial a uma acidose metabólica é feita pelos sistemas tampão extracelulares, especialmente o tampão bicarbonato. Os sistemas tampão intracelulares (proteínas e fosfato) também contribuem

no processo de tamponamento. O efeito compensatório rápido será feito pelo pulmão. O decréscimo do pH é captado pelos quimiorreceptores dos grandes vasos, estimulando uma hiperventilação que causa uma diminuição da  $pCO_2$  (de 40 mmHg para 15 mmHg). Esse efeito, contudo, é de curta duração e o efeito compensatório em longo prazo requer a ação do rim, que responde aumentando a excreção de íons  $H^+$  pela urina, tornando-a ácida, e aumentando a reabsorção de bicarbonato pelos túbulos renais. A compensação de uma acidose metabólica pode estar comprometida em mau funcionamento renal.

Na acidose, o excesso de  $H^+$  extracelular invade o espaço intracelular, deslocando o  $K^+$  de dentro para fora da célula (troca catiônica). Este evento ajuda a prevenir o aumento excessivo de  $H^+$  extracelular. Essa troca pode causar hipercalemia, mesmo que as reservas de potássio no organismo estejam diminuídas devido a perdas no rim ou no intestino.

Para uma identificação de acidose metabólica é útil o cálculo do *anion gap*. Ele pode estar normal em casos de acumulação de cloreto como efeito compensatório (diarreia) ou pode estar aumentado por acúmulo de ácidos orgânicos (cetose, acidose ruminal, insuficiência renal, desidratação, choque).

#### Tratamento

O animal somente deve ser tratado em condições extremas de pH sanguíneo ( $< 7,2$ ) e deve-se observar a causa primária do problema. Na maioria dos casos esse quadro vem acompanhado de desidratação, de forma que o clínico deve decidir se o estado de desidratação é mais grave que o desequilíbrio acidobásico para adotar providências. Como na acidose metabólica ocorre perda de bicarbonato ou aumento de ácidos orgânicos, é necessário administrar substâncias alcalini-

zantes. Na determinação do estado acidobásico, o valor de excesso de base (EB) serve para implementar a terapia com bicarbonato de sódio mediante a seguinte fórmula:

Quantidade de  $\text{NaHCO}_3$  (mmol) = peso corporal (kg) x 0,3 x EB (mmol/L)

A quantidade infundida deve ser suficiente para elevar o pH do sangue até um mínimo de 7,25. No cálculo, o valor 0,3 corresponde ao líquido extracelular (20 % do volume total) mais 10 % por causa do intercâmbio entre líquidos extra e intracelulares (LIC e LEC). Não é adequado calcular com base na água corporal total (60 %), porque o intercâmbio entre LIC e LEC é lento e acarretaria uma superdosagem. É mais seguro administrar metade da dose e monitorar os valores de  $\text{CO}_2$  e pH do sangue. Se o tratamento for eficiente, não é necessário continuar a terapia com o bicarbonato. Neste caso, prefere-se que o próprio paciente normalize o desequilíbrio.

### Acidose respiratória

A acidose respiratória está caracterizada por diminuição do pH e por aumento na  $\text{pCO}_2$ . Ocorre devido a uma hipoventilação pulmonar que leva ao acúmulo de  $\text{CO}_2$  no sangue. Essa hipoventilação pode ser ocasionada por dois tipos de problemas básicos. O mais comum faz referência a bloqueio dos mecanismos respiratórios que provoquem falhas na troca de gases nos alvéolos, tais como nas seguintes situações:

- obstruções do trato respiratório,
- pneumonia, pneumotórax, enfisema, edema pulmonar, hemotórax, hidrotórax, botulismo,
- drogas (organoclorados, organofosforados),
- fraturas nas costelas.

A segunda causa é por depressão do sistema nervoso central (centro respiratório) em casos de:

- transtornos neuromusculares,
- infecções,
- traumatismos,
- drogas (anestésicos) ou tóxicos,
- inalação de  $\text{CO}_2$  em excesso (menos comum em animais).

De especial importância é a anestesia geral com agentes voláteis em sistema fechado. Nestes casos a  $\text{pO}_2$  mantém níveis elevados, porém, se a absorção do  $\text{CO}_2$  no sistema de anestesia estiver ineficiente, há um acúmulo deste gás com conseqüente acidose respiratória.

### Resposta compensatória

A resposta compensatória de curto prazo na acidose respiratória está inoperante devido ao comprometimento pulmonar, sendo, portanto, dependente dos mecanismos compensatórios renais de longo prazo. Essa resposta compensatória será feita mediante a retenção de  $\text{HCO}_3^-$  e o aumento da excreção de  $\text{H}^+$ . Nesses casos não é aconselhável fornecer bicarbonato exógeno, pois ele será excretado sem afetar a concentração final de  $\text{HCO}_3^-$  sanguíneo.

O aumento da  $\text{pCO}_2$  no plasma causa vasodilatação, aumentando o fluxo sanguíneo cerebral e causando sinais neurológicos (letargia). Valores superiores a 70 mmHg de  $\text{CO}_2$  causam narcose. Também pode ocorrer taquicardia, sudorese, aumento da temperatura corporal, vasodilatação periférica e arritmia. Animais com acidose respiratória muitas vezes assumem atitude ortopneica, com o pescoço distendido, as pernas anteriores e as narinas bem abertas, podendo ser acompanhado de dispneia, respiração superficial



e taquipneia. Em algumas situações pode ser verificada congestão ou cianose das mucosas.

### Tratamento

O tratamento deve considerar a causa primária. Os casos de transtornos respiratórios crônicos são complicados pois podem ser irreversíveis. Em casos de pneumonias ou obstruções do trato respiratório podem ser usados broncodilatadores e antibióticos. Convulsões e arritmias cardíacas são complicações das modificações rápidas da  $p\text{CO}_2$ . A hiperventilação deve ser usada apenas em casos agudos, para não inibir o estímulo da hipóxia. Nunca usar bicarbonato em tratamento de acidose respiratória, uma vez que pode elevar a  $p\text{CO}_2$  causando narcose. Em alguns casos pode ocorrer acidose metabólica concomitante, devido a menor oxigenação nos tecidos periféricos e formação de ácido láctico; esses casos devem ser tratados com pequena quantidade de tampões.

### Alcalose metabólica

A alcalose metabólica é caracterizada por uma elevação no pH e na concentração de bicarbonato. Em ruminantes este quadro se apresenta associado a:

- distúrbios digestivos com perda excessiva de líquidos, como no sequestro de fluidos nos pré-estômagos;
- administração oral de bicarbonato de sódio em excesso (usado como tamponante ruminal);
- intoxicação com ureia;
- deslocamento de abomaso.

Em outros animais, pode ser devido a:

- ingestão excessiva de álcalis, como no uso excessivo de bicarbonato de sódio (como antiácido);
- perda anormal de ácido do organismo no vômito prolongado (perda de HCl);
- administração de diuréticos (perda de ácido na urina);
- perda renal de  $\text{H}^+$  associada com excesso de mineralocorticoides e baixo consumo de  $\text{Cl}^-$ .

A administração excessiva de bicarbonato pode ser uma causa de alcalose metabólica, especialmente quando há déficit no volume efetivo circulante ou déficit de  $\text{K}^+$ , ou de  $\text{Cl}^-$ , casos nos quais o bicarbonato não poderá ser excretado pelo rim de forma normal, criando condições para a manutenção da alcalose. A diminuição do volume efetivo circulante favorece a manutenção da alcalose, pois na hipovolemia ocorre liberação de aldosterona com aumento da reabsorção de  $\text{Na}^+$  para ajudar no restabelecimento do volume plasmático normal. A manutenção da eletroneutralidade requer que a reabsorção de  $\text{Na}^+$  nos túbulos distais esteja associada com a excreção de um cátion, geralmente  $\text{H}^+$ , ou, em menor quantidade, o  $\text{K}^+$ . Uma vez que a excreção renal de  $\text{H}^+$  está diretamente relacionada com a reabsorção de bicarbonato, não seria possível a eliminação do bicarbonato em excesso, tendendo a alcalose a continuar ao tempo que a urina ganha mais  $\text{H}^+$ . Essa é a razão da chamada urina paradoxal, uma urina ácida produzida por pacientes com alcalose metabólica e hipovolemia.

A hipocalcemia também contribui para a manutenção da alcalose metabólica. Na hipocalcemia ocorre aumento da concentração intracelular de íons  $\text{H}^+$  (que entram para manter o equilíbrio eletrolítico intracelular). Com isso, o aumento de  $\text{H}^+$  no interior das células tubulares renais provoca um aumen-

to na excreção de  $H^+$  e, portanto, na reabsorção de bicarbonato.

#### Resposta compensatória

A resposta compensatória na alcalose metabólica é feita pelo pulmão, reduzindo a taxa de ventilação. Esse efeito é controlado pelos quimiorreceptores do centro respiratório e dos corpos carotídeos, os quais captam o valor elevado de pH, com o efeito final de aumento da  $pCO_2$  (de 40 mmHg para 55 mmHg). O quadro clínico é muito variável dependendo do grau de alcalose, podendo ocorrer oligopneia e respiração superficial, depressão no estado geral e intensa apatia.

#### Tratamento

Deve ser tratada a causa primária para não perpetuar a descompensação da alcalose. Solução salina (NaCl 0,9 %) ajuda na expansão do plasma e pode diminuir o pH. Em casos de hipocalemia, acrescentar cloreto de potássio nas soluções intravenosas.

Diferentemente da acidose metabólica, a alcalose tem um prognóstico mais reservado, pois o organismo tem mecanismos compensatórios menos eficientes para a autocorreção do problema e a terapia tem resultados mais incertos. Devem ser utilizadas na correção da alcalose soluções de sais que contenham ânions tais como cloreto de sódio, cloreto de potássio ou cloreto de amônia. Estes dois últimos sais têm o inconveniente de poderem trazer efeitos colaterais se aplicados em demasia. Assim, recomenda-se a aplicação de 100 a 150 mL/kg PV de solução isotônica de cloreto de sódio (0,9 %).

Em casos de alcalose metabólica causada por intoxicação iatrogênica por bicarbonato, ocorre elevação no pH urinário poden-

do chegar até 9,2 devido à maior eliminação renal de bicarbonato. Em casos de alcalose metabólica com hipovolemia, a apresentação de urina paradoxal pode ocorrer até quatro dias após tratamento. Nesses casos, embora o pH sanguíneo esteja elevado, o pH urinário pode estar ainda ácido, atingindo até 5,4.

#### Alcalose respiratória

A alcalose respiratória está caracterizada por aumento no pH e diminuição da  $pCO_2$ . A  $pCO_2$  pode cair do valor de referência de 40 mmHg até 20 mmHg ou menos. Pode ser devido a uma hiperventilação pulmonar, que pode ocorrer nos seguintes casos:

- compensação respiratória (hiperventilação) em uma hipoxemia associada com doenças pulmonares, como as que ocasionam a acidose respiratória, nas falhas cardíacas ou em anemias severas;
- distúrbios psicogênicos ou neurológicos que estimulam o centro respiratório da medula; febre (septicemia);
- intoxicação por salicilato;
- ventilação artificial exagerada;
- ansiedade, dor intensa ou estresse;
- super-aquecimento em cães, gatos e outros animais que não suam e utilizam a ventilação como forma de perder calor;
- anidrose nos equinos;
- diminuição da pressão atmosférica (baixa  $pO_2$ ) como a observada a grandes altitudes (acima de 3000 m acima do nível do mar).

#### Resposta compensatória

A resposta compensatória inicial na alcalose respiratória é feita por meio do tamponeamento pelo sistema bicarbonato (há deslo-

camento de  $\text{HCO}_3^-$  para formação de  $\text{CO}_2$ ). O efeito compensatório posterior é feito pelo rim, onde ocorrerá diminuição tanto da excreção de  $\text{H}^+$  como da reabsorção de  $\text{HCO}_3^-$ . A diminuição na concentração plasmática do bicarbonato é equilibrada pelo aumento na retenção de  $\text{Cl}^-$ , para manter a eletroneutralidade, levando a uma hiperclorêmia de compensação. A hiperclorêmia também pode ser observada na acidose metabólica compensada, pois a concentração de  $\text{Cl}^-$  tende a variar inversamente à concentração de bicarbonato. O limite de compensação renal na alcalose respiratória é atingido quando a concentração de bicarbonato chega a 12 mmol/L (concentração de referência de 20-25 mmol/L).

#### Tratamento

A causa primária deve ser tratada. Em calor excessivo, reduzir a temperatura corporal; em lesões do SNC é recomendado oxigêniooterapia; em casos de ansiedade e dor tentar tranquilizantes e analgésicos. No caso de hiperventilação, o animal deve ser tratado com um sedativo que provoque a diminuição da frequência respiratória. Além disso, recomenda-se colocar o animal temporariamente em um ambiente fechado com pouca renovação de ar, rico em  $\text{CO}_2$  para aumentar os teores desse gás no sangue.

#### Acidose láctica ruminal

A acidose ruminal clínica ocorre por erros no manejo alimentar de ruminantes alimentados com fontes de carboidratos rapidamente fermentáveis que levam a um aumento súbito da concentração ruminal de ácido láctico, rápida diminuição do pH do fluido ruminal e, se não tratada, morte do animal em 24 horas.

Em 1998, foi proposto por Garret o nome de SARA (Acidose Ruminal Subaguda) para descrever um conjunto de sinais associados com situações ocorridas no rúmen que usualmente são derivadas do manejo alimentar em animais alimentados com altas quantidades de grãos. Geralmente os sinais clínicos da enfermidade não são aparentes e suas consequências aparecem tempo depois de ter acontecido o distúrbio. A SARA constitui um problema responsável por significativas perdas econômicas no rebanho.

A acidose ruminal aguda é uma doença que ataca principalmente vacas leiteiras de alta produção ou novilhos em fase final de engorda. As necessidades de energia para a produção de leite ou carne precisam de uma fonte alimentar adicional que, quando é oferecida de maneira súbita ou em excesso, pode levar à acidose.

A causa principal da SARA é a mudança alimentar no padrão normal dos ruminantes. A queda no consumo de fibra junto ao consumo de glicídeos rapidamente fermentáveis (GRF) gera um profundo desarranjo na população bacteriana, que, por sua vez, altera a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGV). Assim, quando as mudanças acontecem, a produção de AGV sobe e o pH cai. O valor limite do pH considerado de risco é 5,5. Abaixo desse valor, os sinais clínicos são evidentes.

É frequente a SARA se apresentar em animais com baixo consumo de fibra ou quando há mudanças no sistema alimentar sem que tenha sido feito um período prévio de adaptação, em especial no início da lactação ou quando ocorre mistura inadequada nos sistemas com ração totalmente misturada (RTM). Duas são as alterações principais que ocasionam o problema. Em primeiro lugar, a rápida fermentação dos glicídeos, que afeta a população de bactérias celulolíticas por causa da queda do pH. Em  $\text{pH} < 5,5$ , a flora bacteria-

na do rúmen vira amilolítica, os protozoários morrem e sua função de diminuir a quantidade de amido no rúmen perde-se. Adicionalmente, o *Streptococcus bovis* prolifera afetando outras cepas da microflora ruminal necessárias para manter todas as funções ruminais. Em segundo lugar, ocorre perda da estrutura das papilas ruminais pela ação conjunta do baixo pH e das endotoxinas e substâncias inflamatórias liberadas. Com a perda das papilas, a capacidade para absorver os AGV diminui.

A acidose ruminal clínica ou subclínica pode acometer qualquer rebanho que utilize na dieta grandes quantidades de concentrado rico em carboidratos facilmente degradáveis. A forma subclínica da doença costuma acometer uma porcentagem maior dos rebanhos confinados (em torno de 20 %), quando comparado à forma clínica da enfermidade (5 %). Na forma subclínica, os sinais clínicos da doença não são evidentes, dificultando o diagnóstico.

A quantidade de alimento necessária para desenvolver a acidose ruminal é variável, dependendo da capacidade de adaptação da flora ruminal de cada animal, da velocidade de fermentação do concentrado oferecido, da quantidade ingerida pelo animal, podendo a forma clínica ter uma morbidade variável de 10-50 %, e de mortalidade de até 90 % dos animais não tratados, ao passo que, para os tratados, a mortalidade diminui para 30-40 %.

Inicialmente, um aumento na concentração de carboidratos altamente degradáveis associado com a redução da fibra na dieta propicia um ambiente adequado para o crescimento de bactérias gram-positivas produtoras de ácido láctico (*Streptococcus bovis* e *Lactobacillus* sp.). Em condições fisiológicas, o ácido láctico no fluido ruminal é um intermediário minoritário do metabolismo, sendo metabolizado no rúmen, principalmente pela bactéria *Megasphaera elsdenii*.

Na acidose ruminal subclínica ocorre um aumento na população de *Streptococcus bovis*, o pH do fluido ruminal fica abaixo de 6,0, o que compromete a viabilidade dos protozoários, inibe a degradação da celulose, pois as bactérias celulolíticas tem o pH ideal para crescimento em torno de 6,7, e favorece a multiplicação das bactérias amilolíticas. Na maioria das vezes os animais ainda não apresentam sinais clínicos evidentes e passam despercebidos. O rúmen do animal pode retornar ao pH fisiológico, horas após, sem tratamento dependendo do alimento disponibilizado. Na forma subclínica, por exemplo, o animal diminui a ingestão de matéria seca, consequentemente diminuindo a fermentação ruminal e elevando o pH do fluido; mas isso poderá não acontecer pelo fato de o animal ter ingerido grandes quantidades de carboidratos.

A forma clínica ocorre geralmente quando o animal recebe abruptamente grandes quantidades de concentrado altamente degradável. Quando aumenta a sua concentração, sem a prévia adaptação, desencadeia-se um quadro mais agudo. Inicialmente a patogenia é da mesma forma da subclínica, mas como a fermentação é maior, o pH do fluido ruminal diminui mais rapidamente e o quadro começa a se tornar mais grave. Quando o pH fica abaixo de 5,0, as bactérias lactolíticas (*Megasphaera elsdenii* e *Selenomonas ruminantium*) não resistem ao baixo pH e morrem; com isso aumentam ainda mais as concentrações do ácido láctico, pois o ambiente está favorável ao crescimento das bactérias produtoras de ácido (*Lactobacillus* spp). Quando a concentração do ácido láctico está muito elevada, esse é absorvido pelas paredes ruminais, podendo levar a uma acidose metabólica. Quando o animal está nessa fase da doença, se o quadro não for revertido rapidamente mediante tratamento, pode vir a óbito.

## Sinais clínicos

Os animais que apresentam a forma clínica da doença apresentam vários sinais característicos de comprometimento ruminal e sistêmico de acordo com a gravidade do quadro clínico (Quadro 5), entre os quais estão:

- anorexia;
- diminuição abrupta da produção leiteira e do teor de gordura do leite;
- diminuição ou ausência dos movimentos ruminais;
- aumento da frequência cardíaca (FC), podendo estar acima de 140 bat/min;

- taquipneia, associada com a sua diminuição de amplitude respiratória;
- diarreia, podendo ter a presença de grãos;
- desidratação, que em casos graves pode chegar a 10-12 % do peso vivo do animal;
- apatia, tremores musculares, ranger de dentes;
- cólica e timpanismo;
- aumento de líquido no rúmen, devido ao aumento da osmolaridade do fluido;
- incoordenação;
- claudicação associada à laminite;
- prostração dos animais e decúbito.

QUADRO 5 – ACHADOS CLÍNICOS E SELEÇÃO DE TRATAMENTOS NA ACIDOSE LÁCTICA DOS RUMINANTES.

Parâmetros	Grau da doença			
	Hiperaguda	Aguda	Subaguda	Moderada
Estado geral	depressão severa, decúbito lateral	depressão, ataxia, anorexia	alerta, pode caminhar e comer	come e bebe normalmente
Desidratação <sup>1</sup>	8-12 %	8-10 %	4-6 %	não detectável
Distensão abdominal	proeminente	moderada	moderada a nenhuma	nenhuma
Freq. cardíaca <sup>2</sup>	110-130	90-100	72-84	normal (72-84)
Temp. corporal	35,5-38 °C	38,5-39,5 °C	38,5-39 °C	normal (38,5-39 °C)
Estado do rúmen	distendido com fluido, estase, pH menor que 5,0 e sem protozoários	distendido com fluido, estase, pH entre 5,0-6,0 e sem protozoários	moderada distensão com fluido, contrações fracas, pH entre 5,5-6,5 e alguns protozoários	sem distensão, contrações abaixo do normal, pH 6,5-7,0 e protozoários normais
Tratamento	rumenotomia, bicarbonato de sódio 5 % endovenoso, solução isotônica	rumenotomia ou lavagem gástrica, bicarbonato de sódio 5 %, solução isotônica, fornecer feno	hidróxido de magnésio (500 g) direto no rúmen, solução isotônica, fornecer feno	fornecer feno, observar presença de anorexia (por 48 h)

<sup>1</sup> Percentual de líquidos perdidos relativamente ao peso corporal. <sup>2</sup> Valores em batimentos por minuto.

## Diagnóstico

Para um diagnóstico efetivo de acidose ruminal, deve-se levar em consideração o histórico do animal, os sinais clínicos e exames complementares como a avaliação do fluido ruminal, da urina e do sangue. A forma subclínica da doença não apresenta sinais clínicos e uma das formas para o diagnóstico definitivo é a avaliação do fluido ruminal. O Quadro 6 mostra as diferenças nas características do fluido ruminal entre a forma clínica e subclínica da acidose ruminal.

Na avaliação do leite em animais com acidose clínica e subclínica, observa-se uma redução no teor de gordura, assim como a diminuição na produção de leite, sendo na forma clínica uma queda abrupta.

No sangue, quando o comprometimento ruminal é grave, pode-se ter uma redução do pH sanguíneo para 7,0-7,2. O animal pode apresentar um hematócrito elevado devido a sua desidratação pelo sequestro de líquidos para o rúmen, acompanhado de uma redução na pressão sanguínea. Tem-se um aumento

nas concentrações de lactato e fosfato inorgânico e uma redução de bicarbonato.

Na avaliação da urina de ruminantes, que em condições fisiológicas é alcalina (pH entre 7,7 a 8,4), o valor será inferior aos limites considerados fisiológicos, podendo reduzir de acordo com a gravidade da enfermidade, chegando até 5,0. A urina se apresenta mais concentrada e com diminuição de volume e o animal na fase terminal pode apresentar anúria.

Devem ser considerados alguns indícios em uma propriedade que podem ser indicadores da presença dessa enfermidade no estabelecimento, entre elas, a presença dos seguintes indicadores:

- alta percentagem de animais que apresentam deslocamento de abomaso,
- mais de 10 % do rebanho com caso clínico de laminite,
- infertilidade das vacas pós-parto,
- abscessos hepáticos,
- rumenite micótica,

QUADRO 6 – CARACTERÍSTICAS DO FLUIDO RUMINAL EM ANIMAIS COM ACIDOSE CLÍNICA E SUBCLÍNICA.

<b>Parâmetros avaliados do fluido ruminal</b>	<b>Acidose Ruminal Clínica</b>	<b>Acidose Ruminal Subclínica</b>
Cor	leitoso, amarelado	marrom claro
Odor	ácido, repulsivo	levemente ácido
Consistência	viscoso, aquoso	levemente aquoso
Sedimentação e flutuação	Ausente	tempo elevado
Atividade Redutiva	prolongada ou ausente	levemente aumentada
Movimentos de Protozoários	Ausentes	reduzidos
pH	Abaixo de 5,2	5,2 – 6,0

– trombose da veia cava associado com hemorragia pulmonar.

## Tratamento

Para o tratamento dos animais acometidos deve ser verificada a gravidade do quadro clínico, de acordo com os sinais clínicos e dos exames complementares, em especial pela avaliação do fluido ruminal. Em quadros de acidose ruminal subclínica, muitas vezes apenas com a correção da dieta (proporção de concentrado x volumoso), e se necessário, associado com a retirada do concentrado por um a dois dias, os animais retornam ao pH fisiológico do rúmen.

Em casos clínicos de acidose, o cuidado deve ser maior, levando em consideração o estado geral do animal e o tempo transcorrido após a ingestão da quantidade exacerbada do concentrado. Os animais devem ser mantidos em observação por um período de 24 horas, porque, às vezes no momento da avaliação, podem não apresentar sinais clínicos evidentes e, devido à fermentação dos carboidratos prosseguir, estes animais podem apresentar sinais clínicos posteriormente.

O primeiro passo para o tratamento dos animais acometidos é retirar totalmente o contato com o concentrado, sendo oferecido feno de boa qualidade, com restrição hídrica (pois a água irá solubilizar o carboidrato presente no rúmen e favorecer ainda mais a sua fermentação), e fazer também com que os animais se movimentem a cada 12 h para que seja estimulada a motilidade do sistema digestório.

Devem-se providenciar os seguintes cuidados:

1. Corrigir a acidose ruminal e quando necessário a sistêmica, evitando a continuação da formação do ácido láctico, mediante as seguintes alternativas:

– Agentes alcalinizantes intrarruminais: em casos moderados de acidose, pode-se optar pelo uso de carbonato de magnésio ou de hidróxido de magnésio (1 g/kg de PV), ou 150 g de bicarbonato de sódio; esses componentes devem ser diluídos em 10 litros de água morna (para um animal de 450 kg de peso vivo); essa solução deve ser depositada no rúmen através de uma sonda ororruminal, tendo o cuidado de não provocar falsa via, depositando o conteúdo no rúmen; o clínico poderá fornecer doses menores repetidas a cada 6-12 horas. Pode-se optar por não utilizar bicarbonato de sódio em casos de animais com rúmen em atonia, pela possibilidade do desenvolvimento de meteorismo/timpanismo leve a moderado em função da liberação de dióxido de carbono.

– Rumenotomia: utilizada em casos graves, com depressão do animal, hipotermia, distensão ruminal devido aos sequestros líquidos, taquicardia (110-130/minuto), pH do fluido ruminal abaixo de 4,5. Deve-se retirar do rúmen uma quantidade relevante do conteúdo, em especial do material que provocou a acidose; após faz-se a transferência de 10–20 litros de fluido ruminal de um animal sadio; se realizada com eficiência, dispensa a utilização de agentes alcalinizantes no rúmen. Para a realização da rumenotomia, deve se considerar que quando um grande número de animais apresenta o quadro grave de acidose na propriedade, existe um alto custo da cirurgia e pode não haver tempo de reversão do quadro clínico, podendo optar-se por um abate de emergência dos animais; em vez de rumenotomia pode-se propor uma lavagem do rúmen via sonda ororruminal, se as circunstâncias permitirem.

– Correção sanguínea: quando a acidose se torna sistêmica, há a necessidade de administrar soluções intravenosa de alcalinizantes; pode-se utilizar solução de bicarbonato a 5 %, na média de 5 litros (para um

animal de 450 kg), devendo ser administrada em um tempo superior a 30 minutos; nas 6 a 12 horas seguintes, deve-se aplicar soluções de bicarbonato isotônico (1,3 %), 150 mL/100 kg de peso IV.

2. Restaurar o equilíbrio hidroeletrolítico da corrente sanguínea levando em consideração o grau de desidratação do animal, administrando soluções Ringer e também de glicose a 10-20 % IV, a fim de fornecer, no caso da glicose, substratos energéticos para o paciente.

3. Fazer com que a motilidade do pré-estômago e do intestino retornem ao estado fisiológico, por meio da oferta de uma dieta rica em fibras, associada com a movimentação dos animais.

4. Tratamento auxiliar, de acordo com avaliação do clínico, que pode incluir:

- parassimpatomiméticos para estimular a motilidade intestinal;

- antibióticos via oral (penicilinas e tetraciclina), para auxiliar no controle do crescimento das bactérias produtoras de ácido láctico;

- antibióticos de amplo espectro via sistêmica, para controlar eventuais septicemias, em caso de acidose ruminal grave;

- administração de carvão vegetal (2 g/kg PV), a fim de inativar endotoxinas liberadas pela destruição dos microrganismos gram-negativos do rúmen;

- utilização de probióticos via oral;

- utilização de anti-histamínicos, para controlar a laminite que ocorre em alguns casos;

- aplicação de corticosteroides como terapia para reverter os quadros de choque;

- administração oral de tiamina ou levedura de cerveja para aumentar a utilização ruminal de lactato.

## Prevenção

Quando optar por uma dieta rica em concentrado para aumentar a produtividade do sistema de produção, a fração concentrada da dieta deve ser utilizada de forma gradual, para promover uma adaptação da flora ruminal e das papilas do rúmen. Pode-se iniciar com 8-10 g/kg de peso vivo, aumentando a cada dois a quatro dias em quantidades de 10-12 %. A adaptação completa da microbiota ruminal à grande quantidade de carboidrato, assim como a qualquer outro suplemento a ser empregado leva em torno de 21 dias. Assim, deve-se observar também a frequência e a rotina de fornecimento de alimento, evitando mudanças bruscas no ambiente ruminal. Também deve-se formular dietas que não predisponham a uma produção excessiva de ácidos no rúmen, mediante a adição de forragens que estimulem a contração ruminal, aumentem a taxa de passagem da fase líquida, promovendo assim a remoção de ácidos do rúmen, e aumentem o contato do conteúdo ruminal com o epitélio, favorecendo a absorção de AGV; por exemplo, vacas em lactação devem receber dietas com, no mínimo, 28 % de FDN (18-22 % de MS deve ser FDN).

Em relação ao processamento de grãos, considerar que partículas muito pequenas melhoram a digestibilidade do amido e por isso aumentam a produção de ácidos e partículas muito longas e mal misturadas favorecem a seleção dos alimentos. Assim o tamanho ideal das partículas é de 8 mm em 50 % da forragem. Outro aspecto ligado ao manejo alimentar é fornecer forragem antes do concentrado (diminuindo a chance de exposição do ambiente ruminal a pH baixo) e fornecer alimentos de 3 a 4 refeições por dia, de acordo com a conveniência e logística de manejo.

Vários suplementos vêm sendo utilizados para evitar a acidose ruminal subclínica e clínica, dentre eles o mais difundido atualmente



é o uso de ionóforos, como a monensina sódica, que age inibindo o crescimento de bactérias gram-positivas, como *Streptococcus bovis*, produtora de lactato, que é um dos ácidos responsáveis pela acidose clínica. Os ionóforos modificam a produção de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen, por meio da diminuição da proporção molar de acetato:butirato, da produção de gás metano e do aumento na produção de propionato. A monensina sódica deve ser utilizada na dose de 30 mg/kg de dieta com base na matéria seca a fim de reduzir o crescimento de bactérias Gram-positivas, no caso de gado de corte em confinamento e 10-22 mg/kg no caso de vacas leiteiras. Deve-se ter precaução, pois quantidades acima de 30 mg/kg podem influenciar negativamente também as bactérias Gram-negativas. Uma outra forma como opção para evitar a acidose ruminal, evitando o uso de antibióticos em sistemas de produção, é a utilização de probióticos, como as leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*); essas leveduras removem o oxigênio que chega ao rúmen através do alimento e da saliva, proporcionando aumento no número de bactérias celulolíticas viáveis. Dessa forma, o pH do fluido ruminal torna-se mais estável, a metanogênese e a proporção de ácidos graxos voláteis são alteradas e a concentração de ácido láctico diminui. Há vários estudos abordando a utilização de probióticos nas dietas, proporcionando o incremento na produção leite e no ganho de peso em bovinos de corte. Este aumento no desempenho produtivo é atribuído ao equilíbrio da flora ruminal, favorecendo as bactérias celulolíticas e as consumidoras de lactato, promovendo um aumento na digestão das fibras e o aumento de proteína microbiana no rúmen, o que é benéfico aos animais em sistemas de confinamento que ingerem dietas ricas em grãos. Outro aspecto de extrema relevância é o fato de os probióticos, sendo microrganismos vivos, terem a vantagem de

eliminar o risco de resistência microbiana aos antibióticos, além de não deixarem resíduo na carne e no leite.

Utiliza-se também como prevenção de acidose ruminal tampões como o bicarbonato de sódio, misturado na fração concentrada da dieta. Esse suplemento se mostra eficiente, mas possui fatores negativos como um aumento na incidência de cálculos urinários, meteorismo e deficiências de vitaminas. Em caso de utilização de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ), fornecer 0,5-1 % na matéria seca; em casos de confinamento, utilizar de 2-3 % nas 3 primeiras semanas.

### Alcalose ruminal

A alcalose ruminal é uma enfermidade pouco estudada no meio científico, sendo de frequente ocorrência nos sistemas produtivos de ruminantes. A fonte proteica na dieta de um animal é de grande importância para que se alcancem bons índices produtivos, mas quando ocorre um desequilíbrio na formulação da ração por excesso de proteína e/ou falta de energia suficiente, tem-se grande risco de o animal apresentar quadros de alcalose ruminal.

O transtorno ocorre devido à alta concentração de amônia no rúmen. As causas, que podem ser diversas, variam desde um erro na formulação da dieta pelo excesso de proteína degradável no rúmen associado com baixa de energia até casos acidentais pelo consumo exacerbado de ureia, quando utilizada como substituto da proteína na formulação de rações, e ainda em casos de ingestão de alimentos deteriorados, tais como silagens pútridas, água contaminada com fezes ou urina, subprodutos de cervejaria e restos industriais, assim como o farelo de soja que possui a enzima urease que facilita a degradação da ureia e formação de amônia.

Com o sistema de produção dos ruminantes cada vez mais intensificado, no qual se exige alta produtividade em pouco tempo, com o custo de produção cada vez menor para que o produto se torne competitivo no mercado, o animal está sendo submetido a uma dieta com altos níveis de proteína e energia. Quando a ração não é bem formulada, ou quando ocorre erro de manejo, pode ocorrer um desequilíbrio na flora ruminal e acarretar a alcalose ruminal. A gravidade da alcalose ocorre de acordo com a velocidade de liberação de amônia dentro do rúmen. Esse transtorno pode ocorrer em um grande lote de animais, quando se trata de erro de manejo, ou em poucos, quando acidentalmente têm contato com alimentos pútridos ou ricos em proteínas altamente degradáveis.

#### Patogenia

A amônia presente no rúmen é originada na degradação da proteína verdadeira da ração, do nitrogênio não proteico (NNP) da ração (ureia), do nitrogênio reciclado para o rúmen na forma de ureia e da degradação das células microbianas mortas. A ureia ao entrar no rúmen é degradada pelas bactérias ureolíticas com ação da enzima urease em amônia, a qual, em altas concentrações, é tóxica ao animal. Deve-se ter o cuidado quando se formula a ração, pois ocorre um pico de amônia no rúmen de acordo com a dieta que o animal recebe. Em um animal com ureia na sua dieta, o pico de amônia ruminal ocorre em torno de 1 a 2 horas após a alimentação, enquanto no animal alimentado com proteína verdadeira o pico é de 3 a 5 horas. Para ocorrer uma eficiente utilização da amônia pelos microrganismos, o ambiente ruminal deve estar com energia disponível, caso contrário o seu uso é ineficaz. Quando não utilizada para a síntese microbiana, a amônia é absorvida pela parede ruminal por difusão,

e pela veia porta vai ao fígado. No fígado é transformada em ureia, que não é tóxica ao animal, podendo dessa forma ser eliminada pela urina e pelo leite. O excesso de amônia no rúmen (maior do que 80 mg/dL) alcaliniza o seu fluido (pH acima de 7,0), e quanto mais elevado o pH do ambiente ruminal, maior é a taxa de absorção da amônia pelas paredes ruminais, uma vez que essa é absorvida na forma não ionizada ( $\text{NH}_3$ ). A elevação do pH ruminal desequilibra sua flora, acarretando em morte de microrganismos, tornando o fluido ruminal pútrido. O que se torna tóxico ao animal, além do comprometimento ruminal, é o excesso de amônia na corrente sanguínea, pois o fígado não consegue transformar toda a amônia em ureia. Em casos graves, pode levar a uma alcalose metabólica, elevando os níveis sanguíneos de amônia, e à elevação do pH do sangue, podendo levar o animal à morte.

Em casos de ingestão de alimentos deteriorados, incluindo água de baixa qualidade, ocorre a putrefação do ambiente ruminal, morte da flora e elevação do pH do fluido ruminal.

#### Sinais clínicos

O animal apresenta uma diminuição de ingesta alimentar, sendo mais severa de acordo com o grau de seu comprometimento ruminal, hálito pútrido, diminuição dos movimentos ruminais e da ruminação, apatia e, na pecuária leiteira, há redução da produção de leite.

Em casos mais agudos de alcalose ruminal, pode ocorrer um aumento na concentração sanguínea de ureia e amônia, podendo acarretar um aumento do pH sanguíneo e do trato reprodutivo, podendo reduzir a fertilidade espermática, e assim diminuindo a fertilidade do rebanho. Essa elevação do pH sanguíneo decorrente da alcalose ruminal, também pode desencadear a ocorrência de

outra enfermidade, como a hipocalcemia, na sua forma clínica ou subclínica, que ocorre devido à redução da mobilização do cálcio ósseo derivado do pH elevado do sangue que inibe a ação da paratireoide.

### Diagnóstico

Para se ter um diagnóstico preciso, deve-se levar em consideração o histórico do animal ou do rebanho (quantidade de proteína bruta na dieta, se possui ureia na composição da ração, restos de cervejaria, se ingeriu alimentos pútridos, qualidade da água, entre outros). Além dos sinais clínicos descritos, levar em consideração o exame do fluido ruminal, de urina, e se possível de marcadores bioquímicos sanguíneos.

A avaliação do fluido ruminal pode apresentar os seguintes resultados, de acordo com a gravidade:

- pH: 7,0–8,5
- cor: marrom
- odor: pútrido
- consistência: aumentada
- tempo de sedimentação e flutuação: aumentado
- atividade reductiva: > 10 minutos
- movimento de protozoários: diminuídos ou ausente
- ácidos graxos voláteis (AGV): diminuição de propiônico e aumento de butírico.

Na urina é observado um aumento do pH, que pode chegar a 8,5-9,0. Na avaliação do leite, é observado em animais acometidos com alcalose um aumento nas concentrações de ureia e na contagem das células somáticas. No perfil bioquímico sanguíneo observa-se um aumento nas concentrações de ureia, amônia e glicose.

### Tratamento

O tratamento em cada animal pode ser de uma forma diferente, levando em consideração a severidade do seu quadro clínico. Deve-se acidificar o ambiente ruminal, para fazer com que a amônia fique na forma ionizada (amônio:  $\text{NH}_4^+$ ); com isso dificulta-se a sua absorção pela parede ruminal, pois ela não é absorvida na forma iônica.

Para tratamento de alcalose ruminal deve-se:

- corrigir a dieta do animal;
- tratar com ácido acético/vinagre: 2 mL/kg de peso corporal via oral;
- avaliar a possibilidade de uso de oxitetraciclina para diminuir a população de microrganismos indesejáveis;
- fornecer fluido ruminal de um animal sadio;
- terapia de suporte de acordo com a condição clínica do paciente.

Em relação ao uso de fluido ruminal deve-se, preferencialmente, coletar de animais adaptados à mesma condição alimentar do animal acometido. Essa estratégia pode ser adotada, sempre que o fornecimento de fluido ruminal for escolhido como alternativa para tratamento de transtornos de trato digestivo em ruminantes. O fluido ruminal deve ser administrado ao animal imediatamente após a coleta do animal sadio (ou mesmo de amostras de abatedouros), podendo permanecer até 9 horas à temperatura ambiente ou 24 horas sob refrigeração.

Um animal adulto deve receber um mínimo de 3 L, preferencialmente de 8 a 16 L, repetindo de acordo com a resposta do paciente, em dias sucessivos.

O uso de preparações probióticas, pode ser utilizado caso não seja possível obter fluido ruminal, sem substituí-lo completamente

por possuir um número menor de espécies microbianas.

Nos casos mais graves pode-se recomendar antes do fornecimento do fluido ruminal, que seja realizada uma rumenotomia para a retirada do conteúdo pútrido, fornecendo uma quantidade maior de fluido ruminal. Deve-se levar em consideração o estado geral do animal, se ele resistirá a uma cirurgia, e também a viabilidade econômica do procedimento.

Havendo necessidade (animais com prolongada anorexia ou em que presume-se deficiência de eletrólitos), pode-se administrar 20-30 L via oral de soluções isotônicas à base de sais de sódio e potássio.

#### Prevenção

Recomenda-se sempre ter um balançamento nutricional da dieta dos animais, visando às exigências proteicas, uma vez que um excesso de proteína encarece o sistema de produção, além de causar no animal maior gasto de energia para liberar o excedente de proteína.

Deve-se conhecer a qualidade do alimento e da água que estão sendo fornecidos ao animal. Quando for utilizar ureia na ração, implementar de forma gradual para a adaptação da flora ruminal, juntamente com alimentos que ofereçam energia disponível para que ocorra a completa utilização da ureia.

Cuidar para que os armazéns fiquem bem fechados, evitando que os animais acidentalmente entrem, ingerindo alimentos que possam trazer prejuízos a sua saúde ou causar desperdício.

## Abordagem laboratorial dos desequilíbrios acidobásicos

Como princípio geral da compensação acidobásica, deve-se considerar que na alteração de um dos termos da relação  $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$ , o organismo causa uma alteração compensatória do outro termo. A compensação não tende a restabelecer as concentrações normais de  $\text{HCO}_3^-$  e de  $\text{CO}_2$ , mas sim a manter a relação constante, isto é, a compensação é uma alteração secundária que tem o efeito de equilibrar a alteração primária. Mudanças na concentração de  $\text{HCO}_3^-$  são compensadas com mudanças na concentração de  $\text{CO}_2$  na mesma proporção.

A medição de  $\text{HCO}_3^-$  no sangue é da maior importância na clínica, porque indica a capacidade do organismo em manejar quantidades adicionais de ácidos orgânicos. Como escreve Baggott (1992), “[...] medir somente o pH é como caminhar sobre uma fina camada de gelo: podemos observar se ainda estamos ou não na superfície, mas não podemos ter uma ideia de quando pode ocorrer o afundamento”. O conhecimento da  $[\text{HCO}_3^-]$  dá uma informação equivalente a conhecer quão perto se está da ruptura do gelo e quão profunda está a água embaixo. Valores de  $\text{HCO}_3^-$  muito distantes da normalidade com valores anormais de pH e  $\text{CO}_2$  indicam que os mecanismos compensatórios não estão acionados, o que pode acontecer, por exemplo, em quadros de acidose ou alcalose mistos, respiratórias e metabólicas (Quadro 7). Nesses casos, a avaliação clínica é fundamental para entender a causa primária do transtorno. Algumas vezes o problema pode ocorrer pela resposta compensatória. A concentração de bicarbonato e de  $\text{pCO}_2$  variam na mesma direção em desequilíbrios acidobásicos primários. Nos transtornos mistos, eles se afastam em direções opostas. Nos desequilíbrios mistos é útil determinar o *anion gap*  $[(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)]$ . Quando a mudança no

QUADRO 7 – PRINCIPAIS QUADROS PATOLÓGICOS QUE CURSAM COM ALTERAÇÕES DO EQUILÍBRIO ACIDOBÁSICO E HIDROELETROLÍTICO.

Quadro patológico	Tipo de alteração
Diarreia	desidratação, hipo ou hipercalemia, hiponatremia, acidose metabólica (perda de bicarbonato e redução na excreção de H <sup>+</sup> ), azotemia pré-renal
Torção de abomaso (bovinos)	hipocloremia (sequestro de Cl <sup>-</sup> no abomaso), hipocalemia, alcalose metabólica (aumento de bicarbonato, com urina ácida), desidratação
Acidose láctica (ruminantes)	acidose metabólica, desidratação
Anestesia em sistema fechado (equinos)	acidose respiratória
Obstrução intestinal (equinos)	acidose metabólica, desidratação
Exercício extenuante	acidose metabólica (acúmulo de lactato)
Insuficiência renal	desidratação (com isostenúria), acidose metabólica (redução na excreção de H <sup>+</sup> e na reabsorção de bicarbonato), hipercalemia, hiponatremia
Vômito	desidratação, alcalose metabólica (por perda de ácido), hipocalemia, hipocloremia
Diabetes mellitus	acidose metabólica (cetoacidose), hiponatremia (por diurese), hipercalemia (com hipocalemia após correção da acidose)
Diabetes insípida	desidratação
Insuficiência adrenal (Síndrome de Adisson)	hipercalemia, hiponatremia, hipovolemia, desidratação
Choque hipovolêmico	acidose metabólica (por hipóxia tissular, com acúmulo de CO <sub>2</sub> )
Insuficiência cardíaca congestiva	desidratação (por aumento de fluido extracelular com hipoproteinemia)
Anorexia	desidratação com tendência à acidose metabólica

*anion gap* não vai no mesmo sentido que a mudança de bicarbonato, há suspeita de um desequilíbrio acidobásico misto.

### Gasometria

A coleta para provas de gasometria deve ser em tubos heparinizados. Em veterinária, é melhor coletar sangue arterial (artéria femoral em cães), levando em conta que anestesiar o animal altera o estado acidobásico do sangue. Entretanto, pode-se utilizar sangue venoso, pois a diferença de pH entre sangue arterial e venoso é pequena. A amostra de sangue deve estar livre de ar, acondicionado em isopor com gelo e enviado imediatamente ao

laboratório em um período de até 3 horas. Os aparelhos de gasometria, em geral, fornecem os seguintes dados: pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, excesso de base (EB), hemoglobina, *anion gap*, sódio, potássio e cloreto. Uma limitante deste exame é o custo do equipamento e do exame. Valores de referência para várias espécies são mostrados na Tabela 5.

O cálculo da diferença aniônica (*anion gap*) se usa para classificar os desequilíbrios como acidose metabólica devida à perda de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ou ao excesso de ácidos orgânicos, alcalose metabólica ou transtornos acidobásicos mistos. O valor de *anion gap* normal (10-20 mmol/L) pode aumentar em acidose metabólica (cetósica ou láctica), no choque

TABELA 5 – VALORES DE REFERÊNCIA DE GASOMETRIA EM SANGUE PARA VÁRIAS ESPÉCIES.

Parâmetro	Bovinos	Ovinos	Caninos	Felinos	Equinos
pH	7,29 - 7,40	7,28 - 7,42	7,31 - 7,42	7,24 - 7,40	7,32 - 7,44
HCO <sub>3</sub> (mmol/L)	20 - 29	19 - 25	18 - 24	17 - 24	24 - 30
EB* (mm/L)	-2,3 a 3,7	-4,0 a 2,0	-3,0 a 2,0	-5,0 a 2,0	-0,04 a 6,4
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	35 - 44	37 - 46	29 - 42	29 - 42	38 - 46
pO <sub>2</sub> (mmHg)	80 - 102	83 - 95	50,97	27-112	31-46,1
Anion gap (mmol/L)	13,9 - 20,2	12-24	15 - 25	15 - 25	6,6 - 14,7
Osmolalidade (mOsm/kg)	270 - 300	280-300	280 - 305	280 - 305	270 - 300

\*Excesso de base.

hipovolêmico, em exercício intenso, na diabetes mellitus e em intoxicações (salicilatos, paraldeído, metaldeído, metanol, etileno-glicol). O *anion gap* pode diminuir em gamapatia policlonal (aumentam proteínas catiônicas), em hipoalbuminemia (diminuem proteínas aniônicas e aumenta Cl<sup>-</sup> para compensar) e na acidose metabólica hiperclorêmica de origem gastrointestinal ou renal (perda de fluidos e bicarbonato).

O excesso de base (EB) é um cálculo que apoia a identificação de acidose ou alcalose metabólica. Trata-se de uma quantificação da proporção de bases no sangue, calculada sob condições padronizadas de pCO<sub>2</sub> e de temperatura. O EB é medido pela quantida-

de de ácido clorídrico necessário para atingir pH 7,4, a pCO<sub>2</sub> 40 mmHg e temperatura de 37 °C. O valor de referência de EB (0 e -4,0 mmol/L) tem estreita relação com os valores de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, onde EB de 0 mmol/L equivale a 24 mmol/L. Valor aumentado de EB indica alcalose metabólica e valor diminuído indica acidose metabólica. O EB indica indiretamente a quantidade de tampões existentes no sangue. Por isso, os valores de referência são em torno de zero. Quanto mais negativos forem os valores de EB, maior a perda de reserva de tampões no sangue, isto é, maior o grau de acidose. Inversamente, valores mais positivos de EAB indicam quadro de alcalose. O EB é importante para o cálculo da quantidade de tampão necessário para infundir em um animal com desequilíbrio acidobásico.

## REFERÊNCIAS

- ALBERTY, R. A.; CORNISHBOWDEN, A. The pH dependence of the apparent equilibrium constant,  $K'$ , of a biochemical reaction. *Trends Biochem. Sci.*, v. 18, p. 288-290, 1993.
- ARGENZIO, R. A. Pathophysiology of neonatal calf diarrhea. *Vet. Clin. North Am. (Food Anim. Pract.)*, v. 1, p. 461-469, 1985.
- BAGGOTT, J. Gas transport and pH regulation. In: T. M. Devlin (Ed.) *Textbook of biochemistry with clinical correlations*. New York: Wiley-Liss, 1992.
- BERCHTOLD J. Intravenous fluid therapy of calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 15, n. 3, p. 505-531, 1999.
- BOUDA, J. et al. Pathophysiology of severe diarrhea and suggested intravenous fluid therapy in calves of different age under field conditions. *Acta Vet. (Brno)*, v. 66, p. 87-94, 1997.
- BROSSARD, L.; MARTIN, C.; MICHALET-DOREAU, B. Ruminal fermentative parameters and blood acid-basic balance changes during the onset and recovery of induced latent acidosis in sheep. *Anim. Res.*, v. 52, p. 513-530, 2003.
- CARLSON, G. P. Fluid, electrolyte, and acid-base balance. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5.ed. New York: Academic Press, 1997.
- COLES, E. H. *Veterinary clinical pathology*. Philadelphia (USA), W.B. Saunders Company, 1986.
- CONSTABLE, P. D. et al. Use of hypertonic saline-dextran solution to resuscitate hypovolemic calves with diarrhea. *American Journal of Veterinary Research*, v. 57, p. 97-104, 1996.
- CONSTABLE, P. D. et al. Clinical and laboratory assessment of hydration status of neonatal calves with diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 212, p. 991-996, 1998.
- CONSTABLE, P. D. Fluid and electrolyte therapy in ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 19, p. 557-597, 2003.
- COTTEE, G. et al. The effects of subacute ruminal acidosis on sodium bicarbonate-supplemented water intake for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 87, p. 2248-2253, 2004.
- DAVENPORT, H. W. *The ABC of acid-base chemistry*. (6th ed.) Chicago. University of Chicago Press, 1974.
- DIBARTOLA, S. P. (Ed.). *Fluid therapy in small animal practice*. 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2000.
- ECKE, P.; HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Induced diarrhea in horses. Part 1: fluid and electrolyte balance. *The Veterinary Journal*, v. 155, p. 149-159, 1998.
- ENEMARK, J. M. D.; JØRGENSEN, R. J.; KRISTENSEN, N. B. An evaluation of parameters for the detection of subclinical rumen acidosis in dairy herds. *Vet. Res. Commun.*, v. 28, p. 687-709, 2004.
- ENEMARK, J. M. D.; JØRGENSEN, R. J. Subclinical rumen acidosis as a cause of reduced appetite in newly calved dairy cows in Denmark: Results of a poll among Danish dairy practitioners. *Vet. Quart.*, v. 23, p. 206-210, 2000.
- FERNBACH, A.; HUBERT, L. De l'influence des phosphates et de quelques autres matières sur la diastase protéolytique du malt. *Compt. Rend. Acad. Sci.*, v.131, p.293-295. 1900.
- GARRET, E. F. et al. Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 82, p. 1170-1178, 1998.
- KASARI, T. R. Metabolic acidosis in diarrheic calves: The importance of alkalizing agents in therapy. *Vet. Clin. North Am. (Food Anim. Pract.)*, v. 6, p. 29-43. 1990.
- KASARI, T. R. Metabolic acidosis in calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 15, p. 473-486, 1999.

- KASARI, T. R.; NAYLOR, J. M. Clinical evaluation of sodium bicarbonate, sodium L-lactate, and sodium acetate for the treatment of acidosis in diarrheic calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 187, p. 392-397, 1985.
- KEUNEN, J. E. et al. Short communication: Effects of subacute ruminal acidosis on free-choice intake of sodium bicarbonate in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 86, p. 954-957, 2003.
- KEZAR, W. W.; CHURCH, D. C. Ruminal changes during the onset and recovery of induced lactic acidosis in sheep. *Journal of Animal Science*, v. 49, p. 1161-1167, 1979.
- KLEEN, J. L. et al. P. Subacute Ruminal Acidosis (SARA): a review. *Vet. Med. A*, v. 50, p. 406-414, 2003.
- KRAUSE K.M.; OETZEL, G. R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, v. 126, p. 215-236, 2006.
- KRAUSE, K. M.; OETZEL, G. R. Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 88, p. 3633-3639, 2005.
- LEAL, M. L. R.; MORI, C. S.; ORTOLANI, E. L. Estudo da capacidade alcalinizante de tampões metabolizáveis em bovinos sadios. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, p. 965-970, 2007.
- LEAL, M. L. R.; MARUTA, C. A.; ORTOLANI, E. L. Uso de bicarbonato e lactato-L para correção da acidose metabólica sistêmica em bovinos com acidose láctica ruminal aguda. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, p. 971-976, 2007.
- MICHELL, A. R. et al. *Veterinary fluid therapy*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1989.
- MONTGOMERY, R. et al. *Biochemistry, a case-oriented approach*. Saint Louis (USA): The C.V. Mosby Co., 1980.
- MONTIANI, F.; PACHALY, J. R. *Manual de fluidoterapia em pequenos animais*. São Paulo: Ed. Guará, 2000. 80p.
- NAYLOR, J. M. A retrospective study of the relationship between clinical signs and severity of acidosis in diarrheic calves. *Canadian Veterinary Journal*, v. 30, p. 577-580, 1989.
- NOCEK, J. E. Bovine acidosis: Implications on laminitis. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p.1005-1028, 1997.
- ROUSSEL, A. J.; KASARI, T. R. Using fluid and electrolyte replacement therapy to help diarrheic calves. *Vet. Med.*, v. 85, p. 303-311, 1990.
- OWENS, F. N. et al. Acidosis in cattle: a review. *J. Anim. Sci.*, v. 76, p. 275-286, 1998.
- PATRA, R. C.; LAL, S. B.; SWARUP, D. Biochemical profile of rumen liquor, blood and urine in experimental acidosis in sheep. *Small Ruminant Res.*, v. 19, p. 177-180, 1996.
- SKINNER, H. A. *The origin of medical terms*. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 1961.
- STILLINGER, F. A. Water revisited. *Sci.*, v. 209, p. 451-457, 1980.
- UNDERWOOD, W. J. Rumen lactic acidosis. Part 1. Epidemiology and pathophysiology. *Compendium on Continuing Education for the Practice Veterinary*, v. 14, p. 1127-1133, 1992
- WIGGINS, P. M. Role of water in some biological processes. *Microbiol. Rev.*, v. 54, p. 432-449, 1990.





### INTRODUÇÃO

As proteínas são as macromoléculas mais abundantes nos seres vivos, constituindo cerca de 50 % do peso vivo (em base seca). São também as biomoléculas mais versáteis quanto à funcionalidade, e essa versatilidade funcional está determinada pelo número, a classe e a sequência dos aminoácidos que compõem suas unidades estruturais.

### Os aminoácidos como unidades básicas das proteínas

Todas as proteínas estão constituídas a partir de 20 tipos de aminoácidos, unidos por ligações peptídicas, variando nas diferentes proteínas tão somente o número e a sequência dos aminoácidos. Os aminoácidos são moléculas pequenas, com peso molecular médio de 130 Dal; todos têm em comum a presença de um grupo carboxila e de um grupo amina unidos ao mesmo carbono (carbono  $\alpha$ ) e diferem entre si na estrutura do seu grupo residual (grupo R).

Além dos 20 aminoácidos que fazem parte das proteínas (aminoácidos proteicos), existem outros aminoácidos que têm funções metabólicas diversas, como, por exemplo, a ornitina e a citrulina, que são metabólitos intermediários do ciclo da ureia. Os aminoácidos proteicos, com suas respectivas abreviaturas e símbolos, são apresentados no Quadro 1.

### Classificação dos aminoácidos

Os aminoácidos estão classificados em cinco grupos, em função da estrutura de seus grupos residuais (grupos R), de acordo com a polaridade e a carga, como segue:

(a) Aminoácidos não-polares (Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Pro): seus grupos R são alifáticos e hidrofóbicos; a glicina é o aminoácido mais simples; a prolina é um iminoácido (grupo amina secundário), pois o carbono  $\alpha$  está unido com o extremo do grupo R, ciclizando a molécula e deixando-a mais rígida.

(b) Aminoácidos polares sem carga (Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln): são hidrofílicos e sua polaridade pode ser dada pelos grupos hidroxila, amida ou sulfidril (tiol), que formam pontes de H com a água; asparagina e glutamina são amidas dos ácidos aspártico e glutâmico, respectivamente; a cisteína pode sofrer oxidação em seu grupo sulfidril (SH) e formar um composto dimérico (Cys-Cys ou cistina) por união de duas cisteínas mediante uma ponte dissulfeto (S-S); essas pontes são comuns nas proteínas e contribuem para estabilizar a molécula.

(c) Aminoácidos carregados negativamente ou aminoácidos ácidos (Asp, Glu): a carga está determinada pelos grupos carboxila ionizados.

(d) Aminoácidos carregados positivamente ou aminoácidos básicos (Lys, Arg, His): a carga positiva está determinada pelos grupos amina (Lys), guanidino (Arg) ou imidazol (His).

(e) Aminoácidos aromáticos (Phe, Tyr, Trp): são relativamente não-polares; tirosina e triptofano têm maior polaridade que a fenilalanina; os anéis aromáticos destes aminoácidos absorvem a luz ultravioleta a 280 nm, constituindo-se na base para a análise de proteínas, usando a espectrofotometria de luz ultravioleta (UV).

Os mamíferos não podem sintetizar todos os aminoácidos que formam parte das proteínas. Dez dos 20 aminoácidos proteicos

(Quadro 2) são aminoácidos essenciais, isto é, devem ser incorporados na dieta. Sem estes aminoácidos o organismo não pode sintetizar as proteínas de reposição e as requeridas nos processos de crescimento ou aqueles que exigem síntese proteica (gestação, lactação, etc.).

A arginina pode ser considerada como um aminoácido não-essencial nos adultos. Porém, durante o crescimento, não são sintetizadas quantidades adequadas deste aminoácido, tornando-o essencial em animais

QUADRO 1 - AMINOÁCIDOS COMPONENTES DAS PROTEÍNAS

<b>Aminoácido</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Símbolo</b>
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Aspártico	Asp	D
Cisteína	Cys	C
Fenilalanina	Phe	F
Glicina	Gly	G
Glutâmico	Glu	E
Glutamina	Gln	Q
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Tirosina	Tyr	Y
Treonina	Thr	T
Triptofano	Trp	W
Valina	Val	V

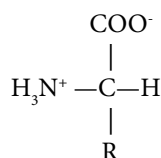
QUADRO 2 – AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS E NÃO-ESSENCIAIS NOS MAMÍFEROS

Aminoácidos Essenciais	Aminoácidos Não-Essenciais
Arginina	Alanina
Histidina	Aspártico
Isoleucina	Asparagina
Leucina	Glutâmico
Lisina	Glutamina
Metionina	Cisteína
Fenilalanina	Glicina
Treonina	Prolina
Triptofano	Serina
Valina	Tirosina

jovens. Os requerimentos da metionina aumentam se a dieta não incorpora cisteína, aminoácido que é sintetizado a partir da metionina. Efeito similar acontece com a fenilalanina, cujos requerimentos aumentam quando não é fornecida tirosina na dieta. A glicina é aminoácido essencial nas aves.

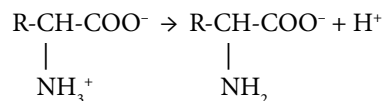
### Propriedades químicas dos aminoácidos

Os aminoácidos podem estar ionizados em soluções aquosas, em pelo menos dois grupos ionizáveis: o grupo ácido e o grupo amina do carbono  $\alpha$ :

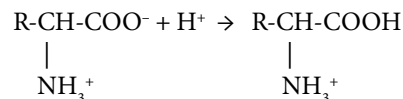


Por ter duas cargas elétricas opostas, a forma completamente ionizada chama-se íon dipolar ou zwitterion (íon híbrido). Essa característica influi para aumentar o ponto de fusão dos aminoácidos livres, pois

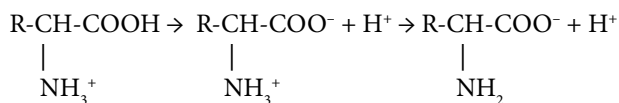
as cargas fazem mais estáveis e unidas as moléculas entre si. Os  $\alpha$ -aminoácidos em forma dipolar podem atuar como ácidos ao cederem prótons e como bases ao aceitarem prótons, tendo portanto dupla propriedade, razão pela qual são chamados de compostos anfóteros, isto é, que atuam como ácido ou como base. O aminoácido em forma de zwitterion que cede o H do grupo amina atuaria como ácido:



Por outro lado, atuaria como base o aminoácido zwitterion que aceita um  $\text{H}^+$  no seu grupo carboxila ionizado:



A forma completamente protonada dos aminoácidos pode ceder 2 íons  $\text{H}^+$  e, portanto, comportar-se como ácido diprótico:



As três possíveis formas de protonação fazem com que os aminoácidos tenham uma curva de titulação típica dos seus dois grupos ionizáveis. Nessa curva, há duas planícies correspondentes às zonas com maior capacidade tamponante. No primeiro estágio, titulação do grupo carboxila, este grupo, em pH=1, encontra-se completamente protonado (com carga positiva). À medida que se adiciona OH<sup>-</sup> (base para neutralizar o ácido) ao sistema, começa a ocorrer perda de prótons (ionização) do grupo carboxila, o qual é o primeiro a dissociar-se, até chegar ao ponto médio da titulação (pK<sub>1</sub>), isto é, quando existem quantidades equimolares das formas doadora e receptora de prótons do grupo carboxila:

$$\frac{\text{R-CH(NH}_3^+)\text{COOH}}{\text{R-CH(NH}_3^+)\text{COO}^-} = 1$$

É possível continuar com a titulação do grupo carboxila até atingir o ponto de completa ionização. Nesse ponto, a forma do aminoácido é dipolar isoelétrica, e este valor de pH conhece-se como o ponto isoelétrico. No segundo estágio da titulação começa a ocorrer perda de prótons do grupo amina (titulação do grupo NH<sub>3</sub><sup>+</sup>): ao chegar ao ponto médio da titulação (pK<sub>2</sub>) haverá quantidades equimolares das formas doadora e receptora de prótons do grupo amina:

$$\frac{\text{R-CH(NH}_3^+)\text{COO}^-}{\text{R-CH(NH}_2)\text{COO}^-} = 1$$

A titulação é finalizada próximo de pH 12, em que a forma predominante do aminoácido está completamente desprotonada

(com carga negativa). Mediante a equação de Henderson Hasselbalch é possível calcular a proporção das formas receptor/doador de prótons a um determinado pH. O pH do meio determina o estado de protonação dos grupos amina e carboxila dos aminoácidos e, portanto, determina sua carga elétrica. Essa característica é importante para os métodos de análise dos aminoácidos, pois cada aminoácido tem diferentes pKs para seus grupos amina e carboxila e para aqueles grupos susceptíveis de serem ionizados existentes nos seus resíduos.

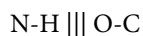
### Aminogramas

Os métodos de análise para aminoácidos exploram a característica de ter carga elétrica em função do pH do meio. Assim, um dos métodos mais usados, a cromatografia de troca iônica, usa resinas de troca catiônica, isto é, grupos com carga negativa como o sulfonato (SO<sub>3</sub><sup>-</sup>), os quais atraem íons positivos (cátions). Se a solução com a mistura de aminoácidos a ser analisada está em um pH ácido (por exemplo, pH 3,0) então a maioria dos aminoácidos estarão protonados (com carga positiva), embora com cargas elétricas de diferente valor entre os diferentes aminoácidos. A interação entre os aminoácidos e a resina de troca catiônica será específica para cada um, sendo mais forte entre os aminoácidos básicos (com maior carga positiva) do que entre os aminoácidos ácidos (com maior carga negativa). O tampão usado para eluir os aminoácidos pode modificar seu pH, por exemplo aumentando e, portanto, modificando a carga elétrica dos aminoácidos que estão interagindo com a resina, para assim terminar de eluir todos os aminoácidos. Esse é o princípio do analisador automático de aminoácidos, o qual usa geralmente três tipos de tampão em sequência de pHs 3,25,

4,25 e 5,28. A ordem de eluição dos aminoácidos é: Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Cys, Val, Met, Ile, Leu, Tyr, Phe, Lys, His, Arg. Os aminoácidos eluídos são posteriormente analisados fotometricamente ao reagirem com a ninidrina, composto que gera um complexo de cor roxa que é lido a 570 nm e cuja intensidade de cor é proporcional à concentração do aminoácido.

## Peptídeos e proteínas

Os aminoácidos podem unir-se entre si covalentemente através de ligações peptídicas, nas quais o grupo  $\alpha$ -carboxila de um aminoácido se condensa com o grupo  $\alpha$ -amina de outro aminoácido, com a saída de uma molécula de água. A união peptídica é rígida e não pode rotar porque a união C-N tem um caráter parcialmente duplo, fazendo ressonância com a união C=O. Esta limitação para rotar diminui o número de possíveis conformações que as proteínas podem tomar. Existe um pequeno dipolo na união peptídica devido às cargas parciais sobre os átomos de oxigênio ( $\delta^-$ ) e de nitrogênio ( $\delta^+$ ), o que permite a formação de pontes de H entre diferentes ligações peptídicas, isto é, entre o H unido ao N de uma união com o O unido ao C de outra união:



Os peptídeos têm comprimento variado em função do número de aminoácidos que os conformam: podem ser dipeptídeos (2 aminoácidos), tripeptídeos (3 aminoácidos), tetrapeptídeos (4 aminoácidos), etc., até oligopeptídeos (10-20 aminoácidos) ou polipeptídeos, os quais têm pesos moleculares de até 10.000 (por volta de 90 aminoácidos). Polipeptídeos maiores com função conhecida podem considerar-se proteínas. Por convenção, a leitura da sequência dos aminoácidos de um

peptídeo é feita da esquerda (extremo amina) à direita (extremo carboxila). Existem alguns peptídeos pequenos com atividade biológica, principalmente tendo funções de hormônios ou de transmissores nervosos (como a ocitocina ou as endorfinas). Alguns hormônios peptídicos de baixo peso molecular incluem a insulina (51 aminoácidos), o glucagon (29 aminoácidos), o ACTH (39 aminoácidos), o GnRH (10 aminoácidos), a ocitocina (9 aminoácidos) e o TRH (com 3 aminoácidos é o menor hormônio peptídico).

## Classificação das proteínas

As proteínas podem classificar-se pela forma e pela solubilidade:

(1) Pela forma, as proteínas podem ser fibrosas e globulares. As proteínas fibrosas são insolúveis em água, longas e resistentes, geralmente constituindo estruturas como a  $\alpha$ -queratina do pelo e da lã, a fibroína da seda ou o colágeno do tecido conectivo. Em ocasiões também participam de processos contráteis como a miosina e a actina do músculo ou as proteínas dos microtúbulos (tubulina e dineína). As proteínas globulares são solúveis em sistemas aquosos e dobram-se sobre si para dar uma forma esférica. A maioria das proteínas são de tipo globular, incluindo as enzimas, os hormônios proteicos, as proteínas transportadoras, os anticorpos, e as proteínas de membranas e ribossomos.

(2) Pela solubilidade as proteínas podem ser: (a) albuminas: solúveis em água e soluções salinas; (b) globulinas: pouco solúveis em água, mas solúveis em soluções salinas; (c) prolaminas: solúveis em soluções de etanol a 70 %, mas insolúveis em água, sendo ricas em arginina; (d) histonas: proteínas básicas, solúveis em soluções salinas; (e) escleroproteínas: insolúveis em água e soluções salinas, são ricas em glicina, alanina e prolina.

## Níveis de organização estrutural das proteínas

A organização tridimensional que tomam as proteínas é fundamental para sua atividade, sendo dependente das interações que existem entre os resíduos dos aminoácidos. Portanto, essa organização depende dos aminoácidos que conformam as proteínas e de como esses aminoácidos interagem entre si para dar uma conformação determinada. Uma mudança na conformação geralmente leva à inatividade da proteína. As proteínas com sua conformação funcional, isto é, aquela necessária para sua atividade biológica, denominam-se proteínas nativas. Existem 4 níveis de estruturação das proteínas:

1. Estrutura primária: diz respeito ao número, tipo e sequência dos aminoácidos que conformam a proteína, bem como à localização das ligações dissulfeto e às ligações intra e intercatenárias, as quais podem ser ligações não covalentes, tais como pontes de H, interações iônicas, interações hidrofóbicas e interações de Van Der Waals. A estabilidade de uma proteína está definida pela soma da energia livre de formação das ligações. Apesar de as ligações covalentes terem maior variação de energia livre de formação ( $\Delta G = -200$  a  $-460$  kJ/mol) do que as ligações não covalentes ( $\Delta G = -4$  a  $-30$  kJ/mol) e serem, portanto, mais fortes, a estabilidade estrutural da proteína está determinada pelas ligações fracas formadas entre os resíduos dos aminoácidos, pois essas acontecem em grande número. Em geral, os resíduos hidrofóbicos localizam-se no lado interior da proteína, enquanto os resíduos hidrofílicos estão no exterior em contato com a água.

2. Estrutura secundária: é a relação estérica ou espacial que têm os aminoácidos entre si, podendo ser em forma muito ordenada, como na queratina, orientados em uma espiral em forma de  $\alpha$ -hélice ao longo de um eixo ( $\alpha$ -hélice). Estas estruturas são muito

estáveis e rígidas, mantidas por pontes de H. A formação da estrutura de  $\alpha$ -hélice é desfavorecida pelos seguintes eventos: repulsão ou atração eletrostática entre resíduos de aminoácidos carregados, resíduos de aminoácidos volumosos e presença de prolina. As proteínas também podem estar ordenadas em forma de folha pregada (conformação  $\beta$ ), a qual é uma estrutura mais estendida do que a estrutura  $\alpha$ -hélice, tal como é observada na fibroína da seda ( $\beta$ -queratina) organizada em forma de ziguezague, e não em forma de hélice, também mantida por pontes de H. Outra forma de organização é a conformação chamada duplaz  $\beta$ , que consiste em um duplaz (giro) de  $180^\circ$  da cadeia envolvendo aminoácidos ligados a um extremo de uma cadeia de folha pregada  $\beta$ . As três formas de estrutura secundária podem coexistir na mesma proteína e são igualmente importantes na função da macromolécula.

3. Estrutura terciária: é consequência direta da estrutura secundária e corresponde à relação estérica total da proteína, ou seja, estabelecendo as regiões ou domínios da molécula. Dependendo da proporção de formas estruturais secundárias, as proteínas podem dar estruturas terciárias correspondentes a proteínas fibrosas ou globulares. Mediante estudos de difração de raios X foi possível determinar para as proteínas globulares a proporção de  $\alpha$ -hélice e de conformação  $\beta$ , bem como o número e a posição de duplaz  $\beta$ , e inclusive a proporção de regiões dobradas irregularmente ou a proporção de segmentos estendidos. Na conformação da estrutura terciária das proteínas também influi a classe de resíduos dos aminoácidos, os quais se organizam em função de sua polaridade: hidrofílicos na superfície externa da proteína, hidrofóbicos no interior da proteína e os de polaridade intermediária, em ambos os lados da proteína.

4. Estrutura quaternária: esta estrutura é exclusiva das proteínas oligoméricas, ou seja,

aquelas que possuem mais de uma cadeia unidas por ligações covalentes. Os protômeros se inter-relacionam principalmente mediante ligações fracas não covalentes ou também por ligações dissulfeto. Existem algumas proteínas que possuem grupos químicos diferentes de aminoácidos, tais como lipídeos, carboidratos ou metais, chamadas de proteínas conjugadas, sendo seu grupo não peptídico o grupo prostético. Exemplos de proteínas conjugadas (e grupos prostéticos) são: as lipoproteínas (lipídeos), glicoproteínas (carboidratos), metaloproteínas (metais), fosfoproteínas (fosfatos), hemoproteínas (grupo heme) ou flavoproteínas (nucleotídeos flavínicos).

### Solubilidade das proteínas

A solubilidade das proteínas globulares está afetada pelos seguintes fatores:

1. Adição de sais: pode aumentar (*salting in*) ou diminuir (*salting out*) a solubilidade de uma proteína. No caso do *salting out* ocorre precipitação da proteína pois os íons do sal concorrem com a proteína pelas moléculas de água que as rodeiam, permitindo que as partículas de proteína cheguem perto umas das outras, agrupando-as e precipitando-se. Esta técnica é usada para fracionar proteínas em solução, pois as propriedades de solubilidade variam dependendo de cada proteína.
2. Adição de solventes orgânicos: os solventes orgânicos têm baixa constante dielétrica, isto é, têm pouca capacidade para manter duas cargas separadas, permitindo que as moléculas de proteína interajam e precipitem.
3. Aquecimento: em forma moderada, o calor ajuda a dissolver as proteínas, porém ultrapassando certo limite, o qual varia conforme a proteína, ocorre desnaturação da proteína. A proteína desnaturada perde sua estrutura terciária devido à perda das

interações fracas, ou seja, desdobra-se formando uma estrutura aleatória e precipitando-se, embora sem perder sua estrutura primária, isto é, sem ocorrer ruptura das ligações peptídicas e, portanto, sem perda de suas características nutricionais. Todavia, na desnaturação ocorre perda da ação biológica da proteína, pois essa ação depende da estrutura terciária (proteína nativa).

4. Variação do pH: o pH afeta o grau de ionização dos grupos dissociáveis nos resíduos dos aminoácidos, isto é, o pH afeta a carga das proteínas. O ponto isoelétrico (pI) de uma proteína é o pH no qual a carga líquida da proteína é igual a zero. Geralmente nesse pH as moléculas da proteína se agrupam e se precipitam, pois são afetadas as uniões eletrostáticas que mantêm a estrutura terciária da proteína. As características elétricas das proteínas são uma propriedade que é utilizada para separá-las mediante a técnica de eletroforese. Nessa técnica as proteínas migram num suporte submetido a um campo elétrico, separando-se em função de sua carga e seu peso, tingindo-as depois para serem visualizadas.

### Funções das proteínas

As proteínas são as moléculas mais abundantes e mais versáteis das células; entre suas múltiplas funções estão as seguintes:

- Estrutura: muitas proteínas servem de suporte estrutural ou protetor em diversos organismos: colágeno em tendões, cartilagens e tecido conjuntivo; elastina em ligamentos; queratina em chifres, cascos, pelo, penas, unhas e carapaças; fibroína na seda e nas teias de aranha; resilina nas asas dos insetos.
- Hormônios: grande número de hormônios são proteínas ou peptídeos; os órgãos endócrinos que produzem hormônios proteicos incluem o hipotálamo, a hipófise, o pâncre-



as, a paratireoide, o trato gastrointestinal e a placenta.

- **Enzimas:** estes compostos exemplificam a grande diversidade de proteínas existente, já que são catalisadores biológicos altamente específicos para cada substrato. Atualmente existem mais de 2.000 enzimas classificadas.
- **Transporte:** as proteínas no sangue são o veículo de transporte de muitos nutrientes; as lipoproteínas transportam triglicerídeos, fosfolípidos e colesterol; a hemoglobina transporta  $O_2$  dentro dos eritrócitos; a transferrina transporta ferro; a ceruloplasmina transporta cobre; a albumina transporta ácidos graxos, cálcio e hormônios esteroidais; certos tipos de globulinas são transportadas de hormônios esteroides e tireoidianos.
- **Receptores:** muitos hormônios atuam através de receptores proteicos localizados nas membranas plasmáticas, no citosol ou no núcleo das células-alvo.
- **Defesa:** as imunoglobulinas ou anticorpos são proteínas produzidas pelos linfócitos B especializadas em defender o organismo de elementos estranhos. O fibrinogênio e a trombina são proteínas de defesa que atuam na coagulação sanguínea.
- **Contração:** actina e miosina são proteínas que fazem parte da estrutura da célula muscular e são responsáveis pela propriedade de contração muscular. A tubulina e a dineína são também proteínas contráteis que atuam em cílios e flagelos, e também na cauda dos espermatozoides para permitir a sua locomoção.
- **Reserva:** a albumina é uma proteína do sangue que serve como armazenadora de aminoácidos; a ovoalbumina é proteína de reserva de nutrientes no ovo; e a caseína tem esta função no leite; a ferritina é uma proteína que armazena ferro.

## DIGESTÃO E ABSORÇÃO DAS PROTEÍNAS

### Animais monogástricos

As proteínas que chegam no trato gastrointestinal dos animais monogástricos são atacadas em primeira instância no estômago pelo ácido clorídrico (HCl), secretado pelas células parietais das glândulas gástricas, o que causa desnaturação proteica. Também atua a pepsina, enzima proteolítica de 33 kDal de peso molecular, secretada pelas células principais do epitélio gástrico na forma de pepsinogênio (peso molecular 40 kDal), o qual é rapidamente ativado à pepsina devido ao meio ácido do estômago (pH em torno de 2). A contribuição do estômago para o processo digestivo das proteínas é de 20 %. A pepsina hidrolisa as proteínas em seu extremo amino-terminal, onde houver aminoácidos aromáticos (Tyr, Phe, Trp). A digestão das proteínas é completada no duodeno, onde as enzimas proteolíticas secretadas pelo pâncreas terminam de hidrolisar os peptídeos. Estas enzimas (tripsina, quimotripsina e carboxipeptidase) são secretadas como zimogênios inativos (tripsinogênio, quimotripsinogênio e pro-carboxipeptidase). O tripsinogênio é ativado à tripsina por uma enzima secretada pelas células intestinais: a enteropeptidase. A tripsina pode ativar o quimotripsinogênio e a pro-carboxipeptidase. A tripsina e a quimotripsina atacam as uniões peptídicas da proteína com diferente especificidade: a tripsina ataca uniões Lys-Arg e a quimotripsina ataca o extremo carboxila onde houver Phe, Tyr ou Trp. A carboxipeptidase, junto com outras enzimas secretadas pelas células da mucosa duodenal, como aminopeptidase e dipeptidase, são exopeptidases, ou seja, atacam somente uniões peptídicas de aminoácidos terminais.

A secreção enzimática está controlada endocrinamente: a atividade secretória no estômago é controlada pela gastrina (17 aminoácidos), hormônio secretado pelas células G da região pilórica do estômago, e que estimula as células parietais para secretar ácido clorídrico. O estímulo para a secreção de gastrina é a presença de proteínas no estômago e a excitação do nervo vago. A colecistoquinina (CCK), hormônio polipeptídico de 33 aminoácidos, é secretada pela mucosa do duodeno e do jejuno, por estimulação vagal e pela presença de peptídeos no trato digestivo; este hormônio estimula a secreção enzimática do pâncreas, além de aumentar a motilidade do estômago e do intestino e de estimular a secreção biliar e a contração vesicular. A ação da CCK é ajudada pela secretina, hormônio intestinal de 27 aminoácidos, que estimula o pâncreas para secretar bicarbonato e assim elevar o pH intestinal para cerca de 7, o qual é o pH ótimo das enzimas proteolíticas do pâncreas. Outros hormônios têm função inibitória sobre a secreção gástrica: a secretina, o GIP (peptídeo gástrico inibitório) e o VIP (peptídeo intestinal vasoativo).

Os produtos resultantes da hidrólise enzimática das proteínas são aminoácidos, dipeptídeos e tripeptídeos, os quais são absorvidos nos 2/3 proximais do intestino delgado. A absorção dos aminoácidos e dos oligopeptídeos produzidos pela hidrólise dos peptídeos se realiza por um mecanismo ativo. Depois de absorvidos, na célula epitelial do intestino delgado realiza-se uma hidrólise total para que somente saiam aminoácidos livres no sistema portal hepático; a única exceção a este tipo de absorção se observa nos mamíferos neonatos, nos quais ocorre absorção de imunoglobulinas do colostro nas primeiras 48 horas de vida, mediante um mecanismo de pinocitose. Este evento é especialmente importante em espécies com

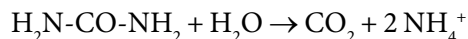
placentação epitélio-corial (ruminantes, porca, égua), nas quais não há mistura de sangue materna e fetal durante a gestação, portanto, não há transmissão placentária de  $\gamma$ -globulinas.

### **Animais ruminantes**

As proteínas que entram no rúmen são rapidamente degradadas pelos microrganismos até aminoácidos, os quais são reutilizados pelas bactérias para sintetizar suas próprias proteínas. Parte dos aminoácidos é degradada até amônia e esqueletos carbonados. Estes últimos sofrem fermentação até ácidos graxos voláteis.

As bactérias do rúmen são especialmente ativas nos processos de síntese proteica e podem utilizar como substratos para essa síntese, além dos aminoácidos, outras fontes de nitrogênio não-proteico (amônia, nitratos, amidas) como precursores para formar novos aminoácidos. Os protozoários suprem suas necessidades de proteínas consumindo bactérias.

A ureia que ingressa no rúmen, seja com a dieta ou através da saliva, é rapidamente atacada pela urease, enzima de origem bacteriana, que a hidrolisa em duas moléculas de amônia, liberando  $\text{CO}_2$ :



O amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) no rúmen, em presença de adequada quantidade de compostos energéticos que sirvam como fonte de esqueletos carbonados, atua como substrato para que as bactérias possam sintetizar aminoácidos, os quais, por sua vez, são necessários para a síntese de proteína bacteriana. O  $\text{NH}_4^+$  em excesso no rúmen é absorvido na forma de amônia ( $\text{NH}_3$ ) e enviado via portal para o fígado, onde se metaboliza em ureia, me-

diante o ciclo da ureia. Esta ureia pode passar à circulação (onde recebe o nome de BUN ou nitrogênio ureico sanguíneo) e pode ser excretada pela urina ou reciclada de novo para o rúmen via sanguínea ou via salivar. Os anteriores fatos permitem que o ruminante possa economizar compostos nitrogenados e obter proteína a partir de fontes de nitrogênio não-proteico, como a ureia, a qual é utilizada como fonte suplementar na dieta desses animais.

A proteína microbiana é digerida no abomaso e no intestino de igual forma que nos monogástricos, com absorção de aminoácidos no duodeno e no jejuno. No ceco, ocorre hidrólise proteica, mas não há absorção de aminoácidos.

#### CATABOLISMO DAS PROTEÍNAS

Os aminoácidos, unidades estruturais das proteínas, podem oxidar-se para contribuir com produção de energia no organismo. As proteínas que se degradam para obter aminoácidos com destino à oxidação podem provir da dieta (proteínas exógenas) ou do próprio organismo (proteínas endógenas). O tipo de alimentação influi marcadamente na origem destas proteínas: os animais carnívoros podem obter 90 % dos requerimentos de energia a partir das proteínas da dieta, enquanto nos herbívoros somente uma pequena fração das necessidades energéticas são cobertas por proteínas exógenas. Também ocorre degradação oxidativa dos aminoácidos quando há um excesso de ingestão de proteínas na dieta e para metabolizar parte dos aminoácidos produzidos na proteólise intracelular, a qual ocorre em todos os tecidos do organismo. A degradação dos aminoácidos inclui sua desaminação. O grupo  $\text{NH}_4^+$  deve ser rapidamente metabolizado devido a sua toxicidade, seja mediante sua incorporação a outros aminoácidos para ser reciclado, seja mediante sua excreção na forma de ureia (nos mamíferos) ou de ácido úrico (nas aves).

#### Catabolismo dos aminoácidos

Os aminoácidos são degradados oxidativamente quando estão em excesso, no caso de dietas com um nível de proteínas que excede às necessidades do organismo, ou em situações em que as necessidades energéticas obrigam a usar aminoácidos como fonte de energia (esgotamento das reservas de glicogênio e de triglicerídeos), ou no caso de proteólise intracelular. Pouco se conhece sobre esta última; sabe-se que ela se realiza a uma velocidade elevada, a qual está evidenciada pelo constante retorno metabólico (*turnover*) das proteínas endógenas. As proteínas endógenas podem sofrer hidrólise até aminoácidos, os quais podem ser reciclados para a síntese de nova proteína, ou funcionar como substratos energéticos. Por outro lado, se o organismo estiver em balanço positivo de proteínas (maior ingresso do que gasto), a proteólise endógena aumenta. Em caso de balanço neutro, a proteólise endógena também ocorre, embora a uma taxa bem menor. Nesse caso, considera-se que a taxa de retorno metabólico diário das proteínas está por volta de 0,6 % do peso corporal (por exemplo, uma vaca de 500 kg degrada 3.000 g de proteína endógena por dia). Em torno de 25 % dessa proteína, na forma de aminoácidos, é completamente oxidada para a produção de energia ou é convertida em precursores gliconeogênicos para a formação de glicose. Os 75 % restantes reciclam-se para formar nova proteína.

A degradação oxidativa dos aminoácidos se realiza por rotas catabólicas específicas, diferentes para cada um dos 20 aminoácidos proteicos, embora todas as rotas converjam em um dos seguintes metabólitos: piruvato, acetil-CoA, ou compostos intermediários do ciclo do ácido cítrico. Com exceção dos que convergem em acetil-CoA, os aminoácidos constituem substratos precursores da gliconeogênese. O grupo amina dos aminoácidos, convertido em amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) excreta-se em

forma de ureia, ácido úrico ou amônia, dependendo da espécie animal.

O catabolismo dos aminoácidos tem lugar no fígado, principalmente, e uma menor parte no rim. A primeira etapa da degradação oxidativa dos aminoácidos é a separação do grupo amina, a qual se realiza mediante duas rotas integradas: transaminação e desaminação oxidativa.

### Transaminação

As reações de transaminação dos diferentes aminoácidos são realizadas por enzimas específicas chamadas transaminases ou aminotransferases, que utilizam como substrato, além do aminoácido, o  $\alpha$ -cetoglutarato, transferindo o grupo amina do aminoácido para o carbono  $\alpha$  do  $\alpha$ -cetoglutarato, formando o  $\alpha$ -cetoácido análogo do aminoácido mais glutamato. As aminotransferases requerem como coenzima o piridoxal-fosfato (forma enzimática da vitamina B<sub>6</sub>), o qual se encontra como grupo prostético das transaminases. Essas enzimas catalisam as reações conhecidas como “reações biomoleculares pingue-pongue”: o primeiro substrato (aminoácido) une-se no sítio ativo da enzima e perde seu grupo amina, produzindo-se um  $\alpha$ -cetoácido. Este grupo é tomado pelo piridoxal-fosfato, o qual se transforma em piridoxamina-fosfato. Logo depois entra o segundo substrato (o  $\alpha$ -cetoglutarato), o qual aceita o grupo amina da piridoxamina, convertendo-se em glutamato. Devido a essas reações, os grupos amina dos diferentes aminoácidos são coletados em um único aminoácido: o glutamato. As reações de transaminação são termodinamicamente reversíveis ( $\Delta G^{\circ} = 0$  kJ/mol).

### Desaminação oxidativa

Mediante a desaminação oxidativa, o glutamato que recolhe os grupos amina de vários aminoácidos nas reações de transamina-

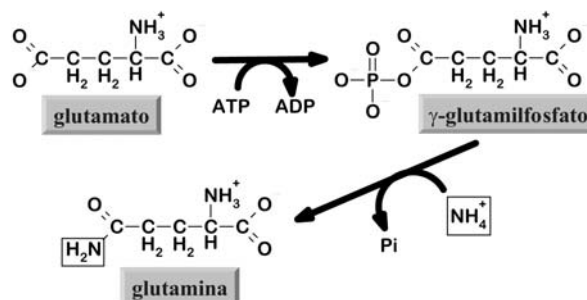
ção é oxidado e desaminado, por ação da enzima glutamato desidrogenase, numa reação que acontece na mitocôndria dos hepatócitos (enzima [2], Figura 2).

A glutamato desidrogenase é uma enzima alostérica (peso molecular 330 kd) que tem seis subunidades idênticas, sendo estimulada por ADP, GDP e alguns aminoácidos, e inibida por ATP, GTP e NADH. Requer de NAD<sup>+</sup> (ou NADP<sup>+</sup>), como receptor dos elétrons. A ação combinada das transaminases e a glutamato desidrogenase conhece-se como “transdesaminação”.

Quando a célula está precisando de energia (maior relação ADP/ATP), a ação da glutamato desidrogenase aumenta para fornecer  $\alpha$ -cetoglutarato no ciclo do ácido cítrico. Quando há suficiente energia, o GTP produzido no ciclo de Krebs inibe a glutamato desidrogenase.

O NH<sub>4</sub><sup>+</sup> formado pode ser reutilizado para a síntese de novos aminoácidos ou ser excretado em forma de ureia, no caso dos vertebrados terrestres (animais ureotélicos), em forma de ácido úrico nos répteis e nas aves (animais uricotélicos) ou em forma de amônia nos peixes (animais amonotélicos).

O grupo amina de muitos tecidos é transportado para o fígado como glutamina, pela ação da enzima glutamina sintetase, em uma reação que requer de ATP para ativar o glutamato e que tem duas etapas:



Na mitocôndria hepática, a amônia se libera da glutamina para formar glutamato mediante a enzima glutaminase (enzima [1], Figura 2). A glutamina é o principal transportador de  $\text{NH}_4^+$  no sangue, tendo maiores níveis sanguíneos que qualquer outro aminoácido. Sua estrutura, sem as cargas elétricas do glutamato, facilita sua passagem através das membranas. O grupo amina também pode ser transportado desde os tecidos (especialmente desde o músculo) para o fígado, pela alanina, devido à ação da enzima alanina-amino transferase (ALT), a qual atua reversivelmente em ambos os tecidos (Figura 1).

A alanina, sem cargas elétricas em seu resíduo, atravessa facilmente as membranas. A anterior reação serve também para remover o piruvato do músculo, produzido na glicólise. O piruvato pode ser levado para o fígado, onde serve de precursor de glicose via gliconeogênese. A glicose pode voltar para o músculo para servir de fonte de energia (“ciclo glicose-alanina”).

### Ciclo da ureia

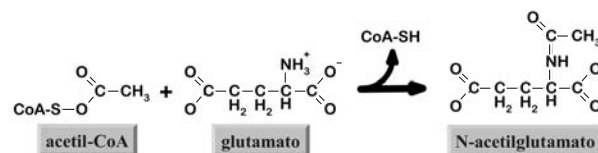
Os animais ureotélicos sintetizam ureia a partir do grupo amina liberado pelos aminoácidos, mediante uma série de reações conhecidas como o ciclo da ureia, via descoberta por Krebs e Henseleit, em 1932, antes de ser elucidado o ciclo do ácido cítrico. Nesse processo, que se realiza no fígado, incorporam-se dois grupos amina e um  $\text{CO}_2$  na molécula de ureia (Figura 2). As duas primeiras reações do ciclo ocorrem na mitocôndria do hepatócito, e as restantes, no citosol. As reações do ciclo da ureia são as seguintes (os números entre colchetes correspondem às enzimas da Figura 2):

(a) Condensação de  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{CO}_2$

O  $\text{CO}_2$ , produzido na respiração celular e o amônio se condensam mediante a enzima carbamil-fosfato sintetase-I [4], reação que

é altamente endergônica, requerendo de 2 ATPs (a forma II da enzima está no citosol).

A carbamoil-fosfato sintetase é uma enzima regulatória que tem como modulador estimulatório o N-acetilglutamato, composto produzido a partir de acetil-CoA e glutamato pela enzima N-acetilglutamato sintetase:



A enzima N-acetilglutamato sintetase, por sua vez, é estimulada pela arginina, composto intermediário do ciclo da ureia, que se acumula quando o ciclo se torna mais lento. Assim, a arginina estimula a formação de N-acetilglutamato, e este estimula a ação da carbamoil-fosfato sintetase, para aumentar a velocidade do ciclo.

(b) Formação de citrulina

O aminoácido ornitina entra na mitocôndria para se condensar com o grupo carbamoil-fosfato e formar citrulina, através da ação da enzima ornitina-carbamil transferase [5], reação facilitada pela hidrólise do grupo fosfato do carbamoil-fosfato.

Até aqui as reações acontecem na mitocôndria. Na sequência, a citrulina abandona a mitocôndria para continuar o ciclo no citosol.

(c) Condensação do aspartato com a citrulina

O aminoácido aspartato (que introduz outro grupo amina no ciclo) se condensa com a citrulina numa reação que consome energia, e que é catalisada pela enzima arginino-succinato sintetase [6].

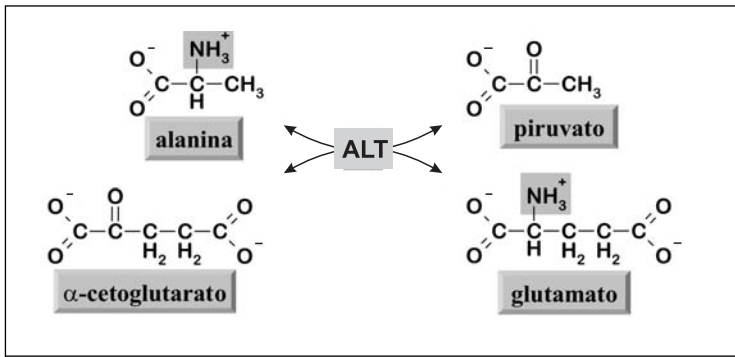


Figura 1- A reação de transaminação catalisada pela enzima ALT.

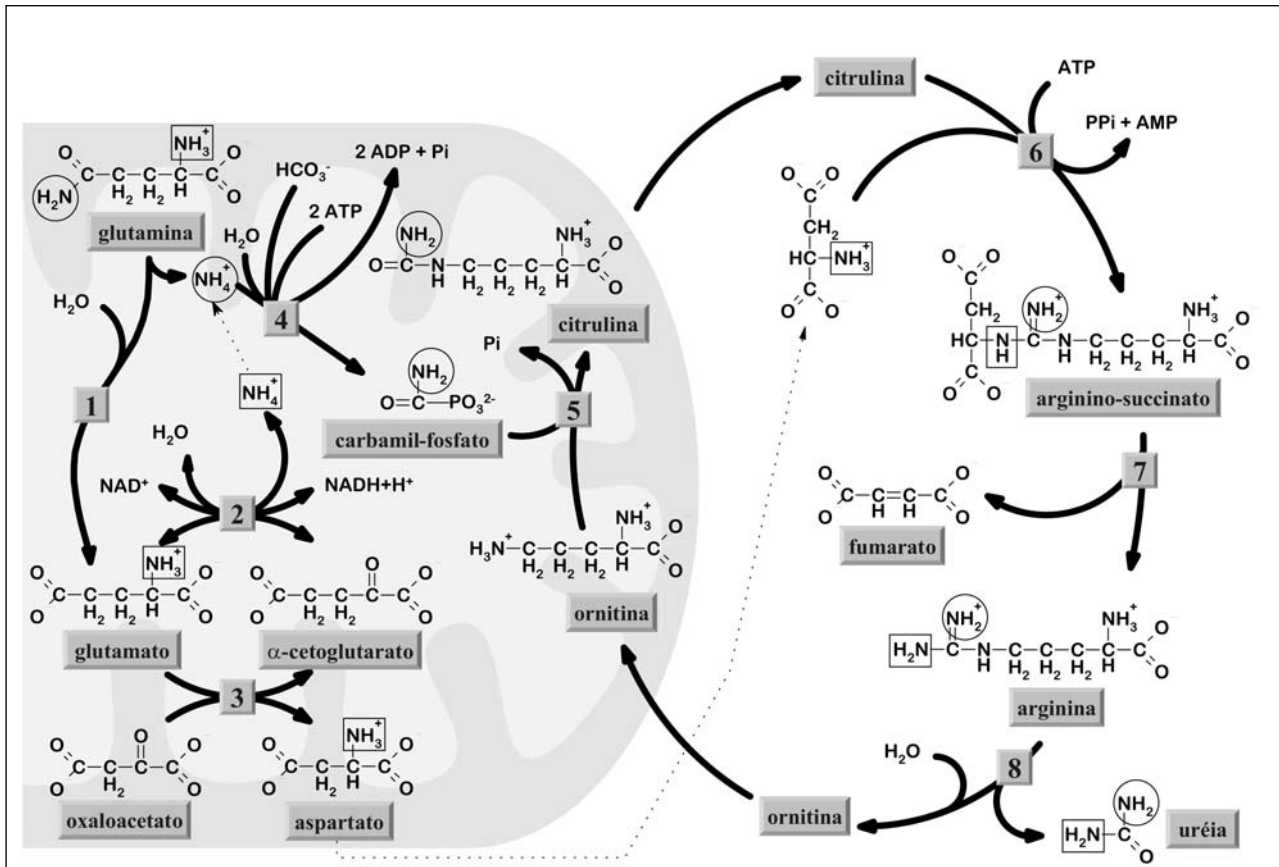


Figura 2 – Ciclo da ureia. As principais enzimas estão indicadas: [1] glutaminase, [2] glutamato desidrogenase, [3] aspartato aminotransferase (AST), [4] carbamil-fosfato sintetase, [5] ornitina-carbamil transferase, [6] arginino-succinato sintetase, [7] arginino-succinato liase e [8] arginase.

O AMP produzido na reação anterior deve ser convertido em ADP mediante a participação de um ATP, o que significa que nesta reação são gastos, realmente, dois ATP.

(d) Excisão do arginino-succinato

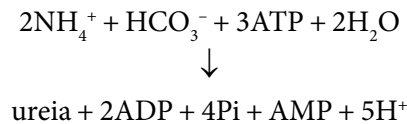
Esta quebra, mediante a enzima arginino-succinato liase [7], origina fumarato, o qual

ingressa na mitocôndria como intermediário do ciclo de Krebs, mais o aminoácido arginina.

(e) Hidrólise da arginina e formação de ureia

Reação catalisada pela arginase [8], a qual tem como cofator o  $Mn^{2+}$ , para dar ureia e repor a ornitina, fechando o ciclo.

A ornitina volta à mitocôndria para reiniciar um novo ciclo, e a ureia pode ir para o rim via sanguínea para ser excretada pela urina. A reação global do ciclo da ureia pode se escrever assim:

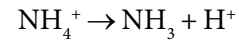


A formação de ureia é um processo endergônico, de alto custo energético, no qual são gastos 4 ATPs: dois para formar o carbamóil-fosfato, um para formar o arginino-succinato e mais um para transformar o AMP, que se produz na formação do arginino-succinato, em ADP.

Nos ruminantes, os níveis sanguíneos de ureia são elevados (32-64 mg/dL) devido à absorção de amônia pelo rúmen. Nesses animais, a amônia deve metabolizar-se no fígado para dar ureia, a qual se recicla voltando ao rúmen via sanguínea ou via salivar, o que significa uma poupança da energia necessária para a formação de ureia e de água para sua própria excreção. Nos animais carnívoros a concentração de ureia está entre 21 e 60 mg/dL.

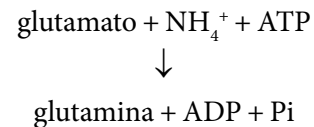
A compartimentalização, na mitocôndria, das primeiras duas reações do ciclo da ureia impede a saída para o sangue do íon amônio, o qual é altamente tóxico. Essa toxicidade se deve a que o amônio pode se incorporar no  $\alpha$ -ceto-glutarato, composto intermediário do ciclo do ácido cítrico, para dar glutamato, mediante a enzima glutamato desidrogenase (enzima [2], Figura 2).

Um elevado nível de  $NH_4^+$  pode extrair demasiado  $\alpha$ -ceto-glutarato e, eventualmente, deter o ciclo do ácido cítrico e a cadeia respiratória, sendo especialmente sensível o tecido cerebral. Por outro lado, o amônio, por sua forma protonada, se dissocia tendo um pK de 9,5:



A pH 7,0, a maioria do amônio se encontra na forma protonada ( $NH_4^+$ ). Entretanto, diante de um excesso de  $NH_4^+$ , uma parte resulta em amônia ( $NH_3$ ) provocando certa alcalinidade nos tecidos e causando falhas no metabolismo celular.

Nos peixes, o amônio se incorpora no glutamato para formar glutamina no fígado:



No rim, a glutamina volta a desaminar-se e libera amônio diretamente pela urina:



O amônio no sangue dos peixes também pode ser eliminado diretamente na água, pelas brânquias. A excreção do amônio na forma de ureia é dependente de uma grande disponibilidade de água no organismo. Nas aves, cujo peso corporal total tem pouca proporção de água, a fim de permitir o voo, bem como nos répteis, que vivem geralmente sob ambientes áridos, o amônio se excreta na forma de ácido úrico, uma purina que é intermediária no catabolismo dos nucleotídeos.

### Vias catabólicas dos esqueletos carbonados dos aminoácidos

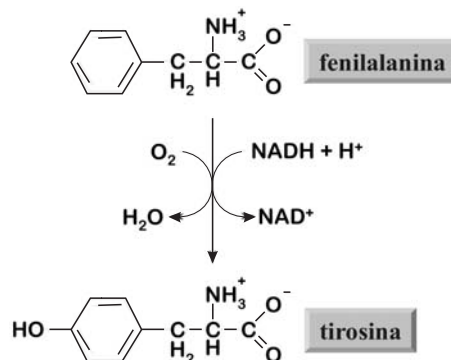
O catabolismo dos aminoácidos não é uma via tão ativa quanto a glicólise ou a oxidação dos ácidos graxos. As rotas catabólicas dos amino-

ácidos variam em sua atividade, dependendo das necessidades energéticas ou biossintéticas do organismo. Existem 20 vias catabólicas, uma para cada um dos 20 aminoácidos proteicos, que convergem em cinco possíveis produtos finais, os quais podem ingressar no ciclo de Krebs para seguir a oxidação total até  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , ou para sair como precursores da gliconeogênese, dependendo do estado metabólico do organismo. Dez aminoácidos podem terminar em acetil-CoA, cinco terminam em  $\alpha$ -cetoglutarato, quatro em succinato, dois em fumarato e dois em oxalacetato; contudo, vários desses aminoácidos podem ter outras rotas.

#### Via acetil-CoA

Dez aminoácidos podem terminar em acetil-CoA, para entrar no ciclo de Krebs: cinco deles via piruvato, e os restantes cinco podem dar acetoacetil-CoA, o qual se rompe para dar duas moléculas de acetil-CoA. Os aminoácidos que geram piruvato são alanina, glicina, serina, cisteína e triptófano. Os aminoácidos triptófano, lisina, fenilalanina, tirosina, leucina e isoleucina produzem acetil-CoA e/ou acetoacetil-CoA. Estes últimos aminoácidos são chamados de “cetogênicos”, embora fenilalanina e tirosina também podem produzir fumarato, triptófano pode também formar piruvato e isoleucina pode formar succinil-CoA via propionil-CoA. A leucina é o único aminoácido rigorosamente cetogênico, isto é, que só pode terminar em acetil-CoA.

Em humanos, existe uma falha genética relacionada com o catabolismo da fenilalanina: uma deficiência na síntese da enzima fenilalanina hidroxilase, a qual converte a fenilalanina em tirosina:



A enzima é uma oxidase que utiliza o  $\text{O}_2$  diretamente para oxidar a fenilalanina: um oxigênio se incorpora como grupo hidroxila ( $-\text{OH}$ ) para formar tirosina e o outro oxigênio se reduz para dar  $\text{H}_2\text{O}$ , utilizando NADH. A enzima requer tetraidrobiopterina como cofator, que funciona como transportador dos elétrons desde o NADH até o  $\text{O}_2$ . A deficiência da fenilalanina hidroxilase se conhece como fenilcetonúria, e consiste na acumulação de fenilalanina a qual não se pode metabolizar normalmente. A fenilalanina toma uma via secundária na qual ocorre transaminação com o piruvato, e formação de fenilpiruvato, metabólito que é descarboxilado para produzir fenilacetato, corpo cetônico que dá um cheiro característico na urina. A fenilcetonúria apresenta-se em 8 de cada 100.000 indivíduos e pode causar severo retardo mental, se não for tratada no recém-nascido. O transtorno não tem sido descrito em animais.



### Via $\alpha$ -cetogluturato

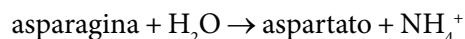
Os aminoácidos arginina, histidina, glutamato, glutamina e prolina são degradados via  $\alpha$ -cetogluturato e entram diretamente no ciclo de Krebs. As vias catabólicas de todos esses aminoácidos terminam em glutamato, o qual é desaminado e oxidado para dar  $\alpha$ -cetogluturato, mediante a enzima glutamato desidrogenase (enzima [2], Figura 2).

### Via succinil-CoA

Os aminoácidos que são catabolizados via succinato são metionina, isoleucina, treonina e valina. Isoleucina também pode dar acetil-CoA. Por esta via os aminoácidos são convertidos em propionil-CoA, e a partir deste em succinil-CoA, mediante as mesmas reações da gliconeogênese, que tem como precursor o propionato. Essas reações são de vital importância nos ruminantes, os quais dependem desta rota para converter o propionato de origem ruminal em glicose, via succinil-CoA. Uma enzima desta rota, a metilmalonil-CoA mutase é dependente da coenzima B<sub>12</sub>.

### Via oxalacetato (OAA)

Somente dois aminoácidos, aspartato e asparagina, são catabolizados via OAA para entrar no ciclo de Krebs. A asparagina é desaminada pela enzima asparaginase, gerando aspartato:



Depois, o aspartato sofre transaminação com  $\alpha$ -cetogluturato para dar OAA, mediante a ação da enzima aspartato aminotransferase, AST (enzima [3], Figura 2).

Os aminoácidos que formam piruvato ou metabólitos intermediários do ciclo de Krebs

podem formar glicose via gliconeogênese e são chamados de “gliconeogênicos”. Quatro aminoácidos podem ser gliconeogênicos ou cetogênicos, dependendo da rota que sigam: triptófano, fenilalanina, tirosina e isoleucina.

## BIOQUÍMICA DO GRUPO HEME

O grupo heme é um grupo orgânico funcional presente em várias proteínas, como a hemoglobina ou os citocromos, e algumas enzimas, como a catalase. O grupo participa de reações de oxidorredução ou no transporte de oxigênio, graças à presença de um núcleo de ferro em sua estrutura.

### Biossíntese do grupo heme

O grupo heme pode ser produzido praticamente por todos os tecidos dos mamíferos, porém sua síntese é mais importante na medula óssea (reticulócitos) e no fígado, devido às necessidades de hemoglobina e citocromos, respectivamente.

O heme está composto por um núcleo tetrapirrólico (anel porfirínico) com um núcleo de ferro em seu interior. O grupo deriva de oito resíduos de glicina e de succinil-CoA. Os núcleos pirrólicos estão unidos entre si através de pontes meteno. Cada núcleo pirrólico, nas posições de 1 a 8, podem ter substituições que podem ser de acetil, propionil, metil, etil e vinil.

Quando o núcleo tetrapirrólico não tem tais substituições chama-se porfina. Quando há substituições nas posições 1 a 8 chamam-se porfirinas, que passam a ter nomes específicos em função dos grupos substitutivos. As porfirinas mais abundantes que se encontram em quase todos os vertebrados, são as protoporfirinas, as quais contêm 4 metil, 2 vinil e 2 propionil, existindo várias formas isoméricas. A mais abundante dessas formas é a protopor-

firina IX (ou heme), presente na hemoglobina (Hb), na mioglobina (Mb) e na maioria dos citocromos, bem como nas enzimas catalase, peroxidase e citocromo oxidase. Também se pode encontrar em forma livre como metabólito intermediário dos processos de síntese e degradação. Os grupos substitutivos em cada posição da protoporfirina IX estão relacionados na Tabela 1. A estrutura do heme está mostrada na Figura 3B.

As porfirinas são estáveis porque as pontes de metileno são oxidadas, o que permite a ressonância de todos os quatro anéis pirrólicos. O ferro se liga aos 4 N do núcleo da protoporfirina IX e mediante 2 ligações se une à porção proteica (globina no caso da Hb). Portanto, o ferro fica com 6 ligações, sendo 2 delas covalentes e 4 de coordenação. O ferro na forma reduzida ou ferrosa ( $Fe^{2+}$ ) pode unir-se ao oxigênio. A forma oxidada ou férrica ( $Fe^{3+}$ ) não une  $O_2$ .

As etapas da biossíntese do grupo heme são apresentadas na Figura 3. O ponto de controle da síntese do heme é a enzima ALA sintetase da mitocôndria, a qual é inibida pela hemina (ferri-protoporfirina) e requer piri-

doxal-fosfato como cofator. Deficiências dessa vitamina levarão à diminuição da síntese do heme e, portanto, de Hb (anemia). Os eritrócitos não têm núcleo, mitocôndrias nem ribossomos, e, por isso, não podem realizar a via metabólica de síntese da Hb, a qual é feita no seu estágio de reticulócitos na medula óssea. As únicas vias metabólicas que os eritrócitos de mamíferos podem fazer são a glicólise anaeróbica e a via das pentoses-fosfato.

### Degradação do grupo heme

Os eritrócitos têm uma meia-vida que varia em função da espécie: pode ser de 30 dias (nas aves) até de 160 dias (nas vacas). Nas outras espécies os valores são de 60-80 dias no cão, gato, porco e coelho, e de 120-150 dias na cabra, ovelha e no cavalo. A meia-vida dos eritrócitos humanos é de 120 dias. Os eritrócitos são retirados da circulação, por reconhecimento de mudanças na membrana, e fagocitados pelas células de Küpffer, do sistema retículo-endotelial (principalmente na medula óssea, baço e fígado).

TABELA 1 – GRUPOS SUBSTITUTIVOS NA ESTRUTURA DO HEME

Posição	Grupo
1	-CH <sub>3</sub> (metil)
2	-CH=CH <sub>2</sub> (vinil)
3	-CH <sub>3</sub> (metil)
4	-CH=CH <sub>2</sub> (vinil)
5	-CH <sub>3</sub> (metil)
6	-CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -COO- (propionil)
7	-CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> -COO- (propionil)
8	-CH <sub>3</sub> (metil)

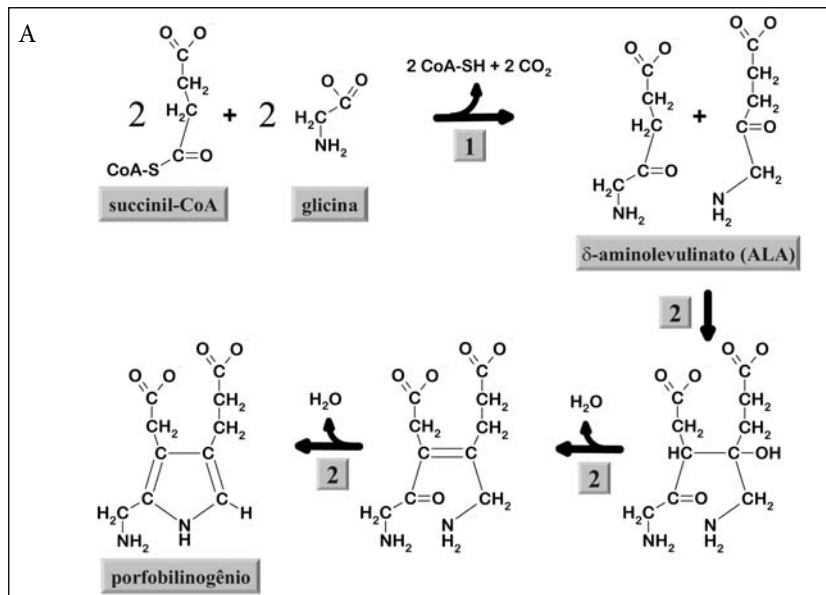


Figura 3A – Biossíntese do heme. As enzimas envolvidas nesta parte da rota biossintética são [1] ALA sintetase e [2] ALA desidratase.

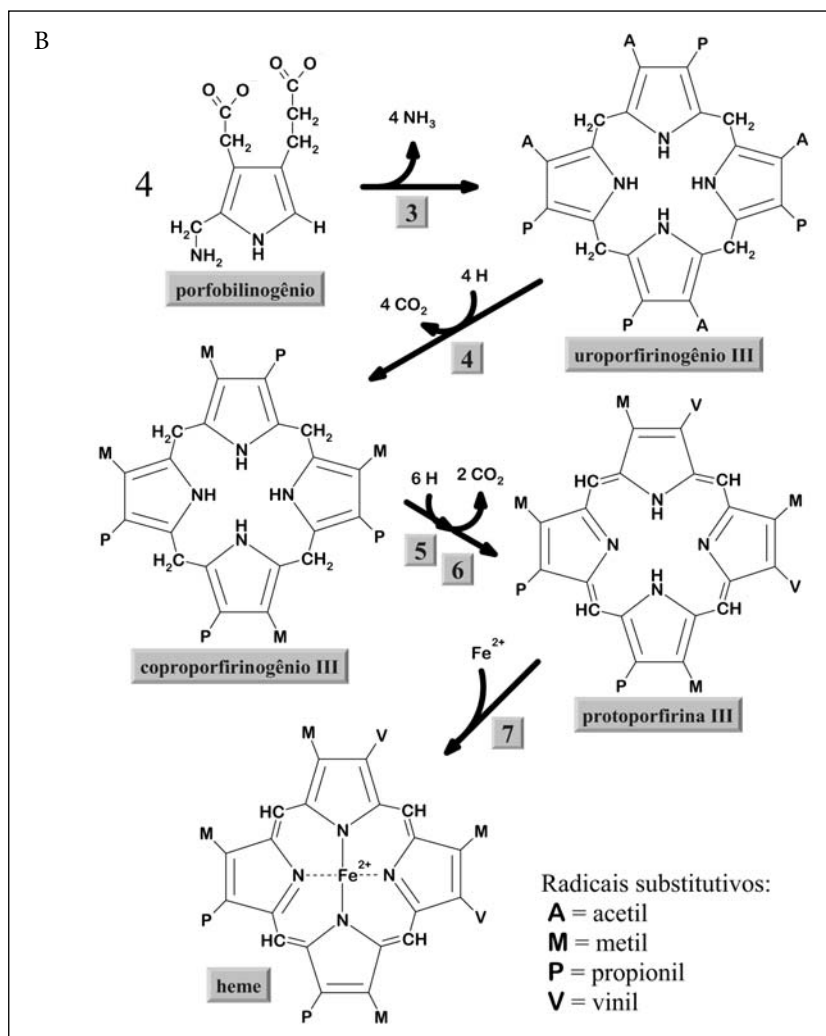


Figura 3B – Biossíntese do heme. As enzimas envolvidas nesta parte da rota biossintética são: [3] uroporfirinogênio sintetase, [4] uroporfirinogênio descarboxilase, [5] coproporfirinogênio e [6] protoporfirinogênio oxidase, e [7] heme sintetase (ferroquelatase).

Kuster, em 1899, foi o primeiro a relacionar a bilirrubina com a hemoglobina. A hemoglobina (Hb) responde por 85-90 % dos pigmentos biliares formados. Outras proteínas que contêm o grupo heme em sua estrutura, como os citocromos, também produzem bilirrubina. A degradação da Hb se inicia com a liberação de globina (fração proteica) da fração heme. A globina sofre proteólise até aminoácidos, os quais podem ser reutilizados.

O catabolismo do grupo heme da hemoglobina compreende: (a) a degradação do anel de porfirina, que implica um sistema de processamento dos seus produtos hidrofóbicos; e (b) retenção e mobilização do ferro, bem com a sua reutilização.

O grupo heme (protoporfirina IX mais ferro) é oxidado pela enzima heme oxigenase (no sistema microsomal), que utiliza  $O_2$ , liberando CO e Fe (única fonte de monóxido de carbono no organismo). O ferro é oxidado de  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$ . O grupo heme sofre quebra da ponte  $\alpha$ -metene (fonte de CO) entre os grupos pirrólicos que tenham resíduos de vinilo ( $-CH=CH_2$ ). O anel, agora linearizado e sem o ferro, se abre, e o produto da reação é a biliverdina IX, primeiro pigmento biliar produzido na degradação. A biliverdina IX sofre redução (adição de 2H) pela enzima biliverdina redutase, que utiliza NADPH como coenzima, para produzir bilirrubina IX.

### Metabolismo da bilirrubina

A Figura 4 mostra uma representação do metabolismo normal dos pigmentos biliares. A bilirrubina é produzida não apenas pelos eritrócitos senis, mas pelo catabolismo das outras proteínas que contêm o grupo heme. A bilirrubina livre é pouco solúvel no sangue, sendo transportada pela albumina e pela  $\alpha_2$ -globulina até o fígado, onde é conjugada pela enzima glicuronil transferase

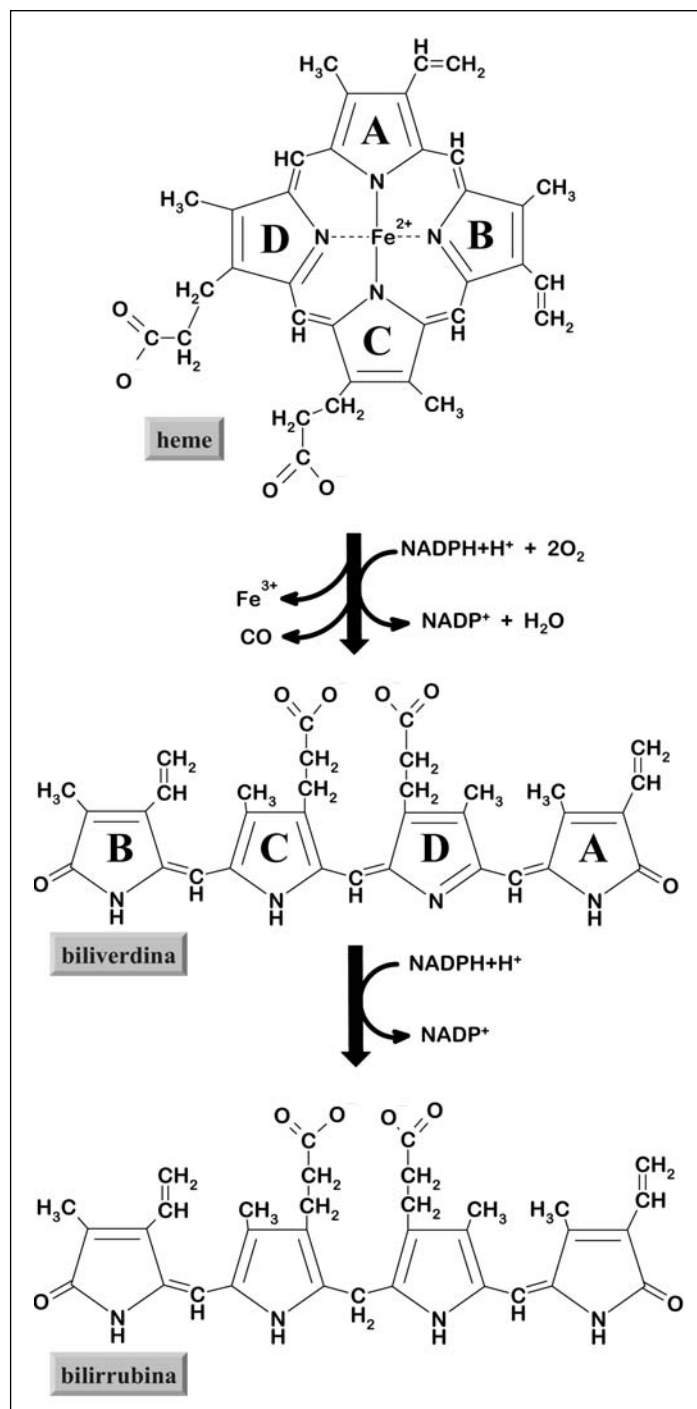


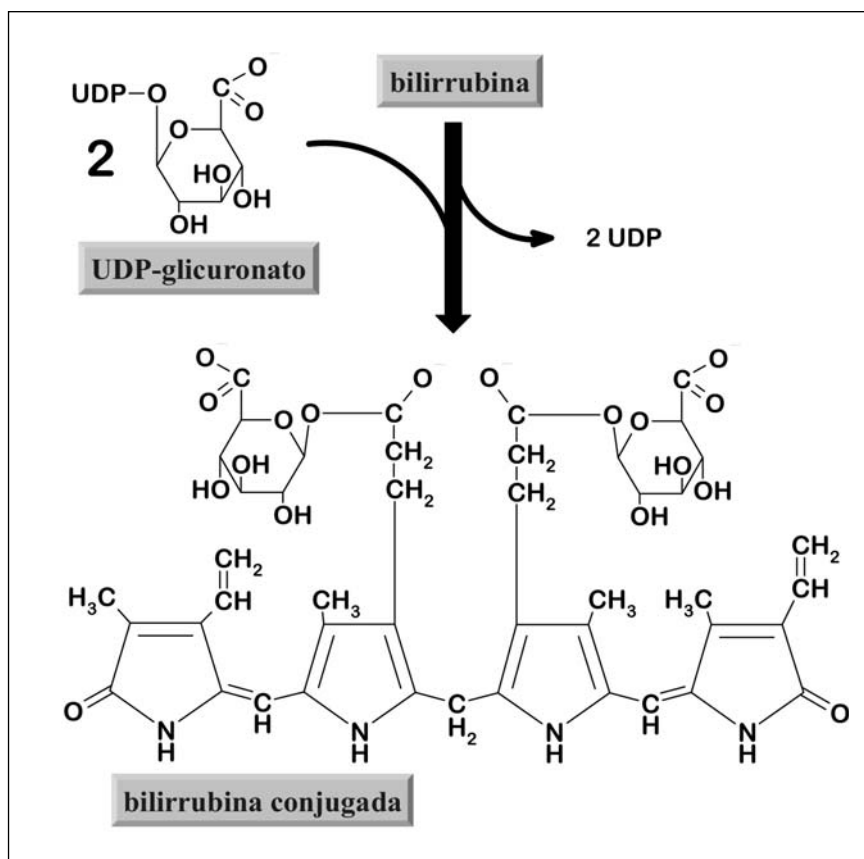
Figura 4 – Degradação do heme e formação da bilirrubina.

a diglicuronídeo de bilirrubina (Figura 5). A bilirrubina conjugada é solúvel no plasma e se excreta pela bile e pela urina. No intestino, hidrolases bacterianas reduzem a bilirrubina para formar urobilinogênio, composto incolor. O urobilinogênio que fica no intestino é oxidado a urobilina, um dos pigmentos das fezes (Figura 6). Parte do urobilinogênio no intestino é reabsorvido e volta à corrente circulatória a excretar-se via biliar ou também excretar-se pela urina. Assim, na urina, pode-se encontrar tanto bilirrubina conjugada quanto urobilinogênio. A bilirrubina livre se une fortemente à albumina, de forma que não pode excretar-se pelo rim.

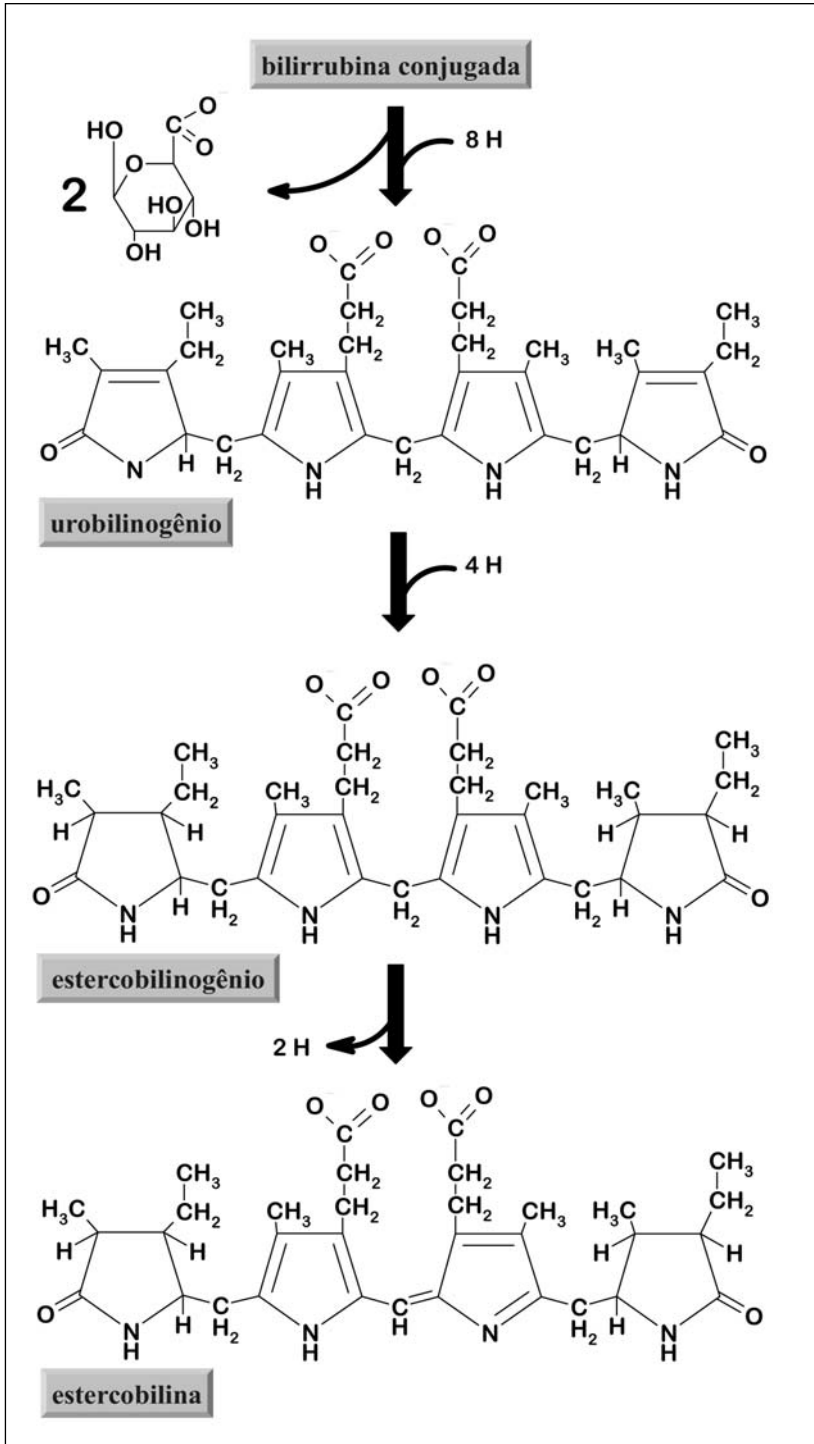
Do urobilinogênio produzido no intestino por redução da bilirrubina, 20 % é reab-

sorvido, e o restante é oxidado a urobilina. Do total reabsorvido, 90 % é reexcretado pela bile e somente 10 % entra no sangue e pode ser excretado na urina. Portanto, o urobilinogênio presente em condições normais na urina representa apenas 1-2 % do total produzido (Figura 7).

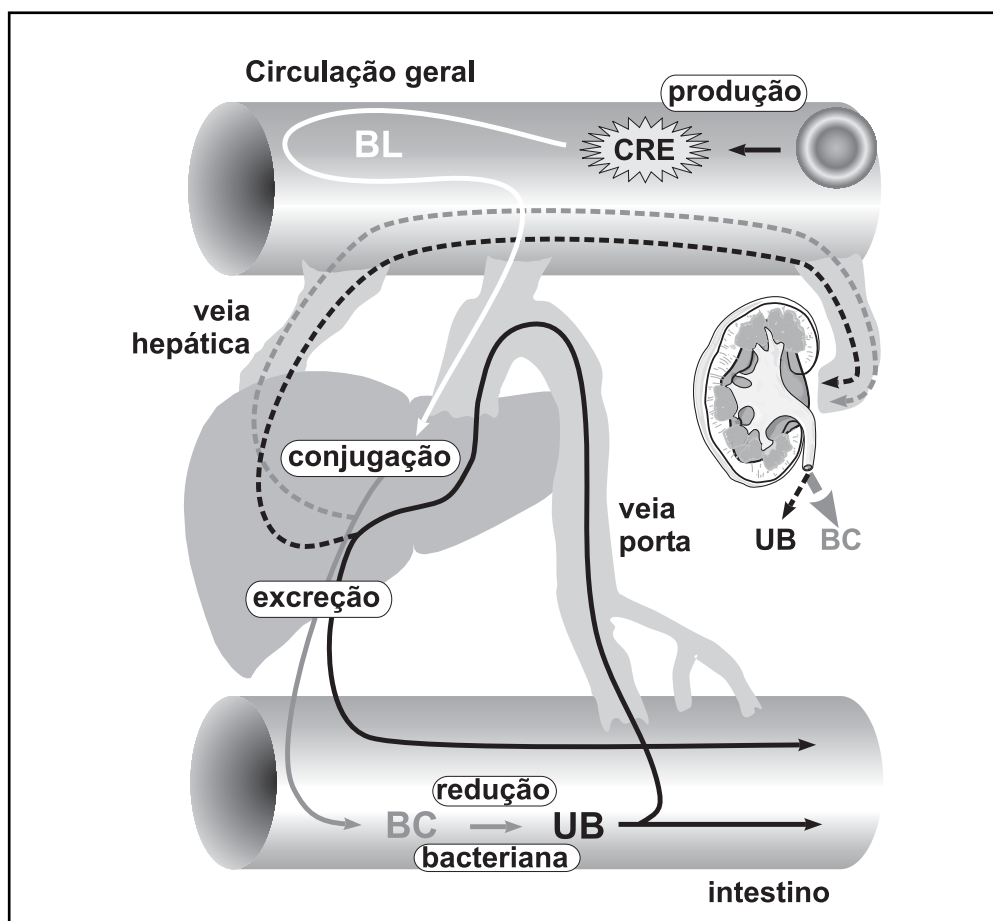
No plasma, pode encontrar-se tanto bilirrubina conjugada ou “direta”, como bilirrubina livre (de fato unida a proteínas) ou “indireta”. Os termos direta e indireta referem-se a que a bilirrubina conjugada reage diretamente com o reagente de Ehrlich (sais de diazônio) para render pigmentos azo, ao passo que a bilirrubina livre só reage após a adição de etanol para poder romper a sua ligação não-covalente, porém forte, com a albumina (indireta). No



**Figura 5** – Conjugação hepática da bilirrubina.



**Figura 6** – Modificações intestinais da bilirrubina.



**Figura 7** – Circulação êntero-hepática normal de pigmentos biliares. CRE célula retículoendotelial; BL bilirrubina livre; BC bilirrubina conjugada; UB urobilinogênio (estercobilinogênio).

laboratório determina-se a bilirrubina total pelo método do metanol, proposto por Malloy e Evelyn em 1937, e a bilirrubina conjugada (direta), pelo método de Van Der Bergh. A bilirrubina livre (indireta) é calculada pela subtração da total menos a direta. Os níveis sanguíneos normais das bilirrubinas total e direta em algumas espécies aparecem na Tabela 2. O limiar renal de eliminação de bilirrubina conjugada é de 0,4 mg/dL. Uma terceira forma de bilirrubina que se une covalentemente à albumina tem sido relatada em casos de doenças hepatocelulares.

#### Variações da bilirrubinemia entre espécies

O cavalo pode apresentar uma icterícia fisiológica devido ao alto teor de bilirrubina livre em condições normais, especialmente no jejum (até 7 mg/dL) e ao consumo de carotenoides e xantofilas. Em hepatopatias, o cavalo pode ter níveis de até 25 mg/dL de bilirrubina total, sendo que menos de 10 % desse valor corresponde a bilirrubina conjugada. Na anemia hemolítica e na anemia infecciosa equina, os níveis de bilirrubina total podem ir a 70 mg/dL (a maioria bilirrubina livre). A causa da hiperbilirrubinemia de jejum nos cavalos deve-se

TABELA 2 – VALORES DE REFERÊNCIA DE BILIRRUBINA SANGUÍNEA (MG/DL) EM ALGUMAS ESPÉCIES

<b>Espécie</b>	<b>Bilirrubina conjugada</b>	<b>Bilirrubina total</b>
Bovinos	0,04-0,44	0,01-1,0
Equinos	0-0,4	1,0-2,0
Felinos	0-0,1	0,15-0,5
Suínos	0-0,3	0-0,6
Caprinos	0-0,3	0-0,1
Ovinos	0-0,27	0,1-0,5
Caninos	0-0,14	0,10-0,61
Macaco	0,03-0,05	0,4-0,5
Humano	0,2	<1,0

à diminuição da excreção pelo fígado, e não a uma maior produção do pigmento.

Nos ruminantes, diferentemente dos equinos, não há grandes aumentos de bilirrubina, mesmo em doenças hepáticas. Considera-se que há icterícia quando os níveis de bilirrubina direta no sangue ultrapassam 2,0 mg/dL. Em geral, pode-se considerar que, se a bilirrubina em excesso for mais de 50 % conjugada, trata-se de icterícia hepática, e se for mais de 90 % conjugada, trata-se de uma icterícia obstrutiva. Níveis proporcionalmente maiores de bilirrubina livre refletem uma icterícia hemolítica. Em bovinos e em equinos é aconselhável utilizar outros indicadores da função/lesão hepática, além da bilirrubina (colesterol, albumina, glicose, ureia, enzimas como AST, GGT, LDH, FA, SDH, arginase). Considera-se que um aumento muito grande de bilirrubina em bovinos, devido a lesão hepática, representa um estágio terminal com muito mau prognóstico.

Em quase todas as espécies, pode acontecer icterícia fisiológica nos neonatos, devido à destruição de eritrócitos. Icterícia fisiológica também se pode observar no jejum e na

gestação. Em ratos da raça Wibster, tem sido identificada uma icterícia de origem hereditária devido a um gene autossômico recessivo chamado w. Os animais afetados (ww) têm defeito genético na síntese da enzima glicuronato transferase, que conjuga a bilirrubina livre, aparecendo altos níveis desta última no sangue, como se fosse uma hemólise.

#### Pigmentos biliares na urina

Normalmente encontram-se níveis muito baixos de bilirrubina conjugada na urina de cavalos, ovelhas, porcos e gatos. No cão, o limiar renal para bilirrubina conjugada é baixo. Assim, em doenças hepáticas, nesta espécie, o nível sanguíneo de bilirrubina conjugada pode não aumentar muito, mas o nível na urina pode estar bastante elevado (bilirrubinúria). Na hemólise, no entanto, os níveis de bilirrubina livre são elevados no sangue, pois ela não pode passar pela barreira renal. Se aumentos da bilirrubina total no cão estão compostos de 50 % de bilirrubina conjugada, é indicativo de lesão hepatocelular.

Na obstrução hepática (cálculos, tumores, parasitos), as bilirrubinúrias são de maior



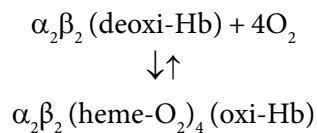
dimensão, sendo o teor de bilirrubina na urina diretamente proporcional ao grau de obstrução. A bilirrubinúria também pode ocorrer, além de hepatopatias e obstruções extra-hepáticas, em situações febris e no bovino em reticulite traumática e lipidose hepática.

O nível de urobilinogênio na urina está aumentado na icterícia hemolítica (anemias) e em problemas hepáticos, bem como em casos de insuficiência cardíaca, por estase hepática. O nível de urobilinogênio está diminuído na icterícia obstrutiva, anemia hipocrômica (deficiência de ferro), insuficiência renal e depressão da flora intestinal por uso de antibióticos.

### Bioquímica da respiração

O oxigênio no sangue é transportado por duas vias: (a) como  $O_2$  em solução, ou (b) em combinação química com hemoglobina (Hb) nos eritrócitos. O transporte, na Hb, é bem mais eficiente porque enquanto a solubilidade do  $O_2$  é de 0,3 mL/dL de sangue, a Hb carrega 1,34 mL de  $O_2$ /g de Hb. Como a concentração de Hb no sangue em média é de 15 g/dL, são transportados 20,1 mL/dL de sangue, isto é, 67 vezes mais do que com  $O_2$ .

A Hb tem quatro subunidades proteicas,  $2\alpha$  e  $2\beta$ , cada uma com um grupo heme que pode carregar 1  $O_2$  na união com o íon  $Fe^{2+}$  (Figura 8):



Essa reação é possível na concentração de  $O_2$  nos alvéolos pulmonares (100 mmHg). Nos alvéolos, também há  $CO_2$  (40 mmHg),  $N_2$  (571,8 mmHg) e  $H_2O$  (47 mmHg).

A porção heme da Hb é idêntica em todos os vertebrados. A protoporfirina IX

pode-se combinar com Fe ou com Mg, mas também pode combinar-se com Zn, Ni, Cu, Co e Ag. Quando se une com Fe, chama-se ferroprotoporfirina ( $Fe^{2+}$ ) ou heme e ferriprotoporfirina ( $Fe^{3+}$ ) ou hemin. A Hb unida a CO chama-se carboxi-Hb, sendo fotossensível, pois na presença de luz libera o CO. A meta-Hb é a Hb com grupo hemin, isto é, com o ferro oxidado ( $Fe^{3+}$ ), o qual pode acontecer por agentes oxidantes, como peróxidos, ferricianeto, nitritos e quinonas.

A meta-Hb, presente em poucas quantidades sob condições normais do sangue, não pode unir  $O_2$  nem CO. Pode ser reduzida por ditionito de sódio ( $Na_2S_2O_4$ ). Quando a Hb se combina com o íon cianeto ( $CN^-$ ), forma a ciano-Hb. Esse íon também pode unir-se à meta-Hb e formar cianometa-Hb.

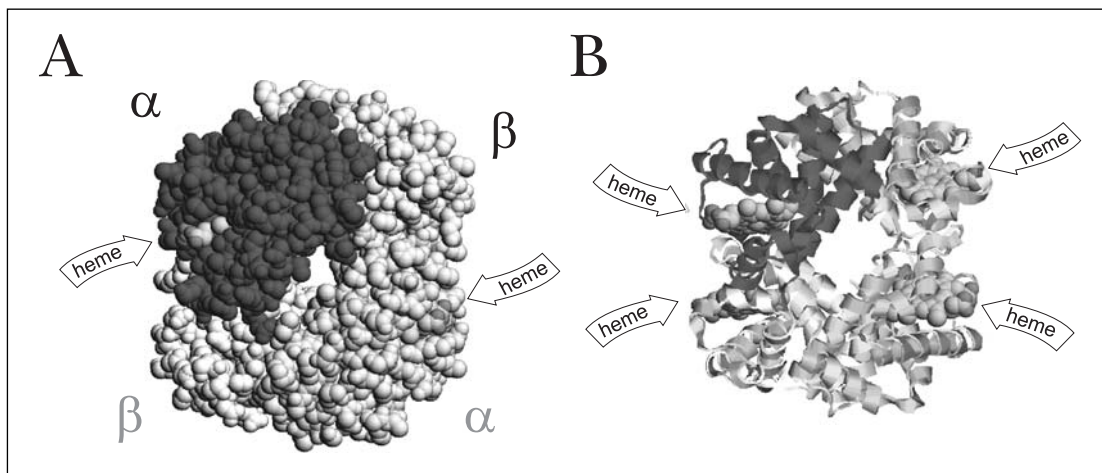
A cadeia  $\alpha$  da Hb tem 141 resíduos de aminoácidos; e a cadeia  $\beta$ , 146. As duas cadeias têm 80 aminoácidos homólogos. O peso molecular total da Hb é de 65.000 Da. Entretanto, a Hb pode apresentar heterogeneidade:

(a) Hb fetal-adulta (HbF-HbA): as cadeias  $\alpha$  são iguais, mas a HbF tem duas cadeias  $\gamma$ , homólogas com a cadeia  $\alpha$  da HbA (diferem em 37 resíduos). No feto, do total de Hb, 15 % é HbF e 85 % é HbA. A HbF garante a entrega de  $O_2$  da circulação materna para a fetal porque tem maior afinidade pelo  $O_2$ .

(b) Hb heterogêneas: em 10 % da Hb total do adulto existe HbA<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ). A cadeia  $\delta$  difere da  $\beta$  em 10 resíduos de aminoácidos. Não se conhece a sua função.

(c) Heterogeneidade genética: é anormal, existindo mais de 300 tipos, quase sempre funcionais.

A Hb se une com o  $O_2$  em cooperatividade positiva, isto é, à medida que a oxigenação aumenta, a combinação do grupo heme das outras cadeias da Hb com moléculas adicionais



**Figura 8** – Estrutura da hemoglobina. Em A, a molécula tem seus átomos representados como esferas de tamanhos correspondentes aos seus respectivos raios de van der Waals (“spacefill”). O grupo heme, visível nas cadeias  $\alpha$ , está indicado pelas setas. As cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  estão representadas em cores diferentes, conforme indicado. Em B, a molécula está representada esquematicamente conforme a estrutura secundária (“cartoon”).

de  $O_2$  fica mais fácil (aumenta a afinidade pelo  $O_2$ ). Esse evento não acontece com a mioglobina, pois só tem uma cadeia. A cooperatividade positiva é explicada porque na forma deoxidada (dissociada) a Hb forma pontes eletrostáticas entre as subunidades, as quais não se rompendo à medida que o  $O_2$  se une aos grupos heme, o que facilita a união com o  $O_2$ .

Comparando as curvas de saturação de  $O_2$  na Hb e na mioglobina, observa-se que, enquanto a curva da mioglobina tem uma forma hiperbólica, a curva da Hb tem uma forma sigmoidal. Isso indica que a presença de  $O_2$  em um grupo heme tem efeito na constante de dissociação do  $O_2$  nos outros 3 grupos, na mesma molécula, sendo maior na 4ª dissociação. A facilidade com que se une o

$O_2$  na 4ª subunidade é 150-300 vezes maior do que a união à 1ª subunidade.

No sangue arterial, a percentagem de saturação da Hb é de 96 %; no sangue venoso, esse valor é de 64 %. Isso acontece porque, no sangue arterial, a  $P_{50}$  da Hb é de 26 torrs, e a pressão de  $O_2$  é de 100 torrs. A mioglobina tem uma menor  $P_{50}$ , pois esta proteína se satura com 40-50 torrs (Figura 9).

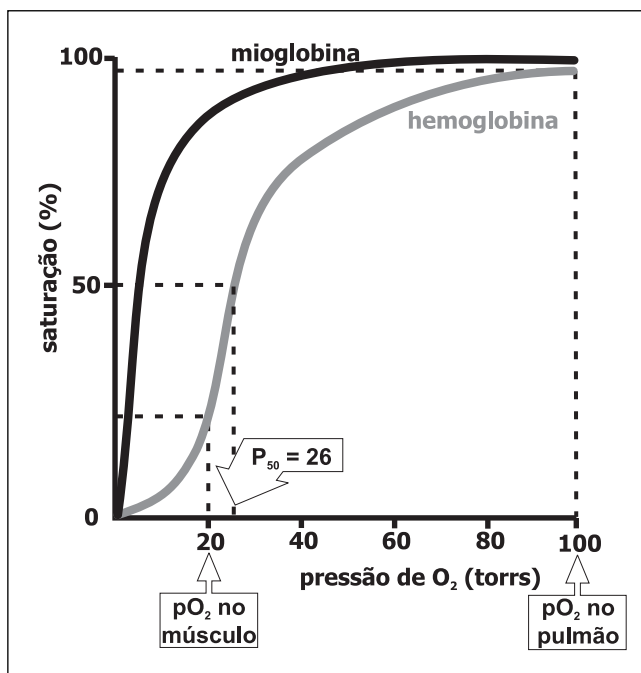
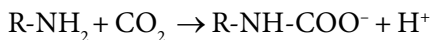


Figura 9 – Curvas de saturação da mioglobina e da hemoglobina.

Efeito do  $\text{CO}_2$  sobre a afinidade  $\text{Hb-O}_2$

O  $\text{CO}_2$  existe no sangue:

- (a) Como  $\text{HCO}_3^-$  no plasma e no eritrócito.
- (b) Unido a proteínas plasmáticas pelos grupos amina formando grupos carbamina:



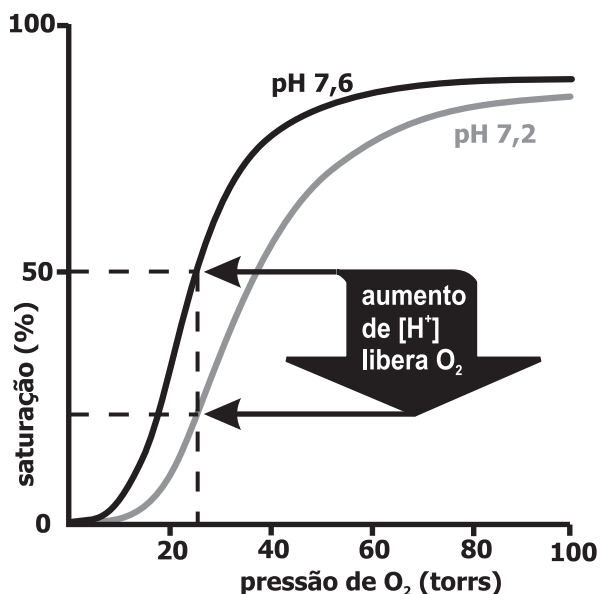
- (c) Unido a Hb, formando carbamino-Hb.

A Hb deoxidada une  $\text{CO}_2$  com maior afinidade que a  $\text{HbO}_2$ . A maior proporção do  $\text{CO}_2$  está como  $\text{HCO}_3^-$  no plasma. Sua concentração no sangue arterial é de 25,5 meq/L e no sangue venoso, de 26,4 meq/L.

Pode-se calcular a relação de bicarbonato/ácido carbônico no plasma a partir da equação de Henderson-Hasselbalch, sabendo que o pK do ácido carbônico é de 6,1, e o pH sanguíneo é de 7,4:

$$\begin{aligned} \text{pH} &= \text{pK} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]} \\ 7,4 &= 6,1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]} \\ \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]} &= 1,3 \\ \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]} &= 20 \end{aligned}$$

O  $\text{CO}_2$  tem efeito sobre a curva de dissociação de  $\text{O}_2$  na Hb, deslocando-a para a direita (Figura 10). Quanto mais à direita a curva de dissociação da Hb, necessita-se de maior pressão de  $\text{O}_2$  para oxigenar a Hb, isto é, o  $\text{CO}_2$  diminui a afinidade do  $\text{O}_2$  pela Hb, de forma que também o  $\text{O}_2$  se libera mais facilmente da Hb. Este efeito é conhecido como efeito Bohr.

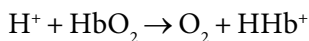


**Figura 10** – Efeito do pH sobre a curva de saturação da hemoglobina.

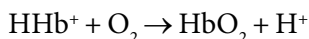
Com Hb pura, o efeito Bohr é atribuível ao pH, o qual, por sua vez, depende de mudanças na concentração de  $\text{CO}_2$ : o aumento na concentração de  $\text{CO}_2$  aumenta a concentração de  $\text{H}^+$ , isto é, diminui o pH:



Assim, nos tecidos periféricos, onde a concentração de  $\text{CO}_2$  é maior, e portanto a concentração de  $\text{H}^+$  também é maior, a afinidade  $\text{O}_2$ -Hb diminui e o gás é liberado mais facilmente (facilita-se a oxigenação dos tecidos):



No pulmão, onde a concentração de  $\text{CO}_2$  é menor e o pH maior, aumenta a afinidade  $\text{O}_2$ -Hb:



o que permite a saturação da Hb com  $\text{O}_2$  a uma baixa pressão de  $\text{CO}_2$ .

O 2,3-difosfoglicerato (DPG) é um metabólito, produzido na rota da glicólise, que se encontra dentro dos eritrócitos a uma con-

centração de 4-5 mM, sob condições normais. Entretanto, quando a pressão de  $\text{O}_2$  diminui na atmosfera (altitudes acima de 2.000 m sobre o nível do mar), o DPG aumenta. Este metabólito afeta a afinidade do  $\text{O}_2$  pela Hb: ele se une à Hb em um complexo 1:1, e diminui a afinidade da Hb com o  $\text{O}_2$ , devido ao que promove a dissociação:



### Transtornos relacionados com compostos nitrogenados

Porfirias

O termo “porfíria” provém do grego *porfirus*, que significa púrpura, e foi adotado devido ao fato de a urina dos pacientes afetados ter essa coloração. Vários personagens da realeza britânica (Rainha Maria e Rei Jorge III) e artistas (Van Gogh) sofreram formas de porfíria e até é sugerido que a lenda do Conde Drácula,

na Romênia, é atribuída a uma rara porfiria eritropoiética, cujos sintomas incluem fotossensibilidade extrema, hipertricose no rosto e nas extremidades e coloração avermelhada dos dentes.

A formação de porfirinas está relacionada com a biossíntese do grupo heme. Distúrbios no metabolismo das porfirinas causam porfirias, transtornos em que a biossíntese do grupo heme está alterada, o que resulta em acúmulo de precursores tóxicos. É um grupo de doenças de difícil compreensão por causa das consequências fisiológicas, além de possuir manifestações muito variáveis. A maioria das porfirias são hereditárias e se caracterizam pelo aumento na concentração sanguínea de protoporfirina e na excreção de uroporfirinas e coproporfirinas.

Sete enzimas diferentes participam das etapas da síntese do grupo heme (Figura 3) e a sua deficiência pode gerar o acúmulo das porfirinas nos tecidos, especialmente na medula óssea e no fígado. As porfirinas em excesso aparecem então no sangue e são excretadas na urina ou nas fezes. O excesso de porfirinas pode acarretar fotossensibilidade, condição na qual os pacientes se tornam sensíveis à luz solar, ou causar lesões nervosas.

#### Etiologia

As porfirias podem originar-se de duas causas: (1) marcado incremento da atividade da ALA sintetase ou (2) redução da atividade da uroporfirinogênio sintetase. O resultado é aumento na concentração de porfobilinogênio no sangue, que pode ser detectado na urina. O aumento dos pigmentos porfirínicos no sangue causa dermatite devido a sua reação com a luz solar. Em humanos, a doença é rara e tem sido subdiagnosticada, situação que é mais acentuada em animais.

#### Classificação das porfirias

Existem diversos tipos de porfirias relacionadas com a enzima que apresenta o defeito, levando ao acúmulo do seu precursor imediato e, conseqüentemente, desenvolvendo as manifestações clínicas características (Quadro 3). As porfirias são agrupadas em duas categorias principais, baseadas no tecido onde o problema ocorre: eritropoiéticas (hereditárias) e hepáticas. A forma hereditária é a mais comum nos bovinos e a forma hepática é mais comum nos humanos. Cada tipo de porfiria produz sintomas diferentes e requer exames específicos para o estabelecimento do diagnóstico e de tratamentos individualizados.

#### Porfiria eritropoiética congênita

É uma doença rara, descrita em bovinos, suínos e felinos. Em humanos é conhecida como doença de Gunther. O defeito é hereditário, sendo autossômico recessivo em bovinos e autossômico dominante em felinos, suínos e humanos. Em bovinos o transtorno foi descrito nas raças Shorthorn, Holandesa e Ayrshire. Como o fator é recessivo simples, os animais heterozigotos são normais.

As bases metabólicas desta doença se caracterizam pela deficiência da enzima uroporfirinogênio III cosintetase. Na ausência dessa enzima, são formados os isômeros uroporfirinogênio I e coproporfirinogênio I. Esses isômeros não são convertidos em protoporfirinogênio e nem sintetizam a porção heme da hemoglobina. Isso se deve à inexistência da enzima coproporfirinogênio I oxidase e à alta especificidade do coproporfirinogênio III oxidase. O uroporfirinogênio e o coproporfirinogênio oxidados correspondem à uroporfirina e coproporfirina acumuladas. Essas porfirinas se depositam nos tecidos e, quando expostas à luz ultravioleta, a pele

QUADRO 3 – CLASSIFICAÇÃO DAS PORFIRIAS COM SUAS RESPECTIVAS ENZIMAS DEFICITÁRIAS

<b>Tipo de porfiria</b>	<b>Enzima deficiente</b>
Porfiria eritropoiética congênita	Uroporfirinogênio III sintetase
Protoporfiria eritropoiética	Ferroquelatase
Porfiria por deficiência de ALA	ALA desidrogenase
Porfiria aguda intermitente	Uroporfirinogênio I sintetase
Porfiria cutânea tardia	Uroporfirinogênio descarboxilase
Porfiria hepatoeritropoiética	Uroporfirinogênio descarboxilase
Harderoporfiria	Coproporfirinogênio III oxidase
Coproporfiria hereditária	Coproporfirinogênio III oxidase
Porfiria variegata	Protoporfirinogênio oxidase

reage liberando calor e causando lesões aos tecidos. Os eritrócitos com quantidade aumentada de porfirinas são mais susceptíveis à destruição, tendo uma meia-vida menor que os eritrócitos normais. Essa diminuição da meia-vida está ligada a um processo hemolítico que não está bem esclarecido.

Os isômeros são oxidados a uroporfirina e coproporfirina que são acumuladas no organismo.

Os sinais clínicos em bovinos se caracterizam pela coloração marrom avermelhada de dentes, ossos e urina, exibindo marcada fluorescência rósea quando irradiados com luz ultravioleta. A exposição prolongada à luz solar causa lesões típicas de fotossensibilização, com necrose superficial nas regiões não pigmentadas da pele. Também ocorre anemia caracterizada por normocromia com macrócitos e micrócitos, e pontilhado basófilo marcante, com eventual esplenomegalia e fragilidade óssea. O animal torna-se progressivamente apático e morre. A fotossensibilização é caracterizada por eritema agudo, edema e necrose superficial nas partes não pigmentadas da pele. As lesões de fotossensibilização ocorrem em virtude da deposição das porfirinas nos tecidos expostos à radiação

solar, ocorrendo formação de radicais livres na célula, com ruptura de mitocôndrias e lisossomos, degranulação de mastócitos cutâneos, degradação da membrana fosfolipídica e de polipeptídeos proteicos e ácidos nucleicos, gerando inflamação na pele. Devido à deposição das porfirinas nos eritrócitos, estes acabam por ter uma meia-vida menor, sendo mais sujeitos à destruição e acarretando hemólise. Adicionalmente, com diminuição na síntese do heme, ocorre também demora da maturação dos eritrócitos, o que acentua a anemia.

Em geral, os suínos não apresentam fotossensibilização, mas a doença pode ser reconhecida pela coloração dos dentes. Nos felinos a doença é observada na época da erupção dos dentes primários, quando esses se apresentam com pigmentação acastanhada e fluorescência vermelho-rosada sob luz ultravioleta. Após a troca para os dentes permanentes, essa pigmentação se torna menos visível. Em gatos não são observados sinais sistêmicos. Em outros animais podem ser observados urina cor-de-rosa, dentes marrom-rosados e anemia severa, além de lesões de fotossensibilização.

O diagnóstico é feito com base no histórico, nos sinais clínicos e nas alterações laboratoriais. A urina dos bovinos acometidos

pode conter 500 a 1.000 µg/dL de uroporfirinas e 356 a 1.530 µg/dL de coproporfirina, sendo que a urina de bovinos normais contém de 2,05 a 6,15 µg/dL de coproporfirinas e 0,80 a 1,60 de uroporfirinas. Na necropsia os ossos aparecem com coloração marrom ou marrom-avermelhada. Os pigmentos porfirínicos se depositam nos ossos e dentes por possuírem afinidade pelos componentes minerais desses tecidos. Além disso, as porfirinas podem depositar-se em outros órgãos como pulmões, baço e rins.

A porfiria eritropoiética congênita nos bovinos deve ser diferenciada de protoporfiria eritropoiética, babesiose, intoxicação por *Lantana* spp e fotossensibilização causada por *Brachiaria* spp. A protoporfiria eritropoiética ocorre, geralmente, na raça Limousine e apresenta apenas lesões de fotossensibilização. Na babesiose os animais apresentam febre e os demais sinais desta patologia. Os casos de intoxicação por *Lantana* spp ocorrem em surtos e a planta é observada na propriedade. Os casos de fotossensibilização por ingestão de *Brachiaria* spp apresentam apenas as lesões de pele e a presença da planta nas pastagens. A fotossensibilização por *Brachiaria* spp é uma doença provocada pelo acúmulo de clorofila na pele associada à incidência de raios solares, problema que se desenvolve quando existem em conjunto lesões hepáticas, geralmente causadas pelo fungo *Pithomyces chartarum*, presente nessas pastagens.

O tratamento das porfirias consiste em evitar a exposição ao sol. De qualquer forma, os animais de produção que possuam essa doença devem ser eliminados da reprodução. Em humanos são realizadas, como tratamento, hemotransfusões e transplantes alógenos de medula óssea. O tratamento tópico com antissépticos e pomadas pode ser associado.

## Protoporfiria eritropoiética

Esta desordem no metabolismo das porfirinas ocorre em bovinos (principalmente da raça Limousine) e em humanos. Possui uma herança autossômica dominante em humanos e é recessiva, podendo estar ligada ao sexo em bovinos, ocorrendo apenas em fêmeas. O paciente portador desta doença apresenta fotossensibilidade sem ter anemia, pigmentação dentária ou dos ossos nem porfirinúria. Há um aumento da protoporfirina fecal e no eritrócito, devido a um defeito na enzima ferroquetalase. Essa enzima é a última enzima da síntese do heme, sendo responsável pela incorporação de Fe<sup>+2</sup> à protoporfirina IX.

Os sinais clínicos apresentados são apenas lesões de fotossensibilização, não ocorrendo anemia, pigmentação nos dentes e ossos nem porfirinúria. As lesões podem ser observadas de poucos minutos a uma hora de exposição solar, caracterizadas por ardência, prurido, eritema e formação de feridas. Em casos crônicos a pele se apresenta engrossada e com diminuição da elasticidade. A protoporfirina acumulada se deposita na pele, na medula óssea, nos eritrócitos e no plasma sanguíneo. Os pacientes podem desenvolver cálculos biliares e lesões hepáticas devido à deposição do pigmento porfirínico no fígado.

O diagnóstico desta porfiria é difícil porque a protoporfirina é insolúvel e não é excretada na urina. Só é detectada quando em altas concentrações no plasma e nos eritrócitos. Para auxiliar na obtenção do diagnóstico, podem ser realizadas dosagem de protoporfirina livre, biópsia de pele, dosagem de porfirinas na urina e fezes, hemograma completo, indicadores bioquímicos de função hepática, ecografia do fígado e vias biliares, radiografias e a eliminação de outras patologias que cursam com fotossensibilização.

O tratamento consiste em evitar a exposição à luz solar e em usar betacarotenos em quantidades suficientes para a pele adquirir uma coloração amarelada, tornando-a mais resistente à radiação solar. Em conjunto podem-se utilizar protetores solares e pomadas com óxido de zinco.

#### Porfrias hepáticas

O nome deste grupo deve-se ao fato de o fígado ser o local predominante do defeito metabólico. Deficiências de enzimas específicas têm sido identificadas para todas as formas de porfrias hereditárias. São mais frequentes em humanos do que em animais. A porfria hepática tem sido dividida em:

- (a) Aguda intermitente (tipo sueco), com manifestações neurológicas (tremores) e desarranjos psíquicos nos humanos.
- (b) Mista, que pode ser com manifestações cutâneas, com manifestações da porfria tipo sueco ou com combinação de sinais clínicos.
- (c) Sintomática, que pode ser idiossincrática, associada com alcoolismo, doenças sistêmicas ou intoxicação com chumbo, ou adquirida, quando induzida com hexaclorobenzeno ou causada por hepatomas.

#### Porfria hepática por intoxicação com chumbo

A intoxicação com chumbo (plumbismo) pode afetar todos os animais domésticos, sendo um problema clínico significante, principalmente em cães. O chumbo está presente em tintas velhas, projéteis, peso de pescaria, soldas e outros materiais. Em relação ao metabolismo do heme, duas enzimas são especialmente sensíveis à intoxicação com chumbo, a ALA-desidrogenase, mais fortemente inibida, causando um acúmulo de ALA, e a ferroquelatase, que quando inibida eleva o

nível de protoporfirina IX livre, ficando comprometida a síntese do grupo heme. As alterações levam a uma anemia sideroblástica. A enzima coproporfirinogênio oxidase também pode estar inibida, levando ao aumento de coproporfirina. Em aves aquáticas o saturnismo é considerado, hoje, uma das doenças mais importantes, devido à alta taxa de mortalidade e à dificuldade de prevenção e controle. O chumbo é um metal tóxico que existe em abundância e é muito utilizado na indústria.

Os principais sinais clínicos estão relacionados com sistema nervoso e gastrintestinal: perda de peso, diarreia e vômito. Os sintomas nervosos são manifestados por paralisia das extremidades inferiores, ataxia, em alguns casos convulsão, e os animais se apresentam com debilidade geral. Os sintomas neurológicos podem variar de estados de convulsão epileptiformes até alterações comportamentais sutis. Tanto o cérebro quanto os nervos periféricos podem ser afetados. É também observada anemia hipocrômica. Em aves é observada atrofia dos músculos peitorais, tornando-as presas fáceis pela dificuldade em levantar voo. Pode ser observada também insuficiência renal, fraqueza neuromuscular, ataques de apoplexia e coma.

A confirmação do diagnóstico de plumbismo é por mensuração dos níveis de chumbo no sangue. Concentrações de chumbo de 0,35 ppm ou maiores são indicativas de intoxicação, e concentrações de 0,60 ppm ou mais são consideradas diagnósticas. As dosagens de ALA urinária e de protoporfirina no sangue também podem ser indicativos. No hemograma observam-se anemia e hemácias nucleadas na circulação sanguínea, além de diminuição da hemoglobina. A presença de eritrócitos nucleados na circulação, basófilos pontilhados, na ausência de anemia é característico de exposição crônica ao chumbo. Porém, pode também se desenvolver anemia microcítica e hipocrômica. A radiografia é



útil nos casos de ingestão de corpos estranhos e materiais radiodensos. Podem ser observadas linhas de chumbo nas radiografias ósseas, que são faixas escleróticas de dois a quatro centímetros de espessura, na metáfise de ossos longos de cães imaturos.

O tratamento consiste na remoção da origem da intoxicação e utilização de fármacos quelantes de chumbo, como EDTA cálcio e D-penicilamina. O EDTA ao entrar em contato com o chumbo substitui seu íon cálcio pelo chumbo, ocorrendo a formação de um complexo não tóxico que pode ser facilmente eliminado. Em casos de ingestão de corpos estranhos contendo chumbo, a remoção cirúrgica é indicada.

## Icterícias

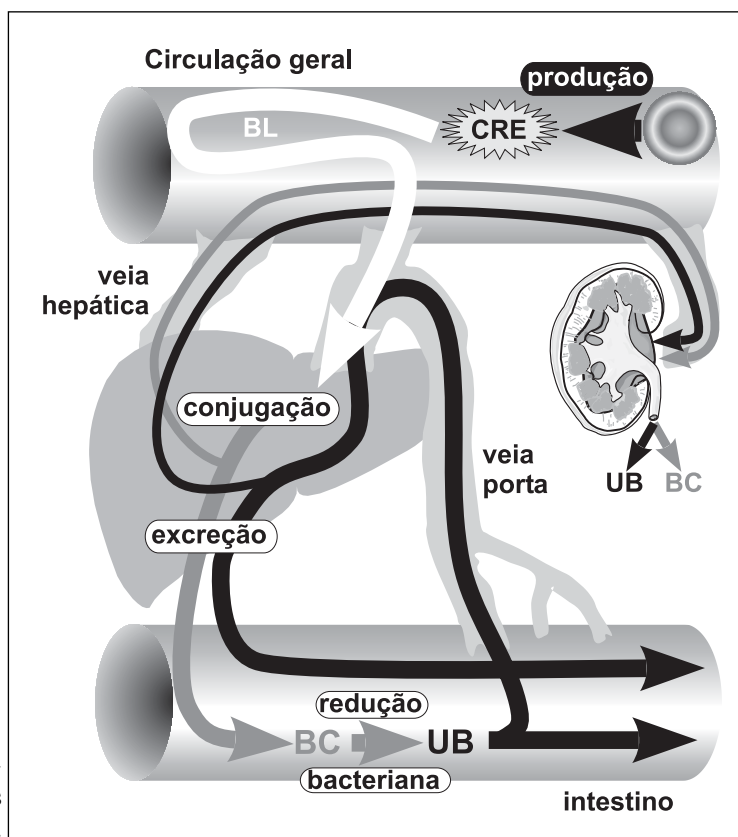
O nível de bilirrubina é um índice do funcionamento hepático. O aumento de bilirrubina no sangue causa icterícia, coloração amarela na pele e nas mucosas devido à deposição de pigmentos biliares. Existem três tipos básicos de icterícias: hemolítica, hepática e obstrutiva. O Quadro 4 apresenta um resumo sobre os níveis de bilirrubina nos diferentes tipos de icterícia.

## Icterícia hemolítica (pré-hepática)

Ocorre por destruição massiva intravascular de eritrócitos (anemia hemolítica), por exemplo, na anaplasmoze e babesiose dos bovinos ou na malária dos humanos. Nesse caso, a bilirrubina livre em excesso, diante da liberação massiva de hemoglobina, acumula-se no sangue, pois o fígado não pode processá-la com a mesma velocidade com que se produz. A bilirrubina conjugada é excretada no intestino e transformada em urobilinogênio, o qual, sendo reabsorvido pelo próprio intestino, tem altos níveis no sangue e, portanto, também na urina. Assim, a icterícia hemolítica se caracteriza por ter altos níveis sanguíneos de bilirrubina livre, bem como altos níveis de urobilinogênio no sangue, nas fezes e na urina. Como a bilirrubina livre não pode ser excretada na urina, encontra-se pouca bilirrubina na urina dos animais com este tipo de icterícia (Figura 11). Numa crise hemolítica pode ocorrer hemossiderose (sobrecarga de pigmentos biliares no fígado), a qual pode levar à lesão hepática secundária. Nesse caso, diminui a excreção de urobilinogênio via biliar, devido à lesão hepatocelular, aumentando o teor de urobilinogênio na urina.

QUADRO 4 – ALTERAÇÕES NOS NÍVEIS DE BILIRRUBINA E UROBILINOGÊNIO EM DIFERENTES TIPOS DE ICTERÍCIAS

Icterícia	Bilirrubina no plasma		Urobilinogênio na urina
	<i>Livre</i>	<i>Conjug.</i>	
Hemolítica	↑↑↑	↑	↑
Hepática	↑	↑	↑↑
Obstrutiva	=	↑↑	



**Figura 11** – Circulação entero-hepática de pigmentos biliares na icterícia pré-hepática.

Várias causas podem levar à hemólise: congênicas (porfirias, deficiência de enzimas glicolíticas), virais (anemia infecciosa equina), bacterianas (leptospirose, hemobartonelose, eperitroozoonose), riquetsias (anaplasmose), protozoários (babesioses, citauxzoonose, tripanossomíase), induzidas por substâncias químicas (cebola, propileno-glicol, aspirina, zinco, cobre), imunomediadas (imunocomplexos, isoeritrolise neonatal). Nesses casos mais bilirrubina (pela hemólise) é conjugada e excretada que o normal, mas a conjugação está sobrecarregada, de forma que se acumula bilirrubina não conjugada. No intestino a bilirrubina conjugada passa a urobilinogênio, que é reabsorvido e conseqüentemente estará

aumentado no sangue. Por ocasião de hemólise intravascular, haverá um excesso de hemoglobina livre que se liga a haptoglobina sendo retirada pelo sistema fagocítico mononuclear. Quando a hemoglobina supera os níveis de haptoglobina, ela é excretada pela urina (hemoglobinúria). A hemoglobina em excesso poderá induzir uma nefrose tubular tóxica.

Como o mecanismo de secreção de bilirrubina é dependente de energia, esse consumo estará aumentado nos casos de hemólise. Como a região centrolobular é a última porção do lóbulo hepático a receber sangue, uma redução acentuada de oxigênio decorrente de anemia e do consumo aumentado pode induzir uma lesão irreversível.

Se a hemólise for a causa primária de icterícia, as mucosas deverão estar extremamente pálidas. No caso de hemólise há aumento de bilirrubina conjugada e aumento mais pronunciado de não conjugada. Também há aumento de urobilinogênio, não apenas por maior liberação de bilirrubina conjugada para o intestino, que é transformada em urobilinogênio e reabsorvida, como também pela diminuição da excreção de urobilinogênio sanguíneo através do hepatócito por lesão da região centrolobular, sendo, portanto, eliminado pela urina.

#### Icterícia hepática

Ocorre por lesão hepática (por exemplo, na hepatite, leptospirose, intoxicação com tetracloreto de carbono). A bilirrubina livre, produzida normalmente pelo catabolismo da hemoglobina, acumula-se no sangue porque o fígado lesado não a processa com rapidez. Por outro lado, os hepatócitos inflamados causam obstrução dos canalículos biliares, impedindo que a bilirrubina que está sendo conjugada consiga sair pela bile, obrigando-a a extravasar-se na circulação, havendo, portanto, aumento anormal da bilirrubina conjugada no sangue. A pouca bilirrubina conjugada que consegue sair pela bile é convertida em urobilinogênio no intestino e imediatamente reabsorvida. Porém, esse urobilinogênio não pode ser excretado pela bile, devido à lesão hepática, e deve, portanto, excretar-se pela urina. Assim, na icterícia hepática encontra-se aumento dos níveis sanguíneos de bilirrubina total (conjugada e livre), bem como aumento dos níveis de urobilinogênio e de bilirrubina na urina (Figura 12).

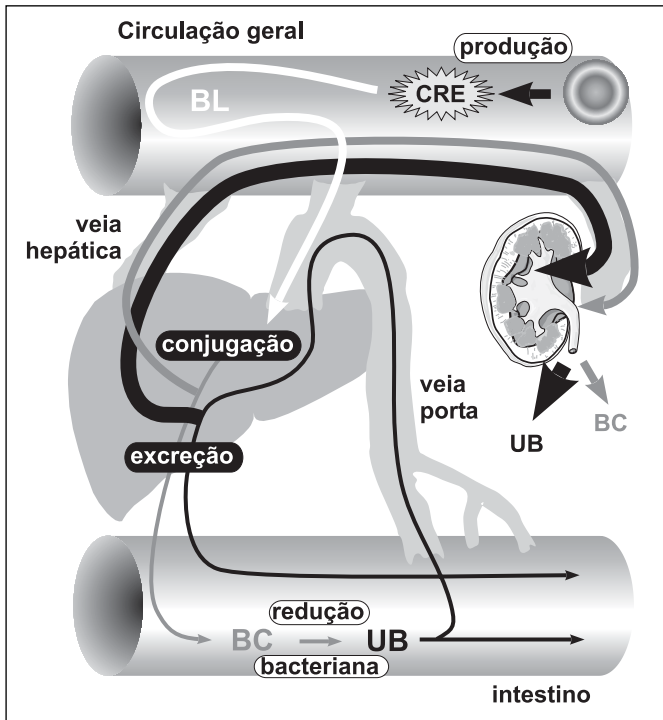
A icterícia é a anormalidade específica mais frequente em cães e gatos com doença hepática (20 % dos cães e 30-40 % dos gatos). Nos casos de doença hepática difusa grave, ocorre uma combinação de fatores para

que ocorra hiperbilirrubinemia, tais como produção aumentada, depuração reduzida, problemas na conjugação pelo fígado e colestase. A hemólise no hepatopata é causada pela diminuição da meia-vida das hemácias (em cães a meia-vida cai de 60 a 80 dias para 20 a 40 dias). Neste tipo de icterícia as mucosas aparecem normais ou levemente pálidas. Na maioria dos casos de doenças hepáticas com icterícia, há aumento de bilirrubina não conjugada, embora menos que nos casos de hemólise, e de bilirrubina conjugada direta, tendo também maior eliminação de urobilinogênio pela urina devido à lesão hepática.

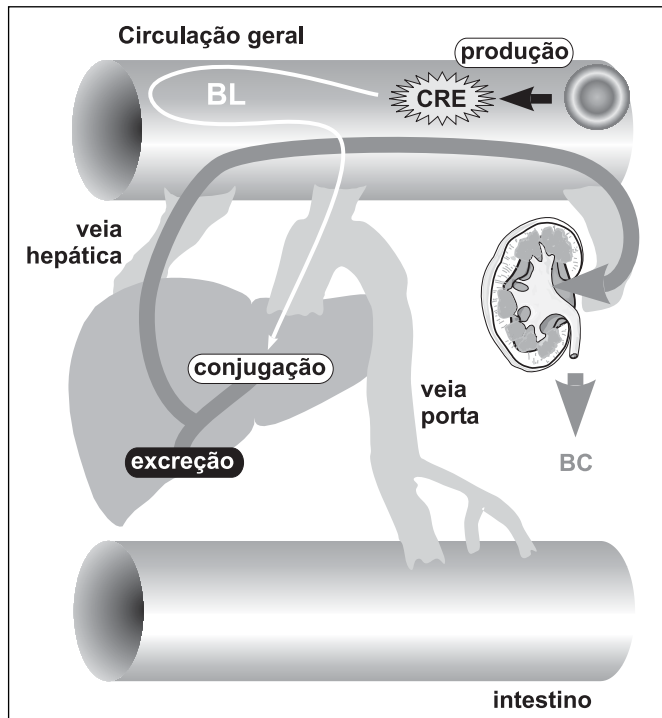
#### Icterícia obstrutiva (extra-hepática)

Ocorre por obstrução dos dutos biliares, por exemplo, nos processos inflamatórios causados nos canalículos biliares pela *Fasciola hepatica* nos ruminantes e também em casos de tumores, cálculos biliares e pancreatite extensiva. Neste caso, a bilirrubina conjugada produzida normalmente não consegue sair pela bile e se acumula no sangue. Dessa forma, não se produz urobilinogênio (as fezes são pálidas) e se encontra aumento de bilirrubina conjugada tanto no sangue quanto na urina. Este tipo de icterícia é o que produz os mais altos níveis de bilirrubina conjugada no plasma e na urina (Figura 13).

Observa-se uma distensão de ductos biliares próximos à obstrução seguida de distensão progressiva no sentido retrógrado nos ductos intra-hepáticos e dentro do lóbulo no espaço-porta. O ingurgitamento dos canalículos e estase da bile no interior do citoplasma dos hepatócitos ocorre mais tarde. Com a cronicidade da obstrução ocorre extensa fibrose hepática (fibrose biliar), que é centrada no espaço-porta, podendo ocorrer também ruptura dos canalículos e extravasamento de bile causando áreas focais de necrose hepatocelular.



**Figura 12** – Circulação êntero-hepática de pigmentos biliares na icterícia hepática.



**Figura 13** – Circulação êntero-hepática de pigmentos biliares na icterícia pós-hepática.

No cão, a obstrução do ducto comum nem sempre leva à icterícia, pois existem normalmente ductos supranumerários. Nos gatos, podem encontrar-se problemas hepáticos e pancreáticos simultâneos quando há obstrução na saída para o intestino, pois os ductos colédoco e pancreático se unem antes de desembocarem no intestino. Essas duas alterações associadas com alterações intestinais formam o quadro denominado triadite.

### **Intoxicações que comprometem a função do grupo heme**

#### **Intoxicação com monóxido de carbono**

O monóxido de carbono (CO) resulta da combustão incompleta (ou seja, quando não há suficiente oxigênio para a combustão) dos compostos orgânicos, especialmente dos combustíveis hidrocarbonados, como, por exemplo, nos motores de combustão interna. O CO é menos pesado que o ar e tende portanto a ir para cima. Considera-se que os níveis de CO no ar limpo são de 0,02 ppm. Nas ruas das grandes cidades, o nível vai para 13 ppm e, nas ruas mais poluídas, pode chegar a 40 ppm.

O metabolismo animal produz poucas quantidades de CO a partir do catabolismo da fração heme (1 mol de CO/mol de heme). A produção endógena de CO leva à formação de carboxiemoglobina (COHb), a qual pode estar no sangue em concentrações de 0,5-3 %. Quando o nível de COHb atinge 12 %, inibem-se os sistemas oxidases de degradação do heme que levam à formação de CO. Até 1-3 % de COHb no sangue não se observam efeitos clínicos visíveis. Com 6-8 % de COHb há certa tontura, e com 20 % há incoordenação motora. Com 20-40 % ocorre letargia, dispnéia, coma, e a morte acontece com níveis de 60-70 % de COHb no sangue.

O CO concorre com o oxigênio pela união às proteínas com grupos heme: Hb, Mb, citocromos, catalase, peroxidase. A afinidade do CO é 200 vezes maior do que a do O<sub>2</sub> pela Hb, 30-50 vezes maior pela Mb e é menor nos citocromos. O resultado é que o O<sub>2</sub> é impedido de ser transportado para os tecidos, causando hipoxia tissular.

Por outra parte, a curva de dissociação da Hb é deslocada para a esquerda quando a COHb chega a 10 % no sangue, isto é, a liberação de O<sub>2</sub> da Hb torna-se diminuída (a pressão de O<sub>2</sub> no tecido deve ser maior para que o O<sub>2</sub> seja liberado da Hb), o que pode ser resultado do fato de o O<sub>2</sub> já ligado unir-se mais fortemente à Hb quando existem outros sítios da mesma Hb com CO. A P50 (pressão de O<sub>2</sub> associada com 50 % de saturação da Hb) cai no sangue de 26,5 para 21 mmHg. O resultado é que o CO causa diminuição da entrega de O<sub>2</sub> aos tecidos. Além disso, os sítios de Fe<sup>2+</sup> ainda livres da Hb tornam-se de mais difícil reação com o O<sub>2</sub> quando a Hb tem outros sítios unidos a CO.

A hipoxia tissular causada pelo CO pode causar necrose nas fibras cardíacas, afetando o ECG, e nas células do cérebro, afetando o comportamento neurológico. A acidose metabólica causada pelo CO é compensada com hiperventilação, causando alcalose respiratória. O sangue fica de cor vermelho-brilhante em razão de o oxigênio não poder entrar nas células (diferenciar de intoxicação por cianeto).

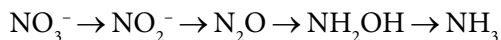
Dentre as diferentes espécies, as aves e, em particular, os canários são as mais suscetíveis à intoxicação com CO. O cachorro é mais sensível do que o ser humano ao CO. O animal afetado deve ser tratado imediatamente com O<sub>2</sub>, de preferência misturado com CO<sub>2</sub>, para deslocar o CO (a mistura recomendável é de 94 % de O<sub>2</sub> e 4 % de CO<sub>2</sub>).

## Intoxicação por nitritos

O íon nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) é um componente do metabolismo das plantas. O N atmosférico fixado pelas bactérias na forma de amônia ( $\text{NH}_3$ ) é convertido em nitrato e captado pelas plantas, as quais o utilizam para a síntese de proteínas. Os dejetos nitrogenados animais (ureia e amônia) são convertidos em nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), que pode ser absorvido e utilizado pelas plantas. Tanto nitratos quanto nitritos são solúveis em água, de forma que, no solo, são lixiviados, podendo aparecer em reservatórios de água.

Fontes importantes de contaminação de nitratos e nitritos são matéria orgânica em decomposição, fertilizantes nitrogenados (especialmente nitratos de Na, de amônia e de Ca), dejetos animais, resíduos de silagem. Nas plantas, os nitratos podem acumular-se sob algumas condições: (a) solos com altos níveis de nitratos ou de amônia; (b) solos úmidos e ácidos ou com deficiência de Mo, S ou P; (c) solos arejados; (d) condições de seca ou de frio; (e) tratamento com herbicidas. O nitrato se acumula mais no caule das plantas e menos nas folhas.

A intoxicação aguda por nitratos ocorre quando as plantas contêm mais de 1 % de nitrato, ou quando a água atinge 1.500 ppm. A tolerância a nitratos nos ruminantes aumenta com dietas de boa qualidade, com bastantes carboidratos solúveis disponíveis, porque se acelera o processo normal de redução de nitratos até amônia:



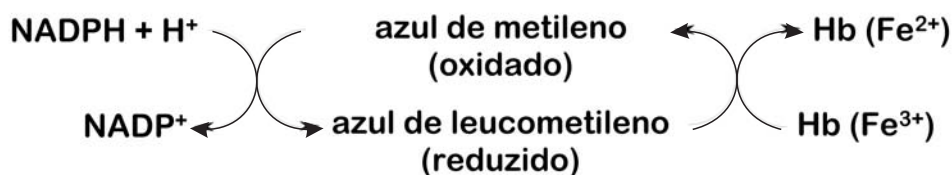
Os animais monogástricos são, em geral, mais tolerantes ao nitrato, pois não possuem mecanismos para reduzi-lo de forma rápida a nitrito, primeiro composto produzido na redução e bem mais tóxico, como é o caso dos ruminantes. Entretanto, são mais suscetíveis aos nitritos que aos nitratos quando comparados com os ruminantes (10 a 3).

O íon nitrato como tal não é tóxico, mas ele pode ser reduzido no trato gastrointestinal dos animais ruminantes e herbívoros para íon nitrito, o qual é altamente tóxico e de fácil absorção. O íon nitrito oxida o ferro  $\text{Fe}^{2+}$  da Hb, o qual passa para  $\text{Fe}^{3+}$ , formando MetHb, a qual não pode aceitar o  $\text{O}_2$ , resultando em anoxia tissular.

Na intoxicação aguda por nitratos, os sintomas aparecem 1-4 horas após a ingestão no alimento ou na água. Os sintomas são evidentes quando os níveis de MetHb atingem 30-40 % do total de Hb, e a morte acontece com níveis de 80-90 %. A proporção normal de MetHb com relação à Hb varia de 0,6 a 1,4 % (menor no porco, intermediário nas vacas e maior no cavalo). Entre os sintomas mais comuns estão salivação, vômito, diarreia, dor abdominal e poliúria. A anoxia leva a dispneia, ataxia e pouca resistência ao exercício, tremores, enfraquecimento, convulsões, mucosas cianóticas e pulso fraco e rápido. O sangue aparece escuro (cor chocolate) devido à pouca oxigenação.

A formação de MetHb pela ação dos nitritos pode considerar-se como ação secundária. A ação primária dos nitritos é sobre o SNC e os vasos sanguíneos (pulso rápido e baixa pressão arterial). Os ruminantes são menos sensíveis a esse efeito primário que os cavalos, porém mais suscetíveis ao efeito da MetHb.

O tratamento está direcionado para voltar o ferro da Hb a seu estado reduzido. Utiliza-se azul de metileno, o qual atua no sangue como agente redutor após converter-se em leucometileno:



Contudo, deve ter-se precaução com dosagem excessiva de azul de metileno, pois pode reverter-se o processo e aumentar a metemoglobinemia. Sugere-se uma dose de 4 mg/kg de peso, administrado intravenosamente, de uma solução de azul de metileno 2-4 %. A administração com sonda de óleo mineral via ruminal alivia a ação cáustica dos nitritos formados e facilita sua eliminação. O uso de catárticos salinos e antibióticos, bem como de água gelada (12-20 L), ajuda a diminuir a ação redutora das bactérias (e, portanto, a produção de nitritos) e melhora a eliminação de nitrato. Em cavalos, o efeito primário dos nitritos sobre o SNC e o sistema vascular pode tratar-se com adrenalina.

O nitrato também pode atuar como composto antitireoídiano, pois interfere com a captação de iodo pela tireoide. Em vacas, pode apresentar-se intoxicação crônica por nitratos, o que resulta em queda da produção de leite e sintomas similares à deficiência de vitamina A.

#### Intoxicação com cianeto

Os cianetos, designação genérica dos sais do ácido cianídrico (HCN), são tóxicos de rápida ação. Podem ser encontrados em algumas plantas, em produtos de limpeza de

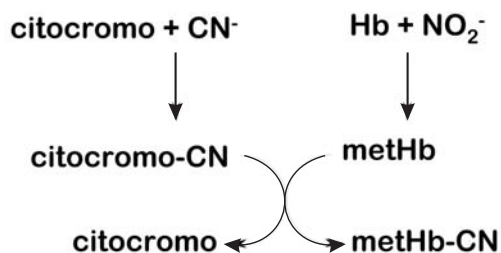
metais, em venenos para roedores e em fertilizantes nitrogenados (e.g. cianamida de Ca). Muitas plantas acumulam glicosídeos cianogênicos que podem hidrolisar-se e liberar HCN, entre outros, sorgo, pasto sudan, milho, trevo branco, folhas de pêssego. Normalmente a hidrólise é inibida na planta porque há separação compartimental entre a enzima ( $\beta$ -glicosidase) e os glicosídeos. Entretanto, a hidrólise pode ocorrer após congelamento, murchidão ou por falta de desenvolvimento. Também pode ocorrer quando as plantas são maceradas no intestino. Os sorgos modernos têm baixo potencial cianogênico. A maioria da atividade cianogênica das plantas está nas folhas e nas sementes. As plantas da família Cruciferae, principalmente do gênero *Brassica* spp. (mostarda, brócolis, repolho, etc.), bem como a *Glycine max* (soja) e o *Linum usitatissimum* (linho) podem conter tiocianetos, substâncias que inibem a produção de hormônios tireoídianos, resultando em hipotireoidismo e bócio.

Os animais toleram poucas quantidades de cianetos. O íon cianeto ( $\text{CN}^-$ ) reage com o  $\text{Fe}^{3+}$  da citocromo oxidase formando um complexo estável. A cadeia de transporte de elétrons para e a respiração celular se detém, causando anoxia citotóxica (o  $\text{O}_2$  não pode ser utilizado). Como resultado, a Hb não pode liberar mais  $\text{O}_2$  para que entre

no sistema de transporte eletrônico das células, pois o tecido está com uma alta pressão de  $O_2$ . O sangue fica de cor vermelho-brilhante, altamente oxigenado, pois o  $O_2$  não pode ser utilizado pelas células por ter o sistema respiratório bloqueado.

O  $CN^-$  atua mais rapidamente naqueles tecidos onde a citocromo oxidase é mais concentrada: SNC e coração. Ocorre uma rápida depressão da atividade cerebral. Todavia, o centro respiratório demora para ser atingido. A intoxicação é rápida, e os sintomas aparecem poucos minutos após a ingestão: inicialmente há hiperexcitabilidade e tremores musculares, polipneia seguida de dispnéia, salivação, lacrimação, evacuação de fezes e urina, e finalmente convulsões (pela anoxia) e morte. Por volta de 40 enzimas podem ser inibidas pelo  $CN^-$ , mas a citocromo oxidase é a mais sensível (50 % de inibição reversível com 0,01 mM de  $CN^-$ ) e a que tem maior repercussão metabólica.

Geralmente as intoxicações por cianeto em veterinária são agudas. Níveis de cianeto de mais de 200 ppm em plantas podem causar problemas de intoxicação. Contudo, a toxicidade depende de: (a) tamanho do animal, (b) velocidade da ingestão, (c) alimento que foi ingerido com o cianogênico e (d) habilidade para detoxificar. O tratamento deve levar à quebra da união entre o  $CN^-$  e o  $Fe^{3+}$  da citocromo oxidase, o que pode ser feito com nitrito de sódio para provocar a formação de metemoglobina (MetHb), a qual concorre com a citocromo oxidase pelo íon  $CN^-$  para formar cianometHb. A MetHb tem maior afinidade pelo  $CN^-$  que a citocromo oxidase:



Nesse tratamento, deve adicionar-se tiosulfato, o qual reage com o  $CN^-$  (com a enzima rodanase) para formar tiocianeto, que é excretado pela urina. A dosagem recomendada é uma mistura de 1 mL de nitrito de Na 20 % + 3 mL de tiosulfato de Na 20 %. Aplica-se intravenosamente 4 mL da mistura/45 kg de peso.

### Intoxicação por ureia (amônia)

A ureia é originária do catabolismo de aminoácidos, ácidos nucléicos e de amônia endógena ou exógena, proveniente da dieta. Quanto mais rica for a dieta em proteína bruta, maior será o teor de ureia plasmática. Em casos de carência de proteína, o organismo reage reduzindo as perdas orgânicas de nitrogênio. A principal via de excreção de nitrogênio é pela urina, mediante a eliminação de ureia. Os ruminantes, além da excreção urinária, reciclam a ureia por meio da saliva que chega ao rúmen para fornecer fonte nitrogenada aos microrganismos ruminais.

Os rins têm grande capacidade de excretar a ureia, sendo filtrada do sangue pelo glomérulo renal, reabsorvida e excretada nos vários segmentos dos túbulos renais, o que resulta em uma grande concentração de ureia por volume de urina com relação ao seu teor no sangue. O teor de ureia na urina pode ser centenas de vezes superior à ureia plasmática. A concentração de ureia urinária reflete fielmente a quantidade de ureia no soro.

Os ruminantes, no decorrer da evolução, alimentaram-se com dietas relativamente pobres em proteína, em comparação com os monogástricos. Isso fez com que desenvolvessem mecanismos compensatórios para economizar o nitrogênio eliminado na urina, mediante uma intensa reabsorção de ureia nos dutos coletores, o que resulta em uma taxa de excreção urinária de ureia



muito baixa quando recebem dietas baixas em proteína. Por outro lado, semelhante ao que acontece com os monogástricos, caso os ruminantes sejam alimentados com crescentes quantidades de proteína na dieta, maior será a excreção de ureia na urina. Comparando períodos de carência e de abundância de nitrogênio na dieta, a concentração de ureia urinária pode aumentar cerca de 25 vezes contra um incremento de apenas 9,7 vezes no plasma, indicando a sensibilidade e o potencial diagnóstico da análise na urina. Entretanto, em ruminantes com carência de proteína mantidos em jejum ou anorexia, ocorre um aumento do catabolismo de aminoácidos, aumentando os teores de ureia sérica e urinária, dificultando a interpretação.

#### Etiologia

A intoxicação com ureia é muito comum em rebanhos de bovinos, nos quais esse composto é usado como fonte de nitrogênio não proteico (NNP) em suplementação alimentar. Esta intoxicação apresenta-se principalmente de forma aguda, sendo causada quando os animais recebem grandes quantidades de ureia ou sais de amônia sem permitir uma adaptação adequada para aproveitar essas fontes de nitrogênio, ou quando são ultrapassados os limites para a sua utilização. O problema é favorecido quando não se fornecem suficientes glicídeos de fácil digestão. É frequente que se apresente como acidente por inadequada mistura dos alimentos, ou quando se jogam fertilizantes que fiquem facilmente acessíveis aos animais. Uma vaca pode chegar a morrer em pouco tempo ao consumir 100 a 200 g de ureia quando não está adaptada.

Nos ruminantes, o nitrogênio da ureia é liberado no rúmen na forma de amônia, podendo ser usado pela microflora ruminal para a síntese de proteína, a qual pode estar disponível para o animal pelos processos

normais de digestão e absorção. Entretanto, se for consumida uma quantidade de ureia além da que os organismos do rúmen podem metabolizar, a amônia é absorvida a partir do rúmen entrando na circulação sanguínea. Essa amônia é convertida em ureia no fígado (ciclo da ureia) para depois ser excretada pelo rim. Essa rota pode rapidamente ser sobrecarregada e pode ocorrer um excesso de amônia e de ureia no sangue, caracterizando uma intoxicação. A amônia em excesso alcaliniza o plasma e causa bloqueio do ciclo de Krebs, por exaurir a quantidade de  $\alpha$ -cetoglutarato (metabólito intermediário do ciclo) para formar ácido glutâmico, na tentativa de eliminar a amônia da circulação.

#### Sinais clínicos

Na intoxicação por ureia ocorre acúmulo de  $\text{NH}_3$  e  $\text{CO}_2$  no rúmen, como produtos da hidrólise da ureia por parte das bactérias ruminais. O excesso de  $\text{NH}_3$  alcaliniza o meio ruminal, e ambos os gases são absorvidos através da mucosa, causando uma intoxicação sistêmica. Os animais apresentam sinais clínicos que se manifestam entre 30 e 60 minutos depois do consumo da ureia e caracterizam-se por tremores musculares, salivação, respiração acelerada, atonia ruminal (timpanismo), apatia, ataxia e sudoração. Em casos mais complicados há também dispneia marcada, timpanismo, prostração do animal e extensão de extremidades. A frequência cardíaca está aumentada (100-160 bat/min), há regurgitação e morte entre 45 e 120 minutos depois da ingestão. Outros sinais podem incluir contração das orelhas e dos músculos faciais, ranger de dentes, dor abdominal, micção frequente, andar cambaleante, espasmos violentos e urros. Com frequência, os animais são encontrados mortos próximos da fonte de ureia.

## Diagnóstico

Os melhores indicadores diagnósticos são a história de acesso à ureia e os sinais clínicos dos animais afetados. Provas de laboratório em amostras de sangue não são muito úteis, e poucas alterações pós-mortem são observadas. O manejo alimentar recente é muito importante. O gado pode acostumar-se a metabolizar a ureia, mas, se não tiver um período de alguns dias de adaptação ou se consumir mais do que o normal, a intoxicação pode ocorrer.

No laboratório, os níveis de amônia sanguínea podem ser medidos, porém são úteis apenas em animais vivos doentes. As proteínas no sangue se degradam rapidamente no animal morto e produzem amônia, de forma que dosar esse metabólito no animal morto carece de valor. A amônia ( $\text{NH}_3$ ) é excretada geralmente em pequenas quantidades na urina, na forma de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), sendo secretada, na sua grande maioria, no túbulo contornado proximal e parcialmente reabsorvida na alça de Henle. Valores de referência de amônio urinário em bovinos variam de 50 a 800  $\mu\text{M}$ .

Os níveis de amônia no fluido ruminal também podem ser dosados, mas as amostras devem ser obtidas logo após a morte e devem ser congeladas até a dosagem.

Os animais se decompõem rapidamente após a morte por intoxicação com ureia e não há sinais específicos de envenenamento. Na necropsia, pode ser visto timpanismo, congestão generalizada da carcaça, excesso de fluido no saco pericárdico, edema pulmonar e excesso de espuma nas vias aéreas superiores, bem como hemorragias no coração. Há um forte cheiro de amônia quando o rúmen é aberto. O pH do conteúdo ruminal fresco pode ser um teste útil em campo. Um pH alcalino (pH maior que 7,5) sugere intoxicação com ureia.

Na intoxicação por amônia, proveniente da alta ingestão de ureia dietética, descobriu-se recentemente que quando um bovino urina com mais frequência, mais resistente ele é a esta intoxicação, pois mais íons amônio são eliminados nesse fluido (Ortolani et al., 2002). Esses autores detectaram, em bovinos intoxicados, quando do surgimento de episódio convulsivo, uma grande elevação nos teores urinários de amônio variando de 3.000 até 25.000  $\mu\text{M}$ . Como a amônia pode-se volatilizar na amostra, e a ureia presente nesta pode-se converter em amônia, recomenda-se que a urina seja congelada, ou que sejam adicionadas algumas gotas de ácido forte (ácido clorídrico ou sulfúrico) na amostra até a determinação laboratorial dessa substância. O amônio pode ser determinado na urina por meio de kit diagnóstico ou por eletrodo íon específico.

## Tratamento

Uma sonda ruminal pode ser passada para aliviar o timpanismo, e pode-se colocar volumes grandes de água gelada (45 litros para um adulto), seguidos por vários litros de ácido acético 6 % ou vinagre. Isso dilui o conteúdo ruminal, reduz a temperatura no rúmen e aumenta a acidez, que ajuda a diminuir a produção de amônia. O tratamento deve ser repetido em 24 horas. Rumenotomia e remoção do conteúdo ruminal com aplicação de líquido ruminal de uma vaca sadia pode ser útil em alguns animais. Podem ser aplicados via endovenosa 300 mL de ácido acético 1 %, 500 mL de glicose 20 % e sais de Ca e Mg.

A prevenção da intoxicação por ureia, quando se usa NNP na alimentação, deve incluir:

- Início gradual da suplementação com ureia aumentando aos poucos até atingir 0,1g/kg peso vivo (35-40 g para uma vaca de 400 kg).
- Assegurar que o gado consuma regularmente (todo dia) a suplementação, depois que iniciou.

- Se houver interrupção da suplementação com ureia por dois dias, recomeçar com o menor nível de consumo.
- Prevenir o excesso de consumo de misturas ou blocos de suplementação mediante uso de sal para regular o consumo.
- Tomar as precauções devidas quando se usa ureia como fertilizante.
- Proteger os suplementos da chuva para prevenir a dissolução da ureia e mesclar perfeitamente os alimentos.
- Ter sempre reservas de vinagre à disposição.

#### Suplementando com ureia

É prática corrente aproveitar a vantagem dos ruminantes de utilizar a ureia como fonte de nitrogênio para formar proteína ruminal. Contudo, alguns cuidados devem ser levados em conta para não ocorrer a intoxicação.

A ureia é muito solúvel e se dissolve rapidamente em poças de água, que podem formar blocos após a chuva. O gado pode lambear aqueles blocos e consumir ureia em excesso. A quantidade recomendada de ureia varia conforme o alimento oferecido e o tempo de adaptação à ureia. A tolerância diminui com jejum e com dieta baixa em proteína e alta em fibra. Cerca de 35 g de ureia/dia é considerado suficiente para uma vaca de 400 kg (aproximadamente 0,1 g/kg peso vivo). Recomenda-se que a ureia não forneça mais do que 3 % do concentrado, ou 1 % do consumo total, e não mais do que um terço do total de consumo de nitrogênio seja de NNP. Em gado bovino, 0,3-0,5 g/kg (120-200 g para uma vaca de 400 kg) é considerado tóxico, e 1,0-1,5 g/kg (400-600 g para uma vaca de 400 kg) pode ser fatal.

#### PROTEÍNAS SÉRICAS: QUANTIFICAÇÃO E INTERPRETAÇÃO DE SUAS ALTERAÇÕES

De forma rotineira dentro de um perfil básico para a análise de proteínas, inclui-se a determinação no soro ou no plasma, de proteínas totais e dos níveis de albumina e globulinas. Essas análises são simples de fazer e fornecem uma informação clínica muito valiosa que pode ajudar no diagnóstico de vários transtornos. As principais alterações que podem ser encontradas nas proteínas sanguíneas compreendem hiperproteïnemias, hipoproteïnemias por diminuição de albumina e hipoproteïnemias por diminuição de globulinas. Adicionalmente, estuda-se a eletroforese de proteínas, para obter informação complementar sobre as alterações das diferentes frações proteicas.

#### Proteínas totais

Para a determinação das proteínas totais, podem ser utilizados dois tipos de análises: físico (refratometria) e químico (colorimetria).

#### Refratometria

Está baseada no princípio de que, a altas concentrações de sólidos dissolvidos (> 3 g/dL), o índice de refração de uma solução aumenta linear e proporcionalmente à concentração do soluto. Uma vez que a maioria dos sólidos dissolvidos no plasma são proteínas, assume-se que o índice de refração do plasma estimará sua concentração proteica. A refratometria é usada frequentemente devido a sua rapidez, economia (não requer reagentes) e facilidade de manuseio, havendo uma boa correlação entre este método e os métodos colorimétricos. No entanto, é necessário seguir algumas recomendações:

- Utilizar soro claro, com mínima turbidez possível, pois, por ser um método que depende da transmissão da luz, há interferência com hemólise ou lipemia.
- Calibrar com água destilada frequentemente.
- Fazer a leitura em lugar iluminado.
- Levar em conta que, em concentrações de proteína abaixo de 20 g/L ou acima de 100 g/L, aumenta a imprecisão do método.

O método assume que outros solutos estão em concentrações normais. Se houver altos teores de outros solutos (ureia, glicose, colesterol, sódio ou substâncias como dextrano que podem ser perfundidas em grandes quantidades quando há hipoproteinemia), aumentarão de forma fictícia os valores de proteínas obtidos no refratômetro. Assim, foi comprovado que níveis de ureia no plasma acima de 112 mg/dL podem incrementar os valores de proteínas plasmáticas em 0,6 g/L.

#### Colorimetria

As proteínas totais podem ser determinadas por colorimetria utilizando-se sistemas que usam reagentes sobre um suporte sólido em forma de placas ou tiras reativas (química seca) ou mediante reagentes em forma líquida (química líquida). O método do biureto é o mais utilizado atualmente para a determinação de proteínas totais no soro. A reação está baseada na formação em meio alcalino de um composto colorido (azul), devido à ligação das proteínas a sais de cobre (reativo de biureto).

A albumina pode ser determinada por colorimetria utilizando sistemas de química seca ou química líquida. Normalmente, para determinar a albumina por colorimetria é usada a técnica do verde de bromocresol. Em pH ácido, o verde de bromocresol fixa-se de forma seletiva sobre a albumina e produz

uma coloração azul. O método é bastante confiável dentro dos intervalos normais para os animais. Entretanto, sua exatidão parece diminuir em casos de amostras hipoalbuminêmicas. Adicionalmente, podem ocorrer os seguintes problemas:

- Falsa diminuição de albumina com níveis altos de bilirrubina ou presença de fármacos, como aspirina e anticonvulsivantes, que concorrem com a albumina pelo bromocresol.
- Variabilidade entre espécies, com falsa diminuição em cães e gatos e falsos aumentos em vacas e cavalos, causados pela diferente afinidade da albumina pelo bromocresol, conforme a espécie. Para evitar esse problema, recomenda-se usar calibradores próprios da espécie.

Com relação às globulinas, os métodos colorimétricos existentes para sua determinação são pouco precisos e exatos. Assim, as globulinas são obtidas na prática por subtração do valor das proteínas totais menos a albumina.

#### Valores de referência e variações fisiológicas

Embora sempre seja recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores de referência conforme a metodologia utilizada, podem ser considerados os valores para as diferentes espécies contemplados na Tabela 3. Em geral, os valores de proteína total no plasma têm em torno de 5 % a mais do que os de soro, por causa do fibrinogênio. Esses valores estão influenciados pelas seguintes variações fisiológicas:

#### Idade

Os animais neonatos apresentam níveis baixos de proteínas plasmáticas devido a possuírem pequenas quantidades de imunoglobulinas e albumina. À medida que o ani-

TABELA 3 – VALORES DE REFERÊNCIA (G/L) DE PROTEÍNAS TOTAIS, ALBUMINA E GLOBULINAS NO SORO DE ALGUMAS ESPÉCIES ANIMAIS

Fração proteica	Espécie			
	Caninos	Felinos	Equinos	Bovinos
Proteínas totais	54 - 75	60 - 79	56 - 76	67 - 75
Albumina	23 - 31	28 - 39	26 - 41	25 - 38
Globulinas	27 - 44	26 - 51	26 - 40	30 - 35

mal ingere colostro, aumentam os níveis de globulinas progressivamente até a maturidade. Assim, em animais de menos de 6 meses, os valores se situam no intervalo menor de referência. De qualquer forma, com exceção dos primeiros dias de vida, as diferenças nunca são de tal magnitude que possam ser confundidas com problemas clínicos.

#### Gestação e lactação

Durante a gestação, a concentração de proteínas plasmáticas diminui devido a uma baixa na quantidade de albumina, apesar do pequeno aumento das globulinas. Contudo, ao término da gestação, ocorre um marcado aumento das gamaglobulinas, que leva a um aumento do total de proteínas. Na lactação, volta a ocorrer uma descida de proteínas causada pela diminuição da albumina.

#### Hormônios

A testosterona, os estrógenos e o hormônio do crescimento podem causar incremento na concentração de proteínas por seus efeitos anabólicos. O cortisol e a tiroxina causam o contrário por seus efeitos catabólicos.

As principais alterações no valor das proteínas são hiperproteinemias, hipoproteinemias por baixa de albumina e hipoproteinemias por baixa de globulinas.

#### Hiperproteinemias

Os aumentos de proteínas totais na clínica veterinária podem ser produzidos por aumentos de albumina e/ou de globulinas. Esses aumentos são causados por dois motivos principais: desidratação e inflamação.

#### Desidratação

Vem acompanhada de aumento de albumina e de globulinas. Os níveis de proteínas estão aumentados por hemoconcentração ao diminuir o volume plasmático. Essa desidratação deve ser confirmada mediante exame físico do animal e deve produzir outras alterações analíticas, como aumento do hematócrito. Nesses casos, os níveis de albumina estão elevados de forma relativa, pois aumento verdadeiro de albumina não tem sido descrito. Esse aumento relativo também se produz nas globulinas.

#### Inflamação

Vem acompanhada de baixa de albumina e aumento das globulinas. Nesses casos, maiores detalhes sobre tipo e causa da inflamação são obtidos por meio do proteinograma, que permite estudar as diferentes frações de globulinas de forma individual. Em geral, aumento de globulinas por problemas inflamatórios acompanham baixa concomitante na concentração de albumina e se enquadra na resposta de fase aguda.

## Hipoproteinemia por baixa de albumina

Inclui processos onde estão diminuídas as proteínas totais e que cursam com baixa de albumina, sendo esta a fração que mais se afeta. As globulinas têm uma resposta variável, pois podem estar também diminuídas (casos de hemorragia, má absorção, insuficiência cardíaca), normais ou aumentadas (em caso que houvesse uma inflamação concomitante). As causas de diminuição de albumina podem ser agrupadas em três processos: síntese ou absorção, perdas e diluição.

### Problemas de síntese ou absorção de albumina

Diminuição de albumina pode ocorrer por insuficiência hepática, caso no qual pode ser de moderada a severa, dependendo do grau de alteração da função hepática. Não ocorre hipoalbuminemia até que a massa funcional hepática diminua em 70-80 %, implicando cronicidade do processo causador. As provas de funcionalidade hepática estarão alteradas nesses casos. Outra causa de hipoalbuminemia é por falha de absorção intestinal, que pode incluir problemas de:

- Má digestão por insuficiência pancreática, em que a baixa de albumina é moderada e apenas em casos sem tratamento por tempo prolongado. Os animais afetados apresentam perda de peso severa, diarreia de intestino delgado e esteatorreia.
- Má absorção (enteropatia com perda de proteínas). Em geral, há suspeita dessas alterações quando ocorrem baixas moderadas a severas de albumina, com ou sem diarreia, e se descartam outras causas de queda de albumina. No diagnóstico de enteropatia com perda de proteínas, recomenda-se realizar exame endoscópico e análise de biópsia intestinal.
- Má nutrição proteica: Pode ocorrer baixa na albumina em situações bastante prolongadas

e graves, pois existe um mecanismo de compensação que consiste na passagem de albumina do espaço extravascular (tecidos) ao intravascular. Assim, se observa uma considerável perda de proteínas tissulares com mudanças menores das proteínas plasmáticas.

### Perdas excessivas de albumina

Ocorre na síndrome nefrótica, em alterações dos glomérulos renais (amiloidose renal ou glomerulonefrite). Nesse caso, a principal proteína perdida é a albumina porque sua molécula é menor, embora, em casos de dano glomerular grave também se percam globulinas. A hipoalbuminemia pode ser severa, acompanhada de proteinúria (presença de proteína na urina). Também pode haver perdas em hemorragias e lesões exudativas por queimaduras ou traumatismos, casos nos quais diminuem a albumina e as globulinas por igual, e a hipoproteinemia ocorre por dois mecanismos: (1) perda de proteínas pelas hemorragias ou lesões, e (2) passagem de fluido extravascular ao sistema vascular para restaurar o volume plasmático, o que gera uma redução na concentração de proteínas plasmáticas. Este último mecanismo é bastante rápido, sendo evidenciado 2 a 3 horas após a ocorrência do problema. A queda na concentração proteica é compensada com albumina da linfa e aumento da síntese de albumina no fígado. A máxima diminuição ocorre a 24 horas da hemorragia, e os níveis podem demorar uma semana para voltar aos valores de referência. Dentro dos processos hemorrágicos, podem incluir-se o parasitismo intestinal e úlceras do estômago ou do intestino.

### Diluição de proteínas séricas

Ocorre na insuficiência cardíaca congestiva e/ou hipertensão portal. Nessas patologias, há retenção de água, que produz um aumento da pressão hidrostática e uma dimi-

nuição relativa das proteínas totais com hipoalbuminemia moderada. Além da diluição pela água retida, nesses processos há outros mecanismos que contribuem à queda de proteínas, tais como perdas no fluido ascítico, diminuição da ingestão de alimento, síntese reduzida de proteínas hepáticas e síndrome de má absorção. Na Figura 14 aparece uma guia para ajudar a identificar a causa nos casos de hipoproteinemia com hipoalbuminemia.

#### Hipoproteinemia por diminuição de globulinas

Esta queda é produzida fundamentalmente por problemas de imunodeficiência devido à ingestão inadequada de colostro e diminuição de gamaglobulinas. Esses animais são suscetíveis a infecções e problemas parasitários.

## Eletroforese de proteínas

### Fundamento

A eletroforese é realizada para obter informação adicional sobre as diferentes frações proteicas. É uma técnica que permite a separação dos diferentes tipos de proteínas em um suporte (acetato de celulose ou gel de agarose) sob a influência de um campo elétrico. Assim, a pH alcalino, a maioria das proteínas estão carregadas negativamente e, ao aplicar um campo elétrico, migram para o polo positivo com diferente velocidade dependendo de suas propriedades físicas, obtendo a sua separação em frações. Para revelar as proteínas separadas na eletroforese, o suporte é tratado com corantes específicos (negro de amido, azul de Coomassie ou azul de bromofenol) aparecendo as frações proteicas como bandas com intensidade de cor variável, podendo ser quantificadas por um densitômetro. Os resultados se mostram no proteinograma ou imagem das distintas frações proteicas (Figura 15). A

largura e altura de cada fração indica a quantidade relativa de cada fração proteica. Combinando essa informação com a concentração de proteínas totais (determinada por refratometria ou colorimetria), é possível calcular os valores absolutos de cada fração proteica.

### Frações proteicas na eletroforese

Em geral, são diferenciadas, como mínimo, cinco frações proteicas na eletroforese (Figura 15).

#### Albumina

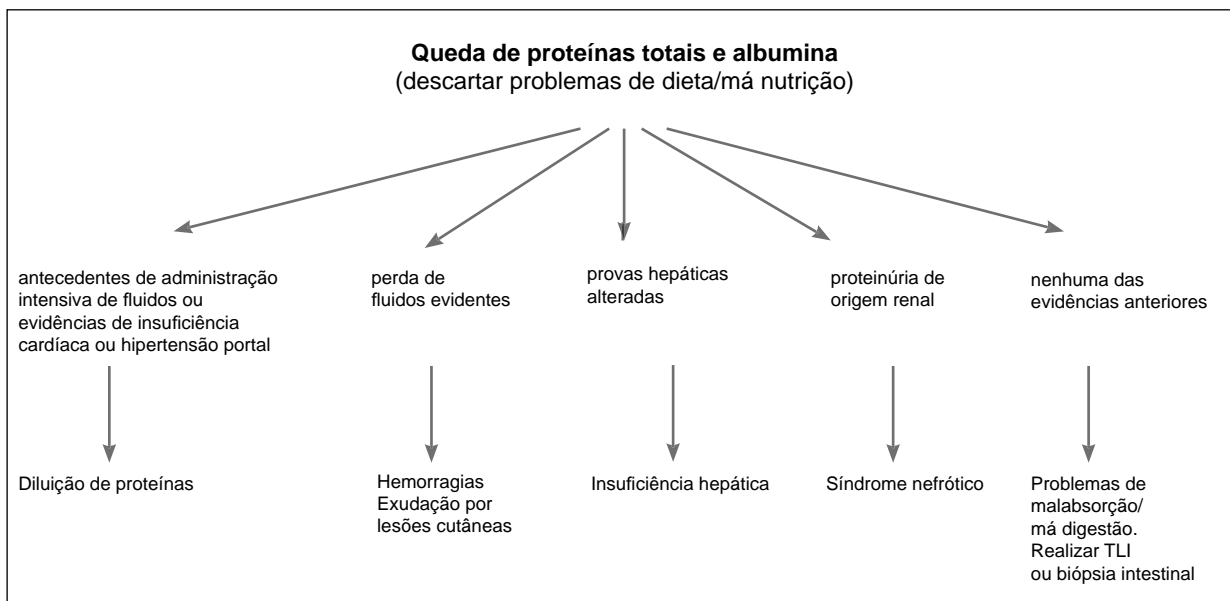
Tendo maior eletronegatividade, a albumina migra a maior velocidade e aparece mais próxima do pólo positivo. Esta fração está representada por um pico agudo, integrado por apenas uma proteína.

#### Alfa-globulinas

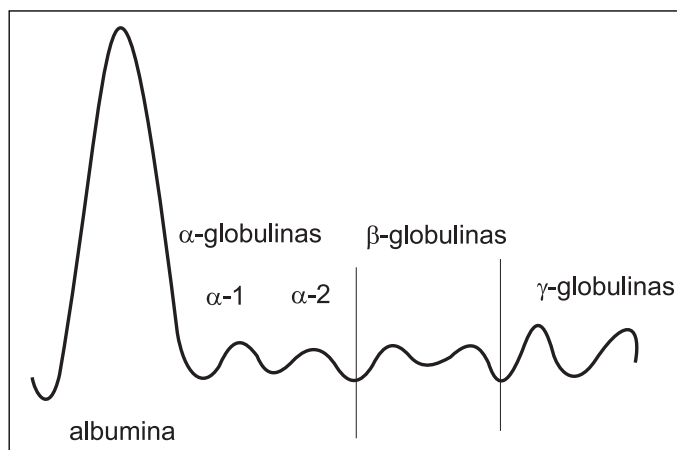
De forma global, as frações alfa (1 e 2) estão integradas por dois componentes: as proteínas de fase aguda e as lipoproteínas (Quadro 5). As proteínas de fase aguda mostram variação em sua concentração quando ocorre qualquer processo inflamatório e, portanto, constituem importantes marcadores da inflamação. São diferenciadas em dois tipos:

- 1- Proteínas de fase aguda negativas, que diminuem sua concentração diante de uma inflamação (ex. albumina e transferrina).
- 2- Proteínas de fase aguda positivas, que aumentam sua concentração com a inflamação (ex. haptoglobina, proteína C-reativa, amiloide A sérica, alfa-1 glicoproteína e ceruloplasmina).

A magnitude da resposta de cada proteína varia conforme a espécie. Assim, em ruminantes a haptoglobina é a proteína que mais aumenta, enquanto, no cão, é a proteína C-reativa.



**Figura 14** – Causas de diminuição de proteínas totais e albumina.



**Figura 15** – Proteinograma eletroforético com as diferentes frações.

QUADRO 5 – RELAÇÃO ENTRE AS FRAÇÕES DE ALFA-GLOBULINAS COM PROTEÍNAS DE FASE AGUDA E LIPOPROTEÍNAS

Fração	Tipo de proteína de fase aguda	Tipo de lipoproteína
Alfa-1 globulina	alfa-1 glicoproteína alfa-1 antitripsina	HDL
Alfa-2 globulina	haptoglobina ceruloplasmina amiloide A sérico	LDL VLDL



## Beta-globulinas

Nesta fração, embora estejam outras proteínas, como a transferrina, destacam-se proteínas com função imunológica, como as imunoglobulinas IgM e IgA. Também nesta fração, aparece a proteína C-reativa, que é uma das proteínas de fase aguda que mais aumenta no cão em um processo inflamatório.

Nas beta-globulinas, incluem-se também compostos que podem produzir interferências ou artefatos, como fibrinogênio (importante considerar em amostra de plasma) e hemoglobina (importante em amostras com hemólise).

## Gama-globulinas

Esta fração está integrada apenas pelas imunoglobulinas, sendo dividida por alguns autores em duas frações:

- gama 1, integrada por IgM e IgE
- gama 2, integrada por IgG

As diferentes imunoglobulinas estão distribuídas entre as frações beta e gama. Dessa forma, as IgA e parte das IgM estão na fração beta, enquanto na fração gama estão o resto das IgMs e parte das IgGs, que, quantitativamente e em condições normais, representam 85 % das imunoglobulinas.

## Valores de referência do proteinograma

O soro contém um grande número de proteínas diferentes, e a eletroforese permite separar essas proteínas em grandes frações que, por sua vez, estão integradas por um grande número de proteínas distintas. Em função das condições da eletroforese (suporte, voltagem e pH do tampão) e do poder resolutivo da técnica utilizada no laboratório, poderá visualizar-se um número maior ou menor de picos com diferente qualidade.

Assim, o número e nome dos picos varia nos diferentes laboratórios, inclusive na mesma espécie animal. Também contribui para essa variabilidade a falta de uma normativa clara para separar as diferentes frações, uma vez que o único claramente definido é a situação da albumina (mais próxima do polo positivo) e o ponto de separação entre as frações alfa e beta (ponto médio do proteinograma). O resto de frações são separadas com base no aparecimento de vales ou zonas em forma de “U” no traçado eletroforético.

Essa situação faz com que seja recomendado que cada laboratório tenha seus próprios valores e traçados eletroforéticos normais estabelecidos e validados para cada espécie animal, e que o clínico considere esta variabilidade na hora de enviar amostras para diferentes laboratórios.

## Interpretação clínica do proteinograma

Para realizar a interpretação do proteinograma, convém seguir os seguintes passos:

1. Considerar sempre a anamnese, o quadro clínico do animal e outros parâmetros analíticos do perfil básico. Dentro do quadro clínico, é importante indicar o grau de hidratação do animal.
2. Considerar a qualidade da amostra, uma vez que a hemólise e a lipemia podem influir na interpretação do proteinograma.
3. Interpretar as proteínas totais e os níveis de albumina e globulinas.
4. Interpretar o proteinograma conforme os pontos a seguir:

### • Características da albumina

O pico de albumina permite apreciar a qualidade do proteinograma, porque sempre migra ao mesmo lugar e deve ter uma base estreita. Podem encontrar-se aumentos ou baixas de albumina explicados anteriormente.

- Características de fração alfa

Aumentos de alfa-1 e alfa-2 globulinas: ocorrem em vários processos patológicos, tais como, problemas inflamatórios agudos, que aumentam as proteínas de fase aguda integradas nesta fração, sobretudo a haptoglobina, entre os quais problemas infecciosos e parasitários, traumatismos e tumores. Também ocorrem no síndrome nefrótico, que aumenta as lipoproteínas desta fração. Contudo, esta doença geralmente é diagnosticada previamente com a presença de proteinúria, sem sinais de inflamação no trato urinário, de forma que o proteinograma nesse caso seria complementar. Também pode haver altas concentrações de alfa-2 globulinas em cães tratados com corticoides. A causa pode ser a mobilização de lipoproteínas, embora possa ser mais importante o aumento de haptoglobina induzido pelos corticoides.

Baixa de alfa-2 globulinas: Este fato pode ser devido a hemólise intravascular, ou por formação de complexos hemoglobina-haptoglobina, que são fagocitados pelos macrófagos do sistema reticuloendotelial, especialmente no fígado, causando diminuição de haptoglobina. Isso pode ser confirmado por outros achados, como queda no valor do hematócrito e diversos sinais analíticos e clínicos de anemia hemolítica. A baixa desta fração pode estar mascarada por um processo inflamatório associado à hemólise.

- Características das frações beta e gama

Elevação das beta-globulinas: Com exceção de aumentos devido à transferrina em casos de déficit de ferro (anemia ferropênica), é raro encontrar aumento isolado da fração beta. Assim, quase sempre, a elevação de beta-globulinas está relacionada com aumentos da fração gama. Em ocasiões aparece um pico único das duas frações denominado “bloqueio beta-gama”, produzido por aumento de várias imunoglobulinas.

Elevação de gama-globulinas: Ocorre em grande quantidade de processos denominados gamopatias, que podem ser divididas em policlonais e monoclonais, diferenciadas mediante o proteinograma. Para isso, compara-se a fração gama com a base da fração albumina. Se for similar à albumina (estreita), estará integrada por uma só proteína (monoclonal). Se o pico tiver a base larga comparada com a albumina, conterá diferentes proteínas (policlonal). A gamapatia policlonal está relacionada com processos inflamatórios de tipo crônico, como infecções-infestações crônicas ou doenças imunomediadas. A gamapatia monoclonal é produzida por proliferações clonais de células neoplásicas da série de linfócitos B, como em casos de tumores de células plasmáticas (mieloma múltiplo ou plasmocitoma), e em leucemia linfocítica crônica de células B funcionais ou linfoma de células B funcionais.

### **Proteínas de fase aguda**

O estudo das Proteínas de Fase Aguda (PFAs) começou com a descoberta da Proteína C Reativa (CRP) em 1930. As PFAs participam da Reação de Fase Aguda do organismo, que foi definida pela primeira vez em 1941 por Abernethy e Avery como a resposta do organismo a lesão, infecção ou trauma de um tecido, ou a transtornos imunológicos ou metabólicos. A reação de fase aguda compreende uma série de eventos destinados a prevenir o dano aos tecidos, eliminar os organismos infecciosos e melhorar o processo de recuperação da homeostase (equilíbrio) no organismo. Ela inicia com os macrófagos do tecido afetado ou com os monócitos e linfócitos sanguíneos que liberam uma série de mediadores químicos, entre eles as citocinas, as quais atuam sobre fibroblastos e células endoteliais vizinhas à lesão causando uma segunda onda de citocinas, que disparam a reação de fase

aguda atuando local e sistemicamente. Localmente, as citocinas medeiam o recrutamento de neutrófilos e células mononucleares para o lugar de inflamação. Sistemicamente, atuam sobre o sistema imune, a medula óssea, o cérebro e o fígado (Figura 16). A reação é complementada com a resposta febril, aumento de ACTH, leucocitose e alteração da expressão hepática das PFAs.

A função das PFAs está refletida nas suas atividades atribuídas, tais como retirar restos celulares, hemoglobina e radicais livres, unir componentes bacterianos, ativar o complemento, fazer redistribuição do colesterol e promover a produção de imunoglobulinas.

As PFAs hepáticas têm sido classificadas como positivas e negativas dependendo de seu aumento ou diminuição, respectivamente, diante de um estímulo. Entre as PFAs negativas estão a albumina e a transferrina. Entre as PFAs positivas estão a haptoglobina (Hp), a proteína C reativa (CRP), a amiloide A sérica (SAA), a ceruloplasmina (Cp), o fibrinogênio e a glicoproteína alfa1-ácida (AGP ou ASG).

Uma aplicação prática da análise das PFAs, que inclusive têm sido chamadas de “termômetros químicos”, é auxiliar no diagnóstico de doenças inflamatórias e infecciosas com bastante sensibilidade. Também têm sido detectados aumentos em casos de trauma quirúrgico, estresse de transporte e em transtornos metabólicos, como acidose e lipídose hepática. Em casos de mastite em vacas, os valores podem aumentar tanto no sangue quanto no leite

As PFAs têm padrões de secreção e comportamento diferentes dependendo da espécie animal (Quadro 6). Consideram-se PFAs principais aquelas que, após um estímulo, aumentam em mais de 100 vezes e PFAs moderadas aquelas que têm aumentos de 2 a 3 vezes.

## Haptoglobina

A haptoglobina (Hp) é uma glicoproteína tetramérica que tem a propriedade de unir-se à hemoglobina. Essa propriedade permite retirar a hemoglobina de circulação e levá-la ao fígado para ser catabolizada a fim de prevenir lesões renais e evitar a sua perda pela urina quando ocorre hemólise. A Hp é considerada uma das principais PFAs, principalmente nos ruminantes, uma vez que, nos animais sãos, a sua concentração sérica é muito baixa ou indetectável, ao passo que em vários estados patológicos ocorrem aumentos consideráveis chegando a até 100 vezes seu valor de referência. O aumento da Hp é rápido e pode detectar animais infectados antes da apresentação de sinais clínicos, sendo que sua concentração pode ser usada como indicador da severidade da infecção.

O achado recente de que a Hp é secreta pelo leite e de que aumenta sua concentração em casos de mastite confere grande potencial a esta proteína de fase aguda no diagnóstico precoce deste problema em ruminantes, ainda mais com evidências de que os aumentos seriam detectados antes de que aumentem as contagens de células somáticas, o que era até agora considerado o indicador mais sensível nesses casos (“gold standard”).

Em suínos, a Hp ajuda na monitoração do estado sanitário e do nível productivo, observando-se aumentos em vários tipos de infecções bacterianas e em situações de estresse por transporte ou abate. Em cães, os níveis de Hp mostram correlações positivas e aumento em condições inflamatórias e por aplicação de corticoides.

## Amiloide A sérica

A proteína amiloide A sérica (SAA) é uma apolipoproteína associada a proteínas HDL

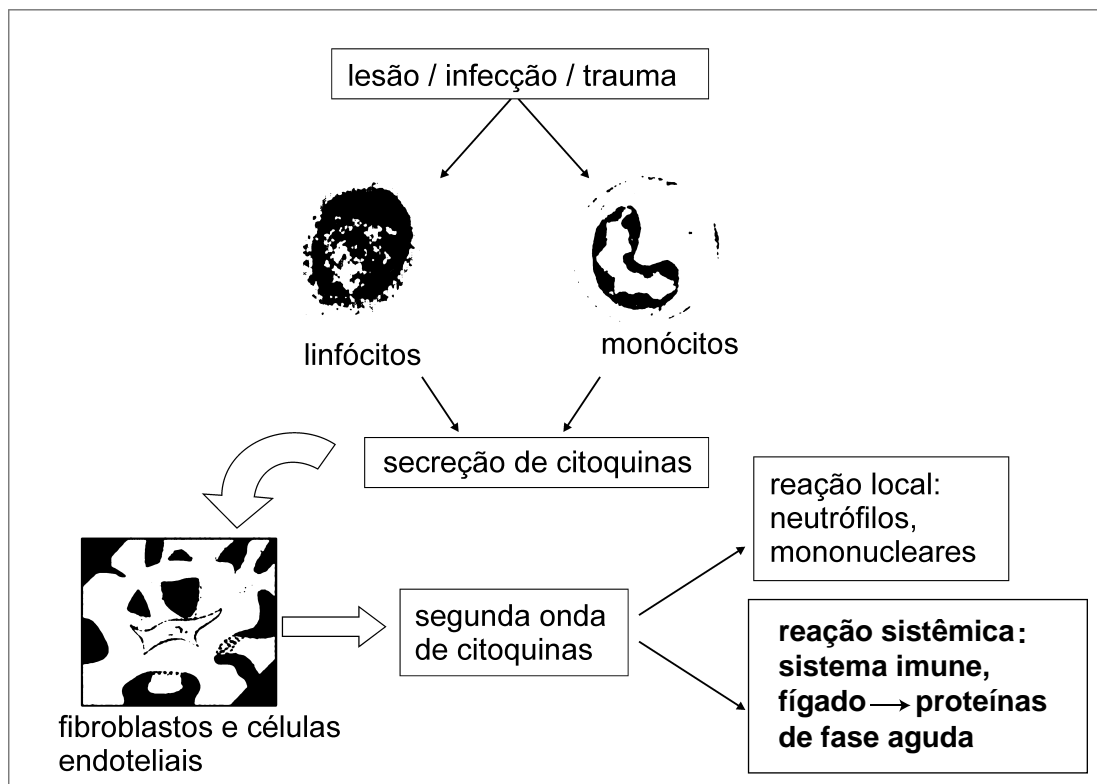


Figura 16. Eventos na reação de fase aguda do organismo.

QUADRO 6 – PRINCIPAIS PROTEÍNAS DE FASE AGUDA EM VÁRIAS ESPÉCIES ANIMAIS.

Espécie	Proteínas de fase aguda principais (aumentos de > 100 vezes)	Proteínas de fase moderadas (aumentos de 2-3 vezes)
Ruminantes	haptoglobina, amiloide A sérica	glicoproteína $\alpha$ 1-ácida, $\alpha$ 1-antitripsina, proteína C reativa
Caninos	proteína C reativa, amiloide A sérica	haptoglobina
Suínos	proteína C reativa, amiloide A sérica	pig-MAP ( <i>major acute phase protein</i> ), haptoglobina
Cavalos	amiloide A sérica	proteína C reativa, fibrinogênio
Humanos	proteína C reativa, amiloide A sérica	glicoproteína $\alpha$ 1-ácida, haptoglobina

durante a resposta de fase aguda. Seu nome se deve à semelhança com a Amiloide A, uma proteína fibrosa presente na amiloidose sistêmica. Junto com a Hp, essas proteínas têm sido estudadas como as principais PFAs nos ruminantes. A Hp e a SAA sofrem aumentos após transporte de caminhão 24 a 48 h após o início, o que está relacionado com outros indicadores de estresse (neutrofilia e linfopenia). A relação entre estresse e PFAs está ligada à modulação que os glicocorticoides exercem sobre a produção hepática destas proteínas. O potencial das PFAs em relação a estudos de bem-estar animal e estresse deverá ser mais explorado no futuro.

Em ruminantes também tem sido achado aumento de SAA em casos de mastite. Em suínos ocorrem aumentos de SAA mais rápidos que os de Hp em casos de infecções por *Actinobacillus*. Em cavalos, a SAA é a PFA de escolha com grandes aumentos em casos de infecções bacterianas ou virais. Parece que em bovinos a SAA indicaria lesões inflamatórias agudas, enquanto a Hp indicaria patologias mais crônicas.

#### Proteína C reativa

A proteína C reativa (CRP), a primeira das PFAs a ser descrita em 1930, foi batizada assim porque foi descoberta no soro de humanos com infecção pneumocócica onde havia reação com o polissacarídeo C do pneumococo. Possui mais importância em caninos, felinos e suínos, e menos em cavalos e ruminantes. Em cães com tumores, a concentração de CRP sérica encontrada tem sido maior naqueles com a doença disseminada do que naqueles com neoplasia localizada ou benigna.

#### Ceruloplasmina

A ceruloplasmina (Cp) tem sido estudada como uma glicoproteína de origem hepática transportadora de cobre. Seus aumentos após estímulo inflamatório são pequenos, considerada, portanto, como uma PFA moderada. Têm sido relatados aumentos em suínos infestados com tênia, em bovinos com metrite e na involução uterina.

#### Glicoproteína $\alpha$ 1-ácida

A glicoproteína  $\alpha$ 1-ácida (ASG) faz parte das proteínas consideradas como seromucoídes, caracterizadas por possuírem cadeias de oligossacarídeos, principalmente ácido siálico na sua estrutura. Estas proteínas resistem à precipitação com ácidos, sendo a fração que fica solúvel após a adição de ácido perclórico. A ASG é considerada uma PFA moderada.

#### Fibrinogênio

O fibrinogênio, glicoproteína de origem hepática, participa da reação de coagulação sanguínea (fator I) como o precursor da fibrina que é convertida por ação da trombina, na etapa final do processo. Por muitos anos, foi considerada a única proteína de fase aguda conhecida, tendo aumentos significativos em processos inflamatórios agudos e crônicos, sendo de maior utilidade nos ruminantes e nos cavalos. A sua determinação por método refratométrico e aquecimento a 56 °C faz dele a PFA mais fácil de determinar. O método consiste na obtenção de duas amostras de sangue em capilares de micro-hematócrito centrifugadas e na determinação da proteína no plasma pelo método refratométrico em

uma delas (P1), seguido de aquecimento a 56 °C por 3 minutos da segunda amostra, centrifugação e nova determinação da proteína no plasma (P2). O valor de fibrinogênio corresponde à diferença de P1– P2.

### Albumina

A albumina é a principal proteína plasmática, sendo considerada uma PFA negativa, isto é, diminui a sua síntese e concentração em processos inflamatórios. O aumento de fibrinogênio, além de outras PFAs, e o decréscimo na albumina são causados em parte por uma mudança brusca da produção de proteínas hepáticas com supressão da síntese de albumina e aumento da síntese de PFAs. Uma vez que a concentração de proteína total permanece constante, acredita-se que outras proteínas como as globulinas e as PFAs devem preencher o espaço resultante da diminuição de albumina circulante.

### Transferrina

A transferrina é uma glicoproteína plasmática transportadora de ferro. Embora apenas 0,1 % do ferro total do organismo esteja ligado à transferrina, ela constitui o mais importante “pool” desse mineral por sua altíssima taxa de troca entre tecidos. A transferrina liga com grande afinidade  $\text{Fe}^{3+}$ , mas não liga  $\text{Fe}^{2+}$ . É considerada, junto com a albumina, uma PFA negativa. Um baixo teor de transferrina em casos de infecções pode levar à anemia, pois ela é necessária para o transporte de Fe destinado à síntese de hemoglobina. Contrariamente, uma anemia ferropriva leva a aumento no teor de transferrina

## REFERÊNCIAS

- ABERNETHY, T. J.; AVERY O. T. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. *J. Exp. Med.* v. 73, p. 173-182. 1941.
- COLE, D. J.; ROUSSEL, A. J.; WHITNEY, M. S. Interpreting a bovine CBC: Evaluating the leukon and acute-phase proteins. *Vet. Med.* v. 92, p. 470-478. 1997.
- DOOLITTLE, R. F. Proteins. *Sci. Am.*, v. 253, p. 88-99, 1985.
- ECKERSALL, P. D.; CONNER, J. G. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet. Res. Commun.*, v. 12, p. 169-178. 1988.
- ECKERSALL, P. D. et al. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Vet Rec.*, v. 148, p. 35-41. 2001.
- ECKERSALL, P. D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Revue Medicine Veterinaire*, v. 151, p. 577-584, 2000.
- ECKERSALL, P. D.; CONNER, J. G. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet. Res. Commun.*, v. 12, p. 169-178. 1988.
- GRUYS, E.; OBWOLO, M. J.; TOUSSAINT, M. J. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. *Vet. Bull.*, v. 64, p. 1009-1018. 1994.
- HOLMES, F. L. Hans Krebs and the discovery of the ornithine cycle. *Fed. Proc.* v. 39, p. 216-225. 1980.
- JENTOFT, N. et al. At the crossroads of chemistry and immunology: catalytic antibodies. *Sci.*, v. 252, p. 659-667. 1991.
- TENNANT, B. C. Hepatic function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997.
- KANEKO, J. J. Porphyrins and the porphyrias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5 ed. San Diego: Academic Press, 1997, cap. 8, p. 205-221.
- MARTÍNEZ-SUBIELA, S. et al. Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinaria. *An. Vet.*, (Murcia) v. 17, p. 99-116. 2001.
- MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet. J.*, v.168, p.24-40. 2004.
- ORTOLANI, E. L. et al. Diuresis alleviates ammonia poisoning in cattle through ammonium excretion in the urine. In: CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA, XXII, 2002, Hannover. *Annals...* Hannover: WAB, 2002.
- ROTHUIZEN, J. Ictericia. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de medicina interna veterinária*. Doenças do cão e do gato. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, v. 1, cap. 58, p. 218-220.
- TEZCAN, I.; XU, W.; GURGEY, A. Congenital erythropoietic porphyria successfully treated by allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, v. 92, n. 11, p. 4053-4058, 1998.
- WILLARD, M. D.; FOSSUM, T. W. Doenças da vesicular biliar e do sistema biliar extra-hepático. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de medicina interna veterinária*. Doenças do cão e do gato. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, v. 2, cap. 145, p. 1413-1417.
- WITTWER, F. et al. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Archivos de Medicina Veterinaria*, v. 25, p. 165-172, 1993.

### INTRODUÇÃO

Os lipídeos são definidos como biomoléculas insolúveis em água que podem ser extraídas das células por solventes orgânicos, como éter, clorofórmio, hexano, acetona, etc. Suas conformações e funções são muito variadas. Os lipídeos mais abundantes são os triglicerídeos, que têm função armazenadora de energia; os fosfolipídeos fazem parte das membranas biológicas; o colesterol tem importantes funções biológicas, sendo precursor dos hormônios esteroidais e dos ácidos biliares e também fazendo parte da estrutura das membranas; o ácido araquidônico é precursor de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, compostos que regulam vias metabólicas e processos inflamatórios. Finalmente, as vitaminas lipossolúveis têm importantes funções metabólicas.

Entre as principais funções dos lipídeos no organismo estão as seguintes:

- a) Constituir a estrutura das membranas biológicas (fosfolipídeos, colesterol).
- b) Manter reservas de energia (triglicerídeos).
- c) Fornecer moléculas precursoras dos hormônios esteroidais (colesterol) e das prostaglandinas (ácido araquidônico).
- d) Manter o calor corporal e servir de suporte e proteção das vísceras (triglicerídeos).

A função de servir como compostos armazenadores de energia é exercida pelos triglicerídeos de forma mais eficiente que os

glicídeos, devido a sua estrutura menos oxidada formada por cadeias hidrocarbonadas. Enquanto a oxidação total de um triglicerídeo rende aproximadamente 37,6 kJ/g, a oxidação de um glicídeo rende 16,7 kJ/g. Por outro lado, por estarem menos hidratados do que os glicídeos, os triglicerídeos podem ser armazenados de forma mais concentrada. Devido a sua hidrofobicidade e completa insolubilidade na água, os triglicerídeos ficam limitados no espaço das gotas citoplasmáticas que não afetam a osmolaridade do citosol e, portanto, não contêm água de solvatação como os glicídeos, o que aumenta o peso e o volume da célula.

A própria insolubilidade dos triglicerídeos faz com que os processos de digestão e transporte desses compostos sejam mais complicados, pois eles devem ser emulsificados no intestino antes de serem absorvidos e somente podem ser transportados no sangue mediante as lipoproteínas.

Os lipídeos podem ser classificados em:

1. Lipídeos compostos, aqueles que após hidrólise rendem ácidos graxos; entre eles estão:

(a) triglicerídeos: compostos por glicerol e ácidos graxos;

(b) fosfoglicerídeos: compostos por glicerol, ácidos graxos, grupos fosfato e grupos amino-álcool;

(c) esfingolipídeos: compostos por esfingosina, ácidos graxos e outros grupos (glicídeos, grupos fosfato e aminoálcoois).



2. Lipídeos simples, aqueles que após hidrólise não produzem ácidos graxos; entre eles estão:

(a) esteróis: o mais importante nos animais é o colesterol;

(b) derivados de ácidos graxos com função metabólica, como as prostaglandinas;

(c) isoprenoides: vitaminas lipossolúveis A, D, E e K.

#### DIGESTÃO E ABSORÇÃO DOS LIPÍDEOS

A digestão dos lipídeos tem como objetivo fazer uma emulsão miscível integrada pelos compostos hidrofóbicos, principalmente triglicerídeos e colesterol, dissolvendo-os para que se possam absorver no intestino delgado na forma de ácidos graxos livres e monoglicerídeos. Os fosfolipídeos, por sua característica anfipática, determinada pelas porções polar (grupo fosfato e base nitrogenada) e apolar (cadeias de ácidos graxos esterificados) ajudam na emulsificação e, portanto, na absorção dos demais lipídeos.

#### Animais monogástricos

A verdadeira hidrólise e emulsificação das gorduras se realiza no duodeno, devido à ação dos seguintes fatores: (a) a bile, secretada pelo fígado; (b) a enzima lipase e seu cofator colipase, secretadas pelo pâncreas; e (c) a ação mecânica dos movimentos peristálticos do intestino.

A ação mais importante da bile é a formação de micelas, a fim de facilitar a digestão e absorção dos lipídeos no intestino. A bile favorece a emulsificação das gorduras, ou seja, causa uma diminuição do tamanho das gotas lipídicas, as quais entram no intestino com um diâmetro de 50.000 nm e são convertidas em micelas de 300-1.000 nm. Os componentes da bile (Tabela 1) têm propriedades emulsificantes por suas características anfipáticas.

Em bovinos e aves, a bile é verde por causa dos altos teores de biliverdina. O pH da bile varia em função da espécie animal: na vaca é 6,7-7,5; na ovelha, 5,9-6,7; nas aves, 5,8-6,0; no cão, 7,4-8,5; e no humano, 7,8. Não existe vesícula biliar no cavalo, no rato e no veado. A gravidade específica da bile está por volta de 1,01 g/mL.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO E CARACTERÍSTICAS DA BILE

Componente	% do total	% de sólidos
Água	97	..
Sólidos	2,52	100*
Mucina e pigmentos <sup>1</sup>	0,53	21,3
Sais biliares <sup>2</sup>	1,93	36,9
Colesterol	0,06	2,4
Ácidos graxos	0,14	5,6
Sais inorgânicos <sup>3</sup>	0,84	33,3

<sup>1</sup> Bilirrubina e biliverdina. <sup>2</sup> Derivadas dos ácidos taurocólico e glicocólico. <sup>3</sup> Na, Cl, K, Ca, Mg, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

\* A soma dos componentes não chega a 100% porque os valores são aproximados.

Nota: Sinal convencional utilizado:

.. Não se aplica dado numérico.

A bile não é absolutamente necessária para a absorção de gorduras no cão e no rato, espécies em que 30-40 % dos triglicerídeos podem ser absorvidos em ausência de bile após a sua hidrólise. Entretanto, a absorção de colesterol e de vitaminas lipossolúveis é totalmente dependente da bile. Assim, na insuficiência pancreática, pode haver deficiência na absorção de triglicerídeos, mas a presença de micelas da bile garante a absorção de colesterol e das vitaminas A, D, E e K.

A ação da lipase/colipase é hidrolisar os triglicerídeos em ácidos graxos livres e monoglicerídeos; estes últimos têm um ácido graxo na posição C-2 e, por sua vez, constituem agentes emulsificantes graças a sua condição anfipática, polar pelo glicerol e apolar pelo ácido graxo. Assim, vai se formando uma emulsão cada vez mais fina, o que facilita a ação hidrolítica da enzima e a formação de micelas cada vez menores.

As micelas interatuam com as microvilosidades intestinais, onde se absorvem os monoglicerídeos e os ácidos graxos livres. Os monoglicerídeos com um ácido graxo insaturado são mais solúveis na micela do que aqueles que possuem ácido graxo saturado. A hidrólise dos ácidos graxos de cadeias curta e média (até 12 C) é mais rápida que no caso dos ácidos graxos de cadeia longa (> 12C). A bile da micela permanece no duodeno para continuar emulsificando gotas lipídicas, podendo também recircular para o fígado através de absorção no jejuno ou bem excretar-se pelas fezes.

Após a absorção, dentro da mucosa intestinal, os ácidos graxos e os monoglicerídeos se reesterificam para formar triglicerídeos e se combinam com colesterol, fosfolipídeos e proteínas para formar os quilomícrons, lipoproteínas que constituem a forma de transporte dos lipídeos no sistema linfático, desembocando na circulação geral via duto

torácico. A reesterificação dos ácidos graxos na mucosa intestinal é uma etapa limitante na velocidade de absorção dos lipídeos.

A absorção dos ácidos graxos de cadeia curta e média é mais rápida que a dos ácidos graxos de cadeia longa, devido aos primeiros terem maior velocidade de hidrólise e a escaparem do passo limitante de reesterificação após a absorção. Esta observação é de importância clínica no tratamento de síndrome de má absorção, devido à obstrução biliar ou linfática ou à insuficiência pancreática.

Os fosfolipídeos são hidrolisados no intestino a fosfoglicerato e ácidos graxos, forma como são absorvidos; depois, na célula epitelial intestinal são reesterificados para unirem-se aos quilomícrons. Os ácidos graxos de cadeias menores de 12 carbonos não são transportados via linfática depois de serem absorvidos, mas vão diretamente pela circulação portal para o fígado.

## **Animais ruminantes**

Em geral, a dieta dos ruminantes é baixa em lipídeos, embora se usem eventualmente suplementos de óleo vegetal e sebo animal. A fonte mais frequente de lipídeos, na dieta dos ruminantes, está constituída pelos galactolipídeos das forragens, que possuem uma alta proporção de ácidos graxos insaturados. Ocasionalmente consomem alguns triglicerídeos contidos nos cereais. Altas quantidades de gordura na dieta dos ruminantes podem causar diminuição do apetite e da digestibilidade de outros nutrientes, a menos que sejam fornecidos na forma de lipídeos “protegidos”.

Os bezerros possuem uma lipase salivar secretada na base da língua, que hidrolisa parte dos lipídeos que ingressam no trato digestivo e que tem importância nos neonatos, onde a produção de lipase pancreática é baixa. Os microrganismos do rúmen hidrolisam

os lipídeos compostos, liberando ácidos graxos. Os ácidos graxos insaturados são rapidamente reduzidos (saturados) pelas bactérias do rúmen. O glicerol e a galactose seguem processo fermentativo até ácidos graxos voláteis para serem absorvidos no rúmen.

Os ácidos graxos saturados produzidos no rúmen são absorvidos no intestino delgado, junto com outros ácidos graxos de origem microbiana, que têm uma alta proporção de ácidos ramificados e de número ímpar de carbonos. No intestino delgado dos ruminantes formam-se micelas, embora com menor quantidade de triglicerídeos que nos monogástricos. A maioria dos ácidos graxos é absorvida na parte inferior do jejuno. Apesar de o intestino dos ruminantes receber principalmente ácidos graxos livres, também opera a absorção de monoglicerídeos, como nos monogástricos.

Nas células intestinais, formam-se lipoproteínas que são transportadas pelo sistema linfático. Diferentemente dos monogástricos, nos ruminantes forma-se maior proporção de VLDL que de quilomícrons (75 e 25 %, respectivamente). Tanto em monogástricos quanto em ruminantes, a taxa de absorção dos ácidos graxos é maior para os insaturados e de cadeia curta, do que para os saturados e de cadeia longa.

#### ÁCIDOS GRAXOS: A PRINCIPAL CARACTERÍSTICA DOS LIPÍDEOS

Os ácidos graxos formam parte da estrutura da maioria dos lipídeos. São ácidos orgânicos hidrocarbonados, altamente reduzidos, com cadeias de variado comprimento (entre 1 a 36 carbonos) e proporcionam aos lipídeos seu caráter hidrofóbico. Os ácidos graxos mais abundantes nos animais são os de 16 e 18 carbonos.

Os ácidos graxos podem ter insaturações, ou seja, duplas ligações em suas cadeias. As insaturações geralmente estão depois do C-9 em direção ao grupo metilo-terminal ( $-\text{CH}_3$ ) sempre separadas por grupos metileno ( $\dots-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\dots$ ). Geralmente a dupla união tem configuração *cis*, o que ocasiona uma dobra rígida na estrutura do ácido. A dupla união é especificada com a letra grega delta maiúsculo ( $\Delta$ ) e sua posição com um número sobrescrito.

Os ácidos graxos existentes na natureza são majoritariamente de número par de átomos de carbono e são lineares, isto é, sem ramificações (Tabela 2). A exceção está em alguns ácidos graxos bacterianos, que são ímpares e ramificados, como das bactérias do rúmen, cujos ácidos graxos são absorvidos no intestino e aparecem no leite dos ruminantes. O ponto de fusão do ácido graxo incrementa-se com o aumento do comprimento da cadeia, mas as insaturações diminuem o ponto de fusão em ácidos do mesmo número de carbonos.

Os ácidos graxos voláteis (AGV) são aqueles constituídos por 1 a 5 carbonos e, devido a seu tamanho, são hidrossolúveis. Têm importância em animais ruminantes, pois se acham em altas quantidades no rúmen, como produto da digestão dos glicídeos. De especial importância no metabolismo energético desses animais são os ácidos acético, propiônico e butírico, bem como o derivado  $\beta$ -hidroxibutírico.

#### Ácidos graxos essenciais

A essencialidade, isto é, a necessidade de ingerir na dieta alguns ácidos graxos insaturados, particularmente o ácido linolênico, é conhecida desde 1928, quando Evans e Burr

TABELA 2 – PRINCIPAIS ÁCIDOS GRAXOS E SEUS PONTOS DE FUSÃO

Ácido Graxo	Número de carbonos	Ponto de fusão (°C)
Butírico	4	-4,3
Caproico	6	-2,0
Caprílico	8	16,5
Cáprico	10	31,4
Láurico	12	44,2
Mirístico	14	53,9
Palmítico	16:0	63,1
Palmitoleico	16:1 ( $\Delta^9$ )	-0,5
Esteárico	18:0	63,1
Oléico	18:1 ( $\Delta^9$ )	13,4
Linoleico	18:2 ( $\Delta^{9,12}$ )	-5,0
Linolênico	18:3 ( $\Delta^{9,12,15}$ )	-11,0
Araquídico	20:0	76,5
Araquidônico	20:4 ( $\Delta^{5,8,11,14}$ )	-49,5
Lignocérico	24:0	86

demonstraram a consequência da deficiência deste ácido em ratos. Os animais superiores não têm a capacidade metabólica de sintetizar esses ácidos, que devem, portanto, ser fornecidos na dieta. Existem diferenças nos requerimentos dos ácidos graxos essenciais, dependendo da espécie animal. Os ácidos linoléico, linolênico e araquidônico, adicionados na dieta corrigem os problemas ocasionados por sua deficiência, tais como eczemas e lesões no aparelho urinário.

Os ácidos graxos essenciais encontram-se principalmente nos óleos vegetais; sua função é diversa e não muito bem definida, participando na síntese de prostaglandinas, substâncias com função hormonal, e de leucotrienos, substâncias relacionadas com as

células de defesa. Entretanto, sua principal função está relacionada com a integridade estrutural das membranas biológicas, como componentes dos fosfolipídeos.

#### OS TRIGLICERÍDEOS: MAIOR FONTE DE ENERGIA

Os triglicerídeos são os lipídeos mais abundantes na natureza e estão conformados por glicerol e três ácidos graxos, unidos mediante ligação éster. São conhecidos também como gorduras neutras, já que não contêm cargas elétricas e nem grupos polares.

Os triglicerídeos conformam os depósitos gordurosos no tecido adiposo animal e nos vegetais, principalmente nas sementes,

mas não fazem parte das membranas biológicas. A principal função dos triglicerídeos é servir como reserva de energia. Por serem compostos menos oxidados que os glicídeos, as gorduras rendem maior quantidade de energia na oxidação celular; também, por sua característica hidrofóbica, as gorduras armazenam-se em menor espaço do que os glicídeos, tendo capacidade praticamente ilimitada de armazenagem. Os glicídeos, pelo contrário, por estarem hidratados têm um limite de armazenamento.

A gordura animal armazena-se nas células do tecido adiposo (adipócitos), embaixo da pele, na cavidade abdominal e na glândula mamária e, além de servir de reserva energética, protege os animais contra o frio na forma de isolante e protege também as vísceras, amortecendo os movimentos fortes.

A característica do triglicerídeo depende do tipo e proporção dos ácidos graxos que o conformam; nas plantas, a proporção de ácidos graxos insaturados C-16 e C-18 é maior que nas gorduras de origem animal; nos derivados lácteos, tem importância a presença de ácidos graxos de cadeia curta, os quais provêm do metabolismo ruminal; na gordura animal, a soma dos ácidos graxos saturados C-16 e C-18 é um pouco maior do que a dos ácidos graxos insaturados.

Os óleos de origem vegetal são geralmente líquidos na temperatura ambiente (22 °C), devido à maior proporção de ácidos graxos insaturados, enquanto que as gorduras de origem animal são sólidas nessa mesma temperatura, pela maior presença de ácidos graxos saturados. A manteiga tem ponto de fusão mais baixo (32 °C) do que a gordura animal (59,6 °C) devido à presença de ácidos graxos de cadeia curta.

## Rancidez dos lipídeos

Os lipídeos podem sofrer rancidez hidrolítica quando existe liberação dos ácidos graxos unidos ao glicerol por causa de enzimas hidrolíticas, geralmente procedentes de microorganismos; o exemplo típico é o ácido butírico liberado da manteiga, que dá um cheiro característico.

Os lipídeos também podem sofrer rancidez oxidativa por oxidação dos carbonos comprometidos nas duplas ligações dos ácidos graxos insaturados, devido a um ambiente com alta concentração de O<sub>2</sub> ou à presença de peróxidos ou radicais livres produzidos no metabolismo nas células. As membranas celulares são as mais afetadas com essa oxidação, já que esta altera a estrutura dos fosfolipídeos e o próprio funcionamento da membrana. Para evitar esses eventos, a célula utiliza mecanismos de redução de peróxidos, através do glutatíon e da vitamina E. A teoria do envelhecimento assinala que este se apresenta quando os mecanismos antioxidantes começam a falhar.

Os ácidos graxos oxidados dificilmente são absorvidos pelo intestino e podem causar disfunções intestinais. Também podem interferir com o metabolismo lipídico causando problemas, como fígado gorduroso, ataxia e distrofia muscular.

## LIPOPROTEÍNAS: TRANSPORTE DOS LIPÍDEOS NO SANGUE

Após a sua absorção, na célula da mucosa intestinal, os triglicerídeos e fosfolipídeos reesterificados se combinam com uma pequena fração de proteína para formar os quilomícrons, lipoproteínas de transporte dos

lipídeos desde o intestino até o fígado. Além desses lipídeos, os quilomícrons também carregam ésteres de colesterol, colesterol livre, ácidos graxos livres e vitaminas lipossolúveis. O processo de formação dos quilomícrons depende da síntese da fração proteica pela mucosa intestinal.

Nenhum dos lipídeos encontrados no plasma pode circular livremente pela corrente sanguínea devido a sua insolubilidade em meio aquoso, e para seu transporte têm de estar unidos a lipoproteínas plasmáticas específicas. Os ácidos graxos livres viajam pelo plasma associados à albumina.

As lipoproteínas plasmáticas são proteínas associadas com lipídeos que servem para transportar pelo sangue triglicerídeos e, em menor quantidade, fosfolipídeos e colesterol. A separação de lipoproteínas mediante ultracentrifugação divide 6 frações em função de suas diferenças de densidade, conhecidas por suas siglas do inglês: HDL (lipoproteínas de alta densidade), LDL (lipoproteínas de baixa densidade), IDL (lipoproteínas de densidade intermediária), VLDL (lipoproteínas de densidade muito baixa), quilomícrons e remanentes de quilomícrons. As diferentes lipoproteínas diferem entre si conforme a proporção de lipídeos que contêm (entre 50 a 90 %), o que causa diferente densidade; quanto maior for o conteúdo de lipídeos, menor é a densidade da lipoproteína (Tabela 3).

As lipoproteínas com maior conteúdo de lipídeos e também as de maior tamanho são os quilomícrons, sintetizadas nas células intestinais, estando encarregadas de transportar triglicerídeos desde o intestino delgado até o fígado. Os remanentes de quilomícrons se referem a partículas derivadas dos quilomícrons após a remoção parcial

de triglicerídeos pela ação da lipoproteína-lipase, enzima de membrana das células, sendo, portanto, ricos em colesterol e mais densos que os quilomícrons.

As VLDL transportam triglicerídeos do fígado para os tecidos periféricos e são sintetizadas no fígado. As LDL e IDL são geradas a partir de VLDL no plasma, por ação da enzima lipoproteína-lipase. As LDL são as lipoproteínas que transportam maior quantidade de colesterol. As IDL, cuja densidade está entre 1,006 e 1,019 são designadas como importantes intermediários lipolíticos entre VLDL e LDL.

As HDL são produzidas no fígado e transportam fosfolipídeos e ésteres de colesterol desde os tecidos periféricos até o fígado para sua excreção. As lipoproteínas HDL e LDL transportam cerca de 90 % do colesterol e dos fosfolipídeos no plasma.

O colesterol plasmático no cão é transportado igualmente por LDL (colesterol-LDL) e por HDL (colesterol-HDL). Nos humanos, o colesterol é transportado majoritariamente por LDL, e cerca de 20 % por HDL. Essa divisão é importante, porque o aumento de colesterol-LDL nos humanos tem sido associado com aterosclerose (acúmulo de gordura nas artérias) e, portanto, com o risco de sofrer problemas cardíacos, enquanto que o aumento de colesterol-HDL tem sido associado com diminuição do risco de sofrer problemas cardíacos.

As porções proteicas das lipoproteínas chamam-se apoproteínas, das quais existem vários tipos e parecem influir na afinidade das lipoproteínas por certos receptores celulares, regulando a distribuição dos lipídeos nos diferentes tecidos. As apoproteínas B, C e E estão associadas a VLDL. Na conversão

TABELA 3 – COMPOSIÇÃO PERCENTUAL DOS COMPONENTES DAS PRINCIPAIS LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS.

Lipoproteína	Densidade (g/mL)	Diâmetro (nm)	TG <sup>1</sup>	FL <sup>2</sup>	C <sup>3</sup>	P <sup>4</sup>
Quilomícron	0,92-0,96	50-200	85	9	4	2
VLDL	0,95-1,006	28-70	60	18	15	10
LDL	1,01-1,063	20-25	10	22	45	25
HDL	1,07-1,21	8-11	3	30	18	50

<sup>1</sup>TG: triglicerídeo; <sup>2</sup>F: fosfolípídeo; <sup>3</sup>C: colesterol; <sup>4</sup>P: proteínas.

de VLDL em IDL e LDL, perdem-se algumas apoproteínas, de forma que a IDL contém apo B e E, ao passo que a LDL possui quase exclusivamente apo B. Por outro lado, a apoproteína mais importante na HDL é a apo C.

A falha na síntese de apoproteínas no fígado, devido a intoxicações (clorofórmio, micotoxinas) ou devido a processos patológicos, leva à acumulação de lipídeos no fígado, causando fígado gorduroso ou lipídose hepática. Por outro lado, a deficiência de colina causa o mesmo problema devido à falta de fosfolípídeos, necessários para a formação do complexo lipoproteico.

A lipoproteína-lipase, enzima presente no endotélio dos capilares e na membrana das células adiposas, hidrolisa os triglicerídeos presentes nas lipoproteínas circulantes em ácidos graxos e glicerol, cumprindo um importante papel no equilíbrio das diferentes lipoproteínas. O glicerol permanece no sangue e volta para o fígado, onde é metabolizado, enquanto que os ácidos graxos entram nas células mediante um transporte passivo facilitado. Dentro da célula adiposa, os ácidos graxos são reesterificados para serem armazenados como triglicerídeos; na célula mamária, fazem parte da gordura do leite e, nas demais células, são oxidados para a obtenção de energia.

## LIPÓLISE: MOBILIZAÇÃO DE TRIGLICERÍDEOS

No estado de equilíbrio energético, o nível de ácidos graxos livres plasmáticos da vaca está entre 30 a 100 mg/L, nível que pode aumentar em estados de deficiência energética, quando ocorre mobilização de lipídeos. Encontram-se maiores variações da concentração sanguínea de ácidos graxos em regimes alimentares de refeições separadas (monogástricos) do que em regimes de consumo permanente (ruminantes).

Os depósitos de triglicerídeos no tecido adiposo estão sofrendo contínua hidrólise (lipólise) e reesterificação (lipogênese). Esses dois processos inversos ocorrem por duas vias metabólicas diferentes, cuja relação determina o nível plasmático dos ácidos graxos. A mobilização dos lipídeos (relação lipólise/lipogênese) é um processo controlado endocrinamente. Os hormônios que estimulam a lipólise são principalmente adrenalina e glucagon, que são secretados quando diminuem os níveis de glicose sanguínea. Outros hormônios que também têm ação lipolítica são ACTH, TSH, MSH, GH e vasopressina. Esses hormônios requerem da ação permissiva dos hormônios tireoidianos e dos glicocorticoides para obter um melhor efeito.

A insulina, por sua vez, antagoniza o efeito dos hormônios lipolíticos, isto é, inibe a ação da lipase e estimula a lipogênese por estimular as enzimas da esterificação dos ácidos graxos e aumentar os níveis de glicose na célula adiposa. A glicose é necessária para a esterificação dos ácidos graxos, pois constitui a fonte de glicerol-3-fosfato.

O mecanismo para que atuem os hormônios estimuladores da lipólise supõe o aumento de AMP cíclico (cAMP) intracelular. Similarmente ao mecanismo que desencadeia a degradação de glicogênio, o cAMP ativa uma proteína quinase, que por sua vez ativa a lipase hormônio-sensível. A enzima que catalisa a formação de cAMP, a adenilciclase, é inibida pelos ácidos graxos livres. Situações de estresse e de exercício físico forte causam aumento da lipólise devido ao aumento de adrenalina.

Na lipólise, os triglicerídeos armazenados na célula adiposa sofrem hidrólise pela ação da lipase hormônio-sensível para produzir três ácidos graxos livres e glicerol. O glicerol não pode ser utilizado pelo tecido adiposo e deve sair para o sangue e ir para o fígado para formar glicose via gliconeogênese ou entrar na rota glicolítica.

Quando a taxa de lipólise supera a taxa de lipogênese, os ácidos graxos se acumulam na célula adiposa e saem para o plasma, onde são transportados pela albumina e levados para os tecidos periféricos para servir como importante fonte energética. Os mais importantes desses ácidos graxos são os de cadeia longa, especialmente palmítico, esteárico, oléico, linoléico e linolênico.

## **Obtenção de energia a partir dos ácidos graxos: $\beta$ -oxidação**

Nos tecidos periféricos, os ácidos graxos sofrem oxidação e produzem moléculas de acetil-CoA, que podem incorporar-se ao ciclo de Krebs para a geração de energia. O tecido nervoso não utiliza ácidos graxos como fonte de energia; esse tecido usa preferivelmente glicose e, no caso de jejum prolongado, corpos cetônicos. O nível de ácidos graxos livres no plasma revela o grau de mobilização das gorduras de reserva, isto é, serve de indicador do equilíbrio energético do animal. Níveis plasmáticos de ácidos graxos livres superiores a 600  $\mu\text{mol/L}$  indicam uma mobilização anormalmente elevada de triglicerídeos.

O acetil-CoA também pode entrar a vias anabólicas ou pode originar corpos cetônicos, compostos hidrossolúveis que servem como fonte energética no cérebro e em outros tecidos dependentes de glicose, quando esta se encontra deficitária em certos estados metabólicos ou patológicos.

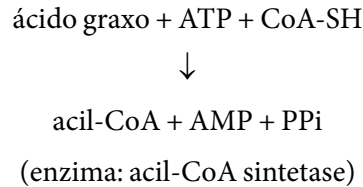
Os triglicerídeos fornecem mais da metade dos requerimentos energéticos do fígado e do músculo cardíaco e esquelético. Nos animais que hibernam e nas aves migratórias, os triglicerídeos são virtualmente a única fonte de energia.

O processo da  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos até acetil-CoA é realizado na matriz da mitocôndria, sendo chamado assim porque a oxidação sempre é realizada no carbono beta (C-3) do ácido. Além de render moléculas de acetil-CoA para que se continuem oxidando no ciclo de Krebs, a  $\beta$ -oxidação também gera energia.

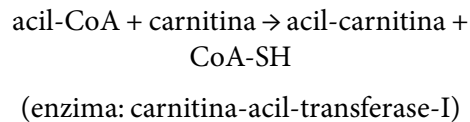


Antes de sofrer oxidação, o ácido graxo deve entrar na mitocôndria, processo que compreende três etapas e em que a carnitina atua como transportador. As reações que permitem o ingresso do ácido graxo à mitocôndria são as seguintes:

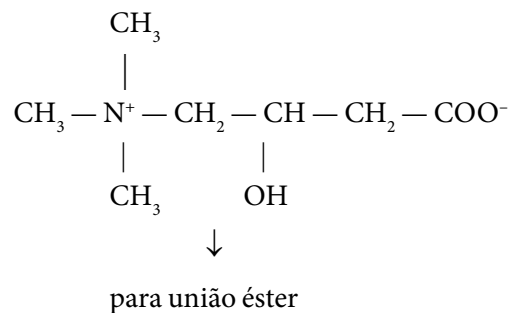
1. Ativação do ácido graxo para produzir acil-CoA, no citosol:



2. Transferência do grupo acila ao grupo hidroxila da carnitina, uma vez que o acil-CoA não pode atravessar a membrana mitocondrial e deve fazê-lo na forma de acil-carnitina:

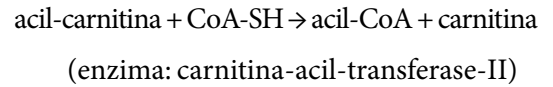


A carnitina forma uma ligação éster entre seu grupo hidroxila e o ácido graxo:



A acil-carnitina atravessa as membranas mitocondriais chegando na matriz mitocondrial através de um sistema de transporte específico de membrana (acil-carnitina/carnitina).

3. Formação de acil-CoA intramitocondrial:



A carnitina pode sair depois para o citosol usando o transportador acil-carnitina/carnitina para permitir o ingresso de outros ácidos graxos. O acil-CoA na matriz mitocondrial está pronto para sofrer  $\beta$ -oxidação, que consiste basicamente na liberação de várias unidades de acetil-CoA, com a produção de duas coenzimas reduzidas ( $\text{FADH}_2$  e  $\text{NADH}$ ) em cada volta oxidativa (Figura 1).

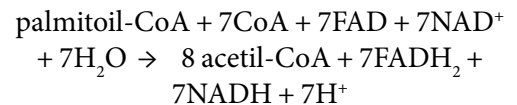
A  $\beta$ -oxidação tem dois pontos de regulação:

1. Quando a relação  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  é alta, isto é, quando estão preenchidas as necessidades de energia, inibe-se a enzima  $\beta$ -hidroxiacil-CoA desidrogenase.

2. Em altas concentrações de acetil-CoA (produto final da  $\beta$ -oxidação) inibem a enzima tiolase.

Balanco energético da  $\beta$ -oxidação

O balanço energético da  $\beta$ -oxidação pode ser ilustrado com 1 mol de ácido palmítico (16C), sabendo que em cada volta da  $\beta$ -oxidação se produz 1 acetil-CoA + 1  $\text{FADH}_2$  + 1  $\text{NADH}$ , e sabendo ainda que o ácido palmítico deve dar 7 voltas para completar sua total oxidação até acetil-CoA. A reação global de oxidação deste ácido pode-se escrever assim:



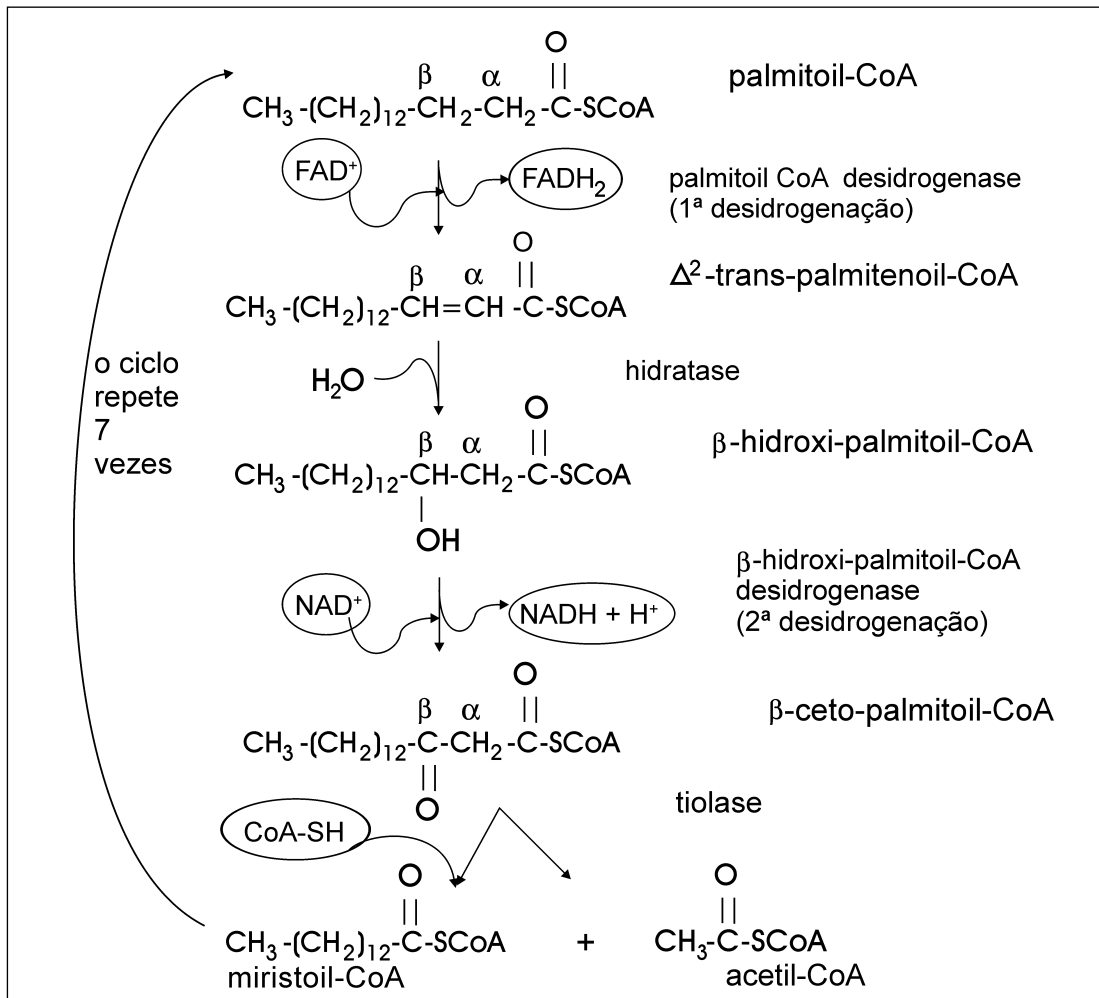


Figura 1 – Etapas da beta-oxidação do ácido palmítico (16 C).

A produção de ATP/mol de palmitoil-CoA será:

8 acetil-CoA (12 ATP/mol no ciclo de Krebs)=  
96 ATP

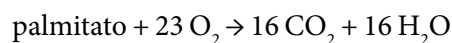
7  $\text{FADH}_2$  (equivalentes cada um a 2 ATP)=  
14 ATP

7 NADH (equivalentes cada um a 3 ATP)=  
21 ATP

Total/mol de palmitato = 131 ATP

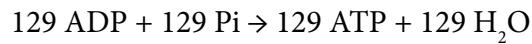
Deve-se considerar, no entanto, que é gasto 1 ATP para ativar o palmitato a palmitoil-CoA e mais um ATP para converter o AMP formado nessa reação em ADP. Assim, o rendimento líquido será de 129 ATP/mol de palmitato.

Para calcular a eficiência de conservação da energia, considere-se o processo exergônico que ocorreria em um calorímetro:



$$(\Delta G^{\circ} = -9.790 \text{ kJ/mol})$$

e compare-se com o processo endergônico de formação de ATP em condições-padrão:



$$(\Delta G^{\circ} = +3.983 \text{ kJ/mol})$$

Assim, a eficiência de conservação de energia nas condições-padrão (*in vitro*) é de:

$$(3.983/9.790) \times 100 = 40,7 \%$$

Contudo, nas condições intracelulares, considerando as concentrações reais dos reagentes, a eficiência de conservação de energia pode chegar a 80 %.

#### O tecido adiposo marrom

O tecido adiposo marrom aparece em mamíferos recém-nascidos e tem a característica de que a cadeia respiratória e a fosforilação oxidativa encontram-se desacopladas devido à ação de uma proteína integrada à membrana interna da mitocôndria, chamada termogenina, que permite o fluxo dos prótons do espaço intermembranar para a matriz, mas evitando que passem pela ATP sintetase, impedindo assim a produção de ATP. Dessa forma, a energia gerada na cadeia respiratória se libera em forma de calor. Este processo parece ser vital para a sobrevivência dos animais neonatos, devido a seu deficiente sistema de termorregulação. Os animais que hibernam têm o mesmo mecanismo gerador de calor metabólico. A gordura marrom tem esta cor característica devido ao grande número de mitocôndrias nas suas células adiposas. As mitocôndrias contêm grupos heme nos citocromos, pigmentos que absorvem a luz visível.

#### Diferenças na oxidação dos ácidos graxos insaturados

As duplas ligações dos ácidos graxos insaturados de origem vegetal estão em configu-

ração *cis*, enquanto que os intermediários da  $\beta$ -oxidação têm configuração *trans*. Por outro lado, existe a possibilidade de encontrar no percurso da oxidação desses ácidos, grupos do tipo *cis*- $\Delta^3$ -insaturados, devido à posição da dupla ligação, enquanto que os intermediários da  $\beta$ -oxidação são *trans*- $\Delta^2$ -insaturados, sendo esta a forma como são reconhecidos pela enzima enoil-CoA hidratase.

O problema é resolvido porque os ácidos *cis*- $\Delta^3$ -insaturados são substrato da enzima enoil-CoA isomerase, a qual os converte diretamente em *trans*- $\Delta^2$ -enoil-CoA, para que possam ser substratos da enoil-CoA hidratase (Figura 1). No caso dos ácidos graxos poliinsaturados, podem encontrar-se duplas ligações que impedem o avanço normal da  $\beta$ -oxidação. A ação sequencial da enoil-CoA isomerase junto à enzima auxiliar 2,4-dienoil-CoA redutase permite obter ácidos *trans*- $\Delta^2$ .

Na oxidação dos ácidos graxos insaturados, deixa de ocorrer a primeira desidrogenação da  $\beta$ -oxidação e portanto não ocorre produção de  $\text{FADH}_2$  cada vez que houver uma insaturação no ácido, o que significa que os ácidos insaturados contêm menos energia do que os saturados. Por outra parte, vários desses ácidos insaturados de origem vegetal são essenciais (linoléico, linolênico) tendo, portanto, grande valor nutricional.

A oxidação dos ácidos graxos de número ímpar de carbonos gera propionato

Muitas bactérias (ruminais e intestinais) produzem ácidos graxos de número ímpar de carbonos, que podem ser absorvidos quando ocorre a digestão das bactérias e a absorção de seus componentes. Nos ruminantes, há maior presença deste tipo de ácidos devido à importância da flora ruminal. Esses ácidos são oxidados da mesma forma que os de número par de carbonos, com a diferen-

ça de que, no final da última volta, rendem uma molécula de propionil-CoA ao invés de acetil-CoA. O propionil-CoA é um precursor gliconeogênico, sendo metabolizado no fígado para formar glicose via gliconeogênese.

## Corpos cetônicos

Os corpos cetônicos são intermediários metabólicos, cuja fonte básica são os ácidos graxos, embora a rigor qualquer composto que possa gerar acetil-CoA (glicose, lactato, glicerol, aminoácidos) pode-se considerar como fonte de corpos cetônicos. Em ruminantes, o acetato e o butirato produzidos no rúmen são importantes fontes tanto de ácidos graxos de cadeia longa como de corpos cetônicos. O propionato, principal precursor gliconeogênico em ruminantes, não é fonte de corpos cetônicos.

### Formação dos corpos cetônicos

O acetil-CoA produzido na oxidação dos ácidos graxos pode entrar no ciclo do ácido de Krebs ou pode ser convertido em corpos cetônicos: acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) e acetona, que são solúveis no sangue e podem se excretar pela urina. A acetona, único corpo cetônico volátil, é a que se produz em menor quantidade. Os corpos cetônicos são produzidos principalmente no fígado e exportados para outros tecidos para servir como fonte de energia, onde se oxidam via ciclo de Krebs.

Diante de condições de déficit energético, quando existe mobilização das reservas lipídicas e produção de grandes quantidades de acetil-CoA, a formação e utilização de corpos cetônicos impede que o acetil-CoA se acumule e permite que siga ocorrendo  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos.

Certos tecidos dependentes de glicose, como o cérebro, adaptam-se à utilização de corpos cetônicos quando a glicose está em déficit, como ocorre no jejum prolongado, em estados de subnutrição ou na diabetes mellitus.

A formação dos corpos cetônicos se favorece quando o oxalacetato, que deve condensar-se com o acetil-CoA no ciclo de Krebs, resulta limitante a consequência de: (1) um excesso de acetil-CoA proveniente do aumento da oxidação dos ácidos graxos, e (2) uma deficiência de precursores gliconeogênicos. Os valores sanguíneos normais de  $\beta$ -hidroxibutirato em várias espécies se mostram na Tabela 4. O processo da cetogênese é mostrada na Figura 2.

A acetona é volátil e tóxica para o organismo e se excreta pela respiração. Quando se produz em quantidades superiores ao normal na cetose, causa um forte e característico cheiro na respiração, sinal que ajuda no diagnóstico.

O rúmen também sintetiza corpos cetônicos a partir do butirato absorvido. Nas células do epitélio ruminal, o butirato é convertido em butiril-CoA e este, por  $\beta$ -oxidação, em BHB-CoA, que pode ser oxidado a acetoacetil-CoA. Após clivagem da coenzima A e redução do acetoacetato resultante, forma-se BHB. O rúmen tem também as enzimas HMG-CoA sintetase, HMG-CoA liase e BHB desidrogenase, porém em menor concentração do que no fígado.

O BHB é um metabólito importante no perfil bioquímico dos ruminantes. Aproximadamente 50 % do butirato absorvido é oxidado para formar corpos cetônicos na parede ruminal. Por essa razão, os ruminantes possuem valores mais elevados de corpos cetônicos no sangue do que os monogástricos.

TABELA 4 - CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA (MG/DL)  
DE β-HIDROXIBUTIRATO EM ANIMAIS DOMÉSTICOS

Espécie	β-hidroxitirato
Vaca	9,9 ± 1,9
Ovelha	5,7 ± 0,4
Cavalo	0,7 ± 0,06
Cão	0,3 ± 0,06

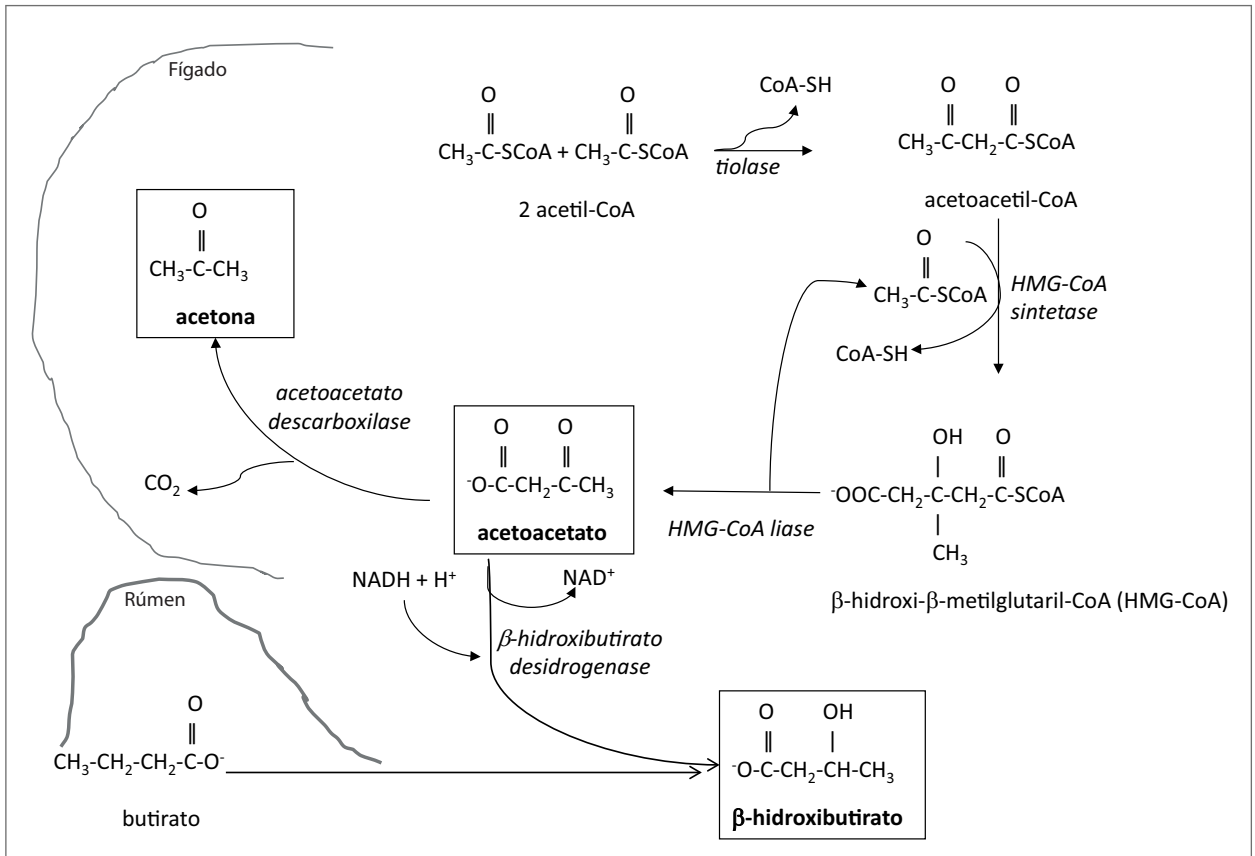


Figura 2 – Formação dos corpos cetônicos.

## Utilização dos corpos cetônicos nos tecidos

A forma como os corpos cetônicos entram no ciclo de Krebs demanda a realização do inverso das reações que os formam, tendo como produto final o acetil-CoA. As reações são mostradas na Figura 3.

## A BIOSÍNTESE DOS ÁCIDOS GRAXOS

O organismo animal tem a capacidade de sintetizar os triglicerídeos a partir de acetil-CoA, tendo dependência da dieta somente para os ácidos graxos essenciais (linoleico e linolênico). Também devem sintetizar-se fosfolípídeos e esfingolípídeos, que são importantes componentes da membrana celular, bem como lípídeos com funções específi-

cas, como colesterol, esteroides e prostaglandinas, sintetizados a partir de acetil-CoA ou de ácidos graxos essenciais.

Os animais têm uma capacidade limitada para armazenar glicogênio no fígado e no músculo esquelético, de forma que o excesso de energia que ingressa no organismo em forma de glicose, depois de ultrapassar o limite de armazenamento de glicogênio, deve ser metabolizado via glicólise até acetil-CoA, a partir do qual se sintetizam ácidos graxos e posteriormente triglicerídeos que se armazenam nas células adiposas.

A biossíntese dos ácidos graxos se realiza principalmente no fígado, o tecido adiposo e a glândula mamária ativa, mediante um sistema multienzimático presente no citosol

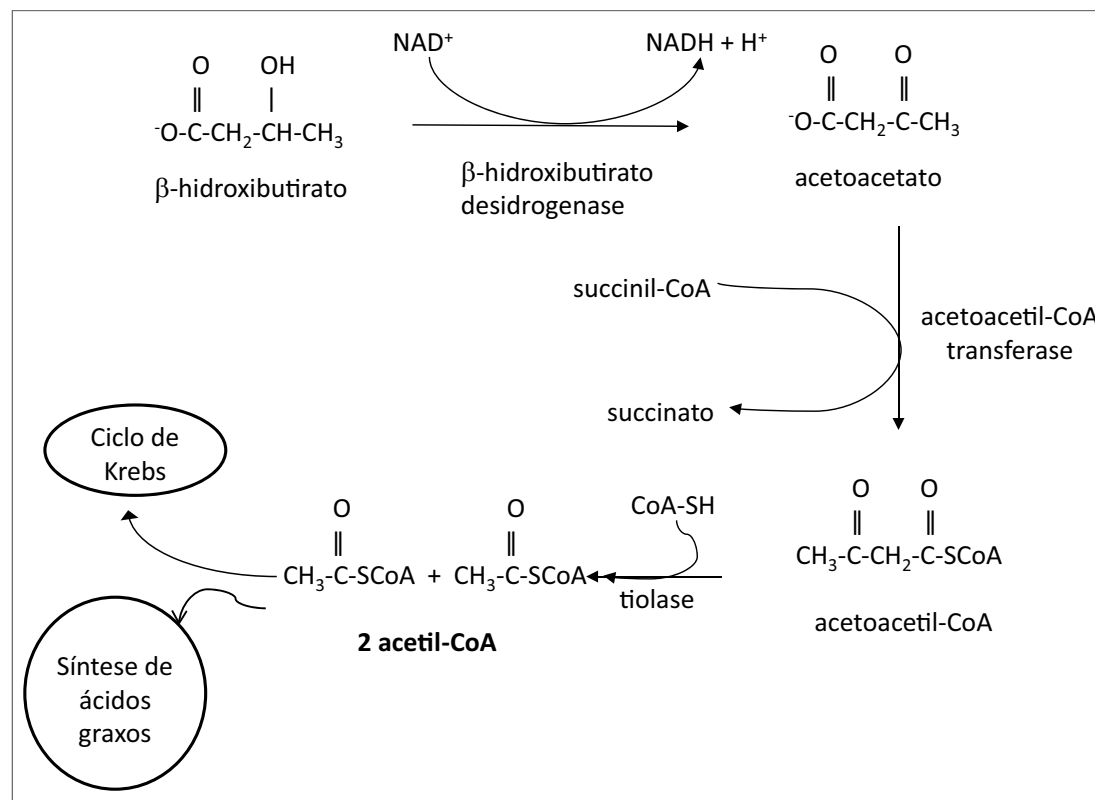


Figura 3 – Utilização dos corpos cetônicos.

das células animais, conhecido como complexo ácido graxo sintetase (complexo AGS).

Os ácidos graxos são sintetizados a partir de acetil-CoA, no processo conhecido como síntese “de novo” no citosol, tendo como produto final o ácido palmítico; e mediante a elongação do palmitato para gerar outros ácidos graxos de cadeias mais longas, por meio de um sistema presente no retículo endoplasmático (Figura 4).

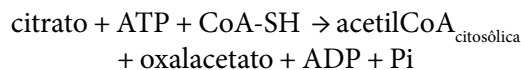
A síntese de novo requer a coenzima NADPH e  $Mn^{2+}$  como cofator, além de ATP e  $HCO_3^-$  (como fonte de  $CO_2$ ). O palmitato é o precursor dos demais ácidos graxos, exceto dos essenciais (linoleico e linolênico), que não podem ser sintetizados pelos mamíferos e devem ser consumidos na dieta.

A fonte de acetil-CoA provém em grande parte da mitocôndria, produzido na oxidação do piruvato, de onde pode sair para o espaço citosólico por meio de duas formas:

(1) Transferindo-se à carnitina, com acetil-carnitina transferases:



(2) Incorporando-se a oxalacetato para formar citrato, o qual pode atravessar a barreira mitocondrial, e no citosol sofrer a reação inversa por meio da enzima citrato liase:

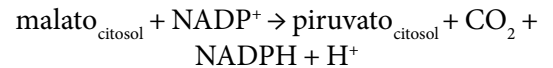


O NADPH necessário para as reações da síntese dos ácidos graxos provém de duas fontes: (1) em maior quantidade, da via das pentoses-fosfato, especialmente nos adipócitos e na glândula mamária ativa, e (2) a partir da enzima málica dos adipócitos, em uma série de reações que concomitantemente servem para ingressar na mitocôndria o OAA citosólico, que foi utilizado para extrair

acetil-CoA da mitocôndria na reação da citrato liase:



(enzima: malato desidrogenase)



(enzima málica)

O piruvato ingressa na mitocôndria e é convertido em OAA.

Nos ruminantes, existem algumas diferenças em relação ao metabolismo dos ácidos graxos, comparado aos monogástricos:

1. A fonte primária da síntese dos ácidos graxos não é a glicose, mas o acetato proveniente do rúmen, sendo os principais sítios de síntese de ácidos graxos o tecido adiposo e a glândula mamária ativa.

2. Não existem as enzimas citrato liase e málica; em compensação, têm como fonte de acetil-CoA o acetato livre e altos níveis de acnitase e de NADP-isocitrato desidrogenase citoplasmática, enzimas que realizam as seguintes reações sucessivas para gerar suficiente NADPH: citrato<sub>citosol</sub> → isocitrato + NADP<sup>+</sup> → α-cetoglutarato + CO<sub>2</sub> + NADPH + H<sup>+</sup>.

3. Possuem altos níveis de acetil-carnitina-transferase para mobilizar acetil-CoA da mitocôndria para o citosol.

### Ação do complexo ácido graxo sintetase (AGS)

O acetil-CoA atua como molécula “primer” ou iniciadora a partir da qual se vão adicionando outros grupos acetilas. No entanto, a molécula doadora desses grupos acetilas adicionais é o malonil-CoA, composto de 3 carbonos (-OOC-CH<sub>2</sub>-CO-SCoA). O malonil-CoA se sintetiza a partir do acetil-CoA, mediante a enzima acetil-CoA carboxilase,

que contém biotina como coenzima e não forma parte do complexo AGS (Figura 4).

A acetilCoA carboxilase é uma enzima alostérica e constitui o ponto primário de regulação da via de síntese dos ácidos graxos, sendo estimulada pelo citrato e inibida pelo palmitato.

O complexo AGS possui sete enzimas relacionadas entre si e uma proteína transportadora de grupos acilas (ACP) de baixo peso molecular (10 kDa) que tem um grupo -SH derivado do ácido pantotênico. O peso molecular total do complexo AGS é de 240 kDa,

e sua forma ativa é um dímero com todas as enzimas duplicadas (peso total 480 kDa).

Em cada reação do complexo AGS, adicionam-se dois carbonos provenientes do malonil-CoA. Os primeiros dois carbonos do ácido graxo são os únicos que provêm do acetil-CoA (corresponde aos C-15 e C-16 do palmitato). Os restantes carbonos provêm do malonil-CoA (Figura 4). A primeira reação somente ocorre uma vez para produzir o "primer", enquanto que a segunda reação deve ocorrer em cada volta, pois o malonil-ACP é o composto doador. Uma vez ativa-

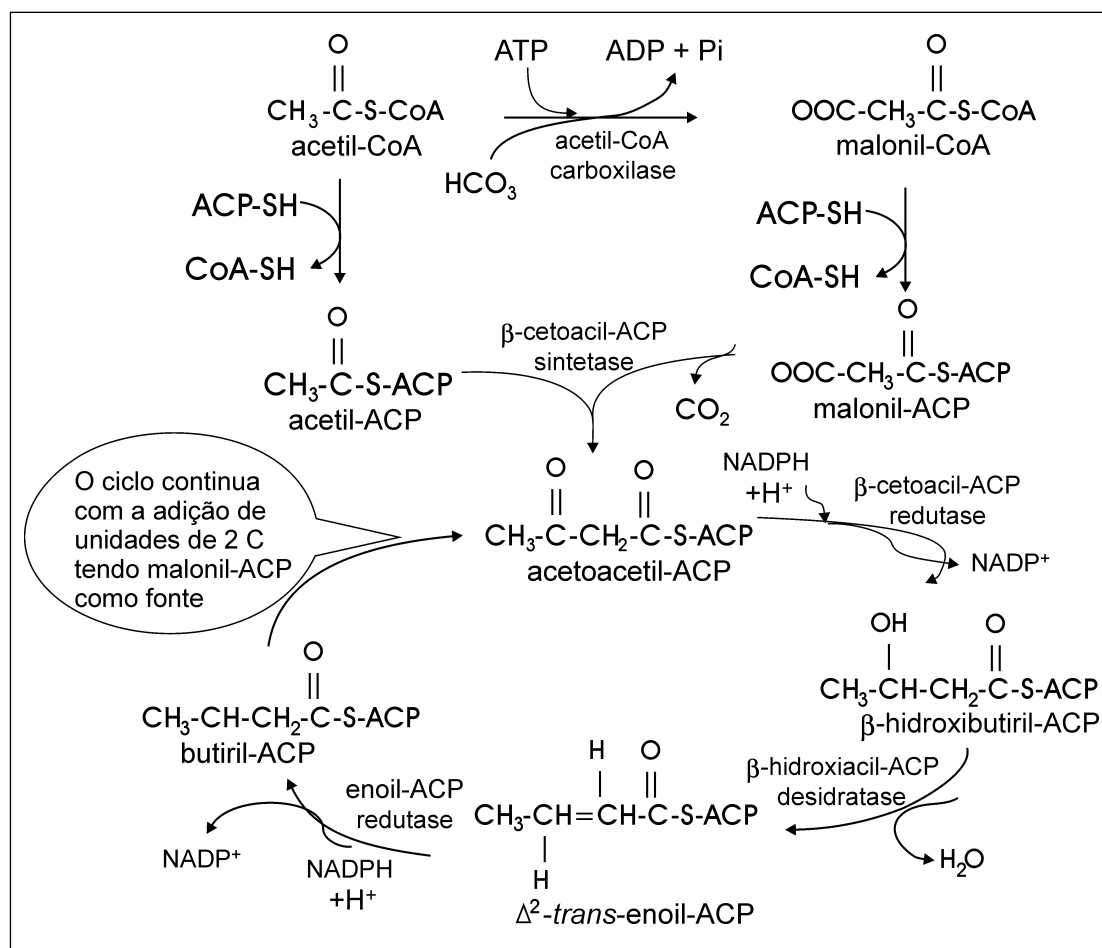


Figura 4 – Biossíntese dos ácidos graxos.



dos esses compostos, ocorrem as subsequentes etapas de adição de dois carbonos.

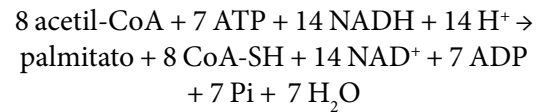
A adição de  $\text{HCO}_3^-$  nos grupos acetilas para formar os malonilas doadores e depois ter que liberá-lo como  $\text{CO}_2$ , numa aparente reação fútil, tem uma explicação termodinâmica: a condensação de um composto de dois carbonos seria um processo endergônico termodinamicamente impossível nas condições intracelulares, enquanto que a condensação do malonil-ACP é exergônico devido à descarboxilação facilitar o ataque nucleofílico de seu grupo metileno ( $-\text{CH}_2^-$ ) sobre a união tioéster do grupo acetila (grupo acila nas reações seguintes), unido ao grupo  $-\text{SH}$  da  $\beta$ -cetoacil-ACP sintetase. A energia para este processo foi fornecida pelo ATP na reação de síntese do malonil-CoA, a partir de acetil-CoA e  $\text{HCO}_3^-$ .

O butiril-ACP formado após terminar a primeira volta é transferido do grupo  $-\text{SH}$  da ACP para o Cys-SH da  $\beta$ -cetoacil-ACP sintetase, onde o grupo acila em formação fica ancorado, para reiniciar o ciclo, aproveitando que o complexo AGS é um dímero com as enzimas duplicadas. Um novo grupo acetila proveniente de um novo malonil-ACP, que ocupa agora o sítio  $-\text{SH}$  da ACP, é adicionado sobre o acil-ACP em formação.

Em algumas ocasiões, adicionam-se mais dois carbonos em uma volta adicional para formar estearato (C18:0). O palmitoil-ACP pode também ser transferido para a coenzima A pela enzima palmitoil-ACP transferase:



A reação global da biossíntese do palmitato é a seguinte:



### Regulação da síntese de ácidos graxos

O sítio primário de regulação da síntese de ácidos graxos é a formação de malonil-CoA na reação catalisada pela enzima acetil-CoA carboxilase, controlada alostérica e covalentemente. O produto final da via, o palmitato, atua como inibidor alostérico, enquanto que o citrato atua como ativador alostérico. Quando existe um excedente de acetil-CoA e de ATP, o citrato sai da mitocôndria e, além de atuar como modulador alostérico, serve como fonte de acetil-CoA.

A enzima acetil-CoA carboxilase também pode ser regulada covalentemente mediante fosforilação da enzima, evento modulado por hormônios. O glucagon e a adrenalina causam a fosforilação da enzima, inibindo-a e, portanto, diminuindo a síntese de ácidos graxos, ao passo que a insulina favorece a síntese de ácidos graxos, pois estimula o complexo piruvato desidrogenase e a enzima citrato liase, que catalisam reações fornecedoras de acetil-CoA. As principais diferenças entre a  $\beta$ -oxidação e a síntese dos ácidos graxos estão listadas no Quadro 1.

O produto final da via, o palmitato, pode ter dois destinos: (1) alongação da cadeia e/ou insaturação; ou (2) esterificação para produzir triglicerídeos ou fosfoglicerídeos.

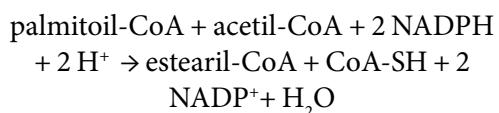
### Elongação do palmitato

Na mitocôndria e no retículo endoplasmático, existem sistemas enzimáticos de alongação de ácidos graxos. Em ambos os casos, o transportador dos grupos acila é a coenzima A, em vez da ACP. Na mitocôndria, ocorre adição de acetilas no extremo carbo-

QUADRO 1 – DIFERENÇAS ENTRE A BETA-OXIDAÇÃO E A SÍNTESE DOS ÁCIDOS GRAXOS

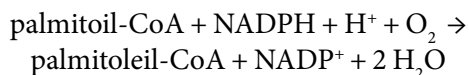
Características	β-Oxidação	Síntese
Localização na célula	mitocôndria	citossol
Enzimas	separadas	complexo enzimático
Coenzima transportadora de elétrons	NAD	NADP
Transportador de grupos acila	coenzima A	ACP
Unidades participantes	acetil-CoA	malonil-CoA

xila do palmitoil-CoA, em forma de acetil-CoA, ao invés de malonil-CoA. A reação global pode ser escrita assim:



#### Introdução de insaturações nos ácidos graxos

As insaturações sobre os ácidos graxos realizam-se a partir do palmitato (16:0) e do estearato (18:0), que são os ácidos graxos precursores do palmitoleato (16:1, Δ<sup>9</sup>) e do oleato (18:1, Δ<sup>9</sup>), respectivamente. As insaturações nesses ácidos são introduzidas por uma enzima Δ<sup>9</sup>-monoxigenase (acil-CoA desaturase) presente no retículo endoplasmático do hepatócito e do tecido adiposo. Um citocromo b<sub>5</sub> e uma flavoproteína (citocromo b<sub>5</sub> redutase) estão envolvidos na reação:



Os animais, diferentemente dos vegetais, não podem formar os ácidos linoleico (18:2, Δ<sup>9,12</sup>) e linolênico (18:3, Δ<sup>9,12,15</sup>) a partir do oleico (18:1, Δ<sup>9</sup>), devido a não poderem introduzir duplas ligações entre o C-10

e o extremo metila do ácido graxo (extremo ômega). Os ácidos linoleico e linolênico são essenciais para os mamíferos, pois estes não os podem sintetizar. Estes ácidos são necessários para a síntese de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), além de formar parte da estrutura das membranas e encontrar-se em altas quantidades nos órgãos reprodutivos.

As bactérias do rúmen podem hidrogenar os ácidos graxos insaturados. Devido a isso, a gordura dos ruminantes é mais dura que a gordura dos monogástricos, pois é mais rica em ácidos graxos saturados, que têm um ponto de fusão mais elevado. A consistência da gordura dos monogástricos tem maior relação com os ácidos graxos fornecidos na dieta.

#### LIPOGÊNESE:

##### A BIOSÍNTESE DE TRIGLICERÍDEOS

A esterificação dos ácidos graxos com o glicerol gera os triglicerídeos, que servem de reserva de energia. Nos animais, a capacidade de armazenamento de glicogênio está limitada para fornecer reservas energéticas por 12 horas, enquanto que as reservas energéticas em forma de triglicerídeos são virtu-

almente ilimitadas para suprir energia por vários meses. A biossíntese dos triglicerídeos realiza-se principalmente no citosol das células hepáticas, mamárias e adiposas.

Uma parte dos ácidos graxos do leite é sintetizada na glândula mamária, e outra parte significativa (35-75 %) provém dos ácidos graxos do sangue. Aproximadamente 44 % da gordura do leite origina-se de triglicerídeos ingeridos pela vaca; o restante provém de síntese endógena.

A esterificação dos ácidos graxos realiza-se sobre o glicerol-3-fosfato, cuja procedência pode ser de duas fontes:

a) Glicólise, a partir da di-hidroxiacetona-fosfato, em uma reação catalisada pela enzima glicerol-3-fosfato desidrogenase: di-hidroxiacetona-fosfato + NADH + H<sup>+</sup> → glicerol-3-fosfato + NAD<sup>+</sup>.

b) Glicerol livre originado na hidrólise de triglicerídeos com a enzima glicerol-quinase, presente somente no fígado e no rim: glicerol + ATP → glicerol-3-fosfato + ADP.

O processo de esterificação procede-se em quatro etapas ilustradas na Figura 5. Na mucosa intestinal, onde há elevada síntese de triglicerídeos, após a absorção de monoglicéridos e de ácidos graxos, o ácido fosfatídico não é intermediário.

A biossíntese de triglicerídeos (lipogênese) e sua degradação (lipólise) são reguladas reciprocamente, dependendo das necessidades metabólicas em um controle hormonal. A insulina promove a lipogênese quando há excedente de energia, isto é, quando há equilíbrio energético positivo, ao passo que os glicocorticoides, o glucagon e a GH promovem a lipólise, quando o equilíbrio energético é negativo.

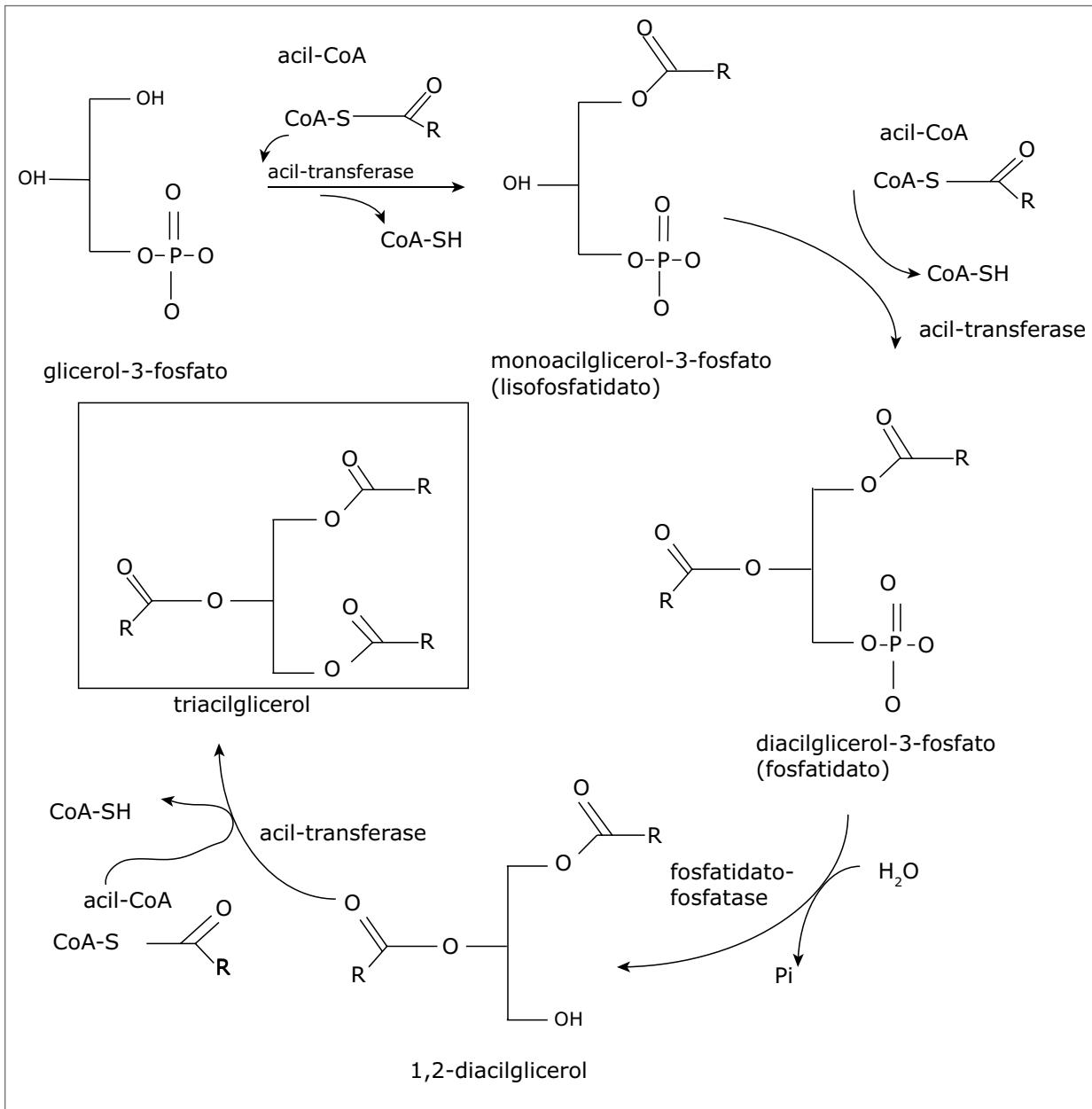
## IMPORTÂNCIA DO COLESTEROL

O colesterol é uma molécula essencial para os animais, sendo necessário para a formação de membranas e para a síntese de ácidos biliares e hormônios esteroidais (Figura 6). As fontes de colesterol são duas: dieta e síntese de colesterol endógeno. A maioria do colesterol endógeno é sintetizado no fígado e exportado como éster de colesterol; este último é formado mediante a enzima lecitina-colesterol-acil transferase (LCAT), que transfere um ácido graxo da lecitina para o colesterol, sendo transportado no sangue pelas lipoproteínas.

A quantidade de colesterol nos mamíferos está sob controle homeostático, sendo que a taxa de biossíntese de colesterol no fígado (mas não nos demais tecidos) é inversamente proporcional ao colesterol presente no organismo e aos ésteres de colesterol provenientes da absorção intestinal.

O colesterol é excretado através dos ácidos biliares na forma de sais (glicocolato e taurocolato de sódio ou de potássio) para o intestino, a fim de ajudar na digestão dos lipídeos. Colesterol livre também pode ser liberado com a bile. A maior parte do colesterol liberado dessa forma é reabsorvido no intestino e volta à circulação, retornando ao fígado.

Os ésteres de colesterol são mais hidrofóbicos do que o colesterol livre e são transportados no sangue mediante as lipoproteínas, principalmente pela LDL e, em menor proporção, pela HDL e a VLDL. A LDL contém uma apoproteína denominada apo B-100, que é reconhecida por proteínas receptoras de membrana (receptor LDL) das células que necessitam de colesterol. Brown e Goldstein, na década de 1980, demonstraram que a união entre a apo B-100 e o receptor LDL é necessá-



**Figura 5** – Biossíntese de triglicéridos.

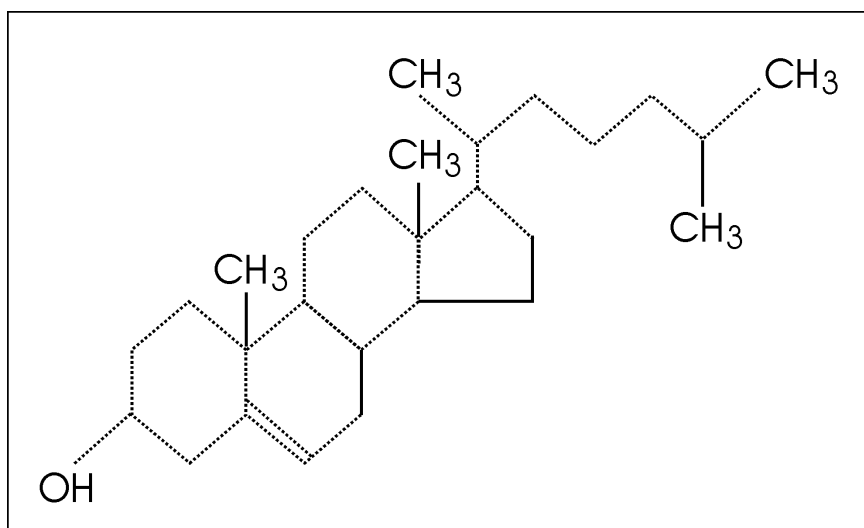


Figura 6 – Estrutura do colesterol.

ria para que o colesterol possa entrar na célula por endocitose. No interior da célula, o endossomo contendo ésteres de colesterol, apo B-100 e receptor LDL, se funde com lisossomos onde enzimas hidrolisam os ésteres de colesterol em ácido graxo e colesterol livre, e a apo B-100 em aminoácidos. O receptor LDL se recicla e volta à membrana. O colesterol livre pode ser usado pela célula ou ser armazenado em gotas citoplasmáticas.

### A síntese do colesterol

O precursor do colesterol é o acetil-CoA, e a rota de sua formação é via mevalonato. O processo ocorre em quatro etapas básicas.

1. Formação de mevalonato a partir de três moléculas de acetil-CoA.
2. Conversão do mevalonato em unidades ativas de isopreno.
3. Condensação das unidades ativas de isopreno para formar esqualeno.

### 4. Conversão do esqualeno em colesterol.

A taxa de síntese do colesterol no fígado está relacionada com o nível ingerido na dieta; a biossíntese endógena diminui quando aumenta o colesterol exógeno. Em outros tecidos, a síntese de colesterol não é inibida pelo colesterol da dieta. Em algumas espécies, como a humana, na qual a síntese de colesterol hepático não é a maior fonte, este tipo de controle não tem muito efeito sobre a síntese de colesterol total.

O ponto de controle da síntese do colesterol é a enzima HMG-CoA redutase, que catalisa a conversão de HMG-CoA em mevalonato. A enzima é inibida alostericamente pelo mevalonato e por alguns derivados do colesterol, sendo também regulada endocrinamente. A forma ativa da enzima é defosforilada e a inativa, fosforilada. O glucagon estimula a fosforilação, inativando, portanto, a enzima, enquanto que a insulina promove a defosforilação, ativando a síntese de colesterol. Algumas drogas (lovastatina, compac-

tina) são inibidores da HMG-CoA redutase e inibem a síntese de colesterol. O colesterol existente na célula inibe sua própria síntese.

A maior parte do colesterol, no sangue, fígado e córtex adrenal, encontra-se em forma esterificada, ao passo que, no músculo, a maior parte do colesterol está livre. O significado biológico da forma esterificada ou livre, nos vários tecidos, não está claro. É possível que esteja relacionado com a estrutura da membrana do tecido em particular.

O colesterol em excesso se esterifica e armazena e causa uma diminuição do receptor LDL para evitar a entrada de mais colesterol na célula proveniente do sangue. O excesso de colesterol no sangue (colesterol-LDL) pode levar em humanos à formação das chamadas placas ateroscleróticas nos vasos sanguíneos, podendo causar sua obstrução (aterosclerose), o que leva a falhas cardíacas quando se afetam as artérias coronárias. Existe uma correlação negativa entre os níveis sanguíneos da lipoproteína HDL (que contém menos colesterol) e os problemas arteriais. Problemas genéticos observados em humanos e em suínos que envolvem falhas na síntese do receptor LDL podem causar maior concentração do colesterol no sangue (hipercolesterolemia), por não poder entrar eficientemente nas células.

As vacas apresentam normalmente hipercolesterolemia durante a lactação, com maiores níveis associados de HDL, principal lipoproteína transportadora de colesterol. O maior nível de HDL protege as vacas dos efeitos deletérios da hipercolesterolemia. Três possíveis hipóteses são lançadas para explicar o alto nível de HDL nas vacas lactantes:

(1) adaptação à lactação mediante aumento da reserva de apo C (principal apoproteína da HDL);

(2) aumento da utilização de VLDL pela glândula mamária (lipólise de componentes convertem a VLDL em HDL);

(3) aumento da síntese de HDL no fígado, em resposta à lactação.

Uma importância prática desse fato é que o grau de aumento de HDL e, portanto, de colesterol nas vacas lactantes pode ser um indicador da capacidade da glândula mamária para produzir leite.

### **O colesterol como precursor dos hormônios esteroidais**

O primeiro composto esteroidal que se forma nas gônadas e no córtex adrenal, a partir do colesterol é a pregnenolona, composto que gera os demais esteroides. No córtex adrenal sintetizam-se dois tipos de esteroides: os mineralocorticoides (aldosterona o mais importante), que controlam a reabsorção de íons ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ) nos túbulos renais, e os glicocorticoides (cortisol, o mais importante), que regulam o metabolismo dos glicídeos. Nos testículos, sintetizam-se os andrógenos (testosterona, o mais importante), que controlam os caracteres sexuais secundários e a espermatogênese. Nos ovários e na placenta, sintetizam-se os estrógenos (estradiol) e a progesterona, que regulam o ciclo reprodutivo, a gestação e a lactação nas fêmeas. A biossíntese desses hormônios demanda a remoção dos carbonos da cadeia lateral do colesterol do C-17 no anel D e oxidações com oxidases que usam NADPH,  $\text{O}_2$  e o citocromo P-450 da mitocôndria.

### **AS PROSTAGLANDINAS**

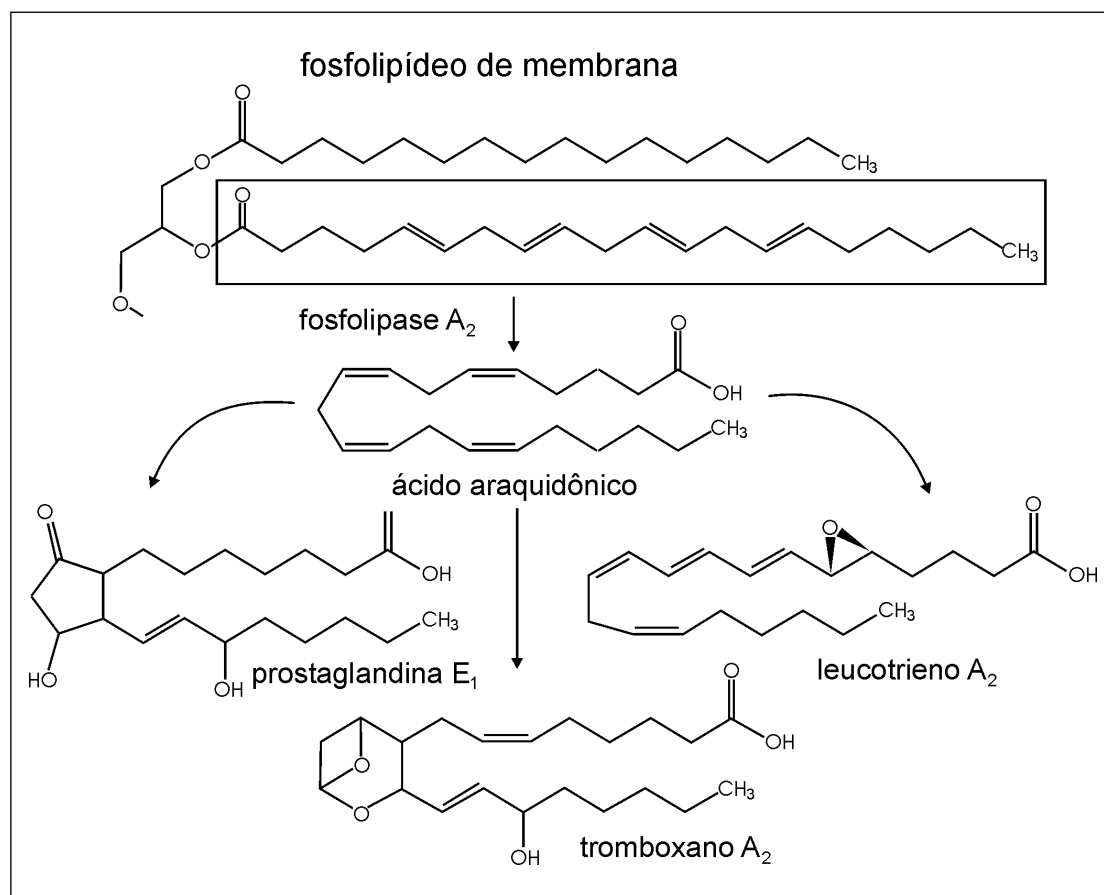
Inicialmente, as prostaglandinas (PGs) foram achadas no plasma seminal como secreção da próstata (daí seu nome), mas hoje se sabe que elas existem praticamente

em todos os tecidos animais. As prostaglandinas pertencem a um grupo de compostos chamados eicosanoides, que incluem também os tromboxanos e os leucotrienos. Os eicosanoides são sintetizados a partir do ácido araquidônico (C<sub>20</sub>:4 $\Delta^{5,8,11,14}$ ) mediante sua ciclização, para formar um anel ciclopentano e a inclusão de várias insaturações.

Há vários tipos de prostaglandinas na natureza, entre as quais as mais importantes são as dos tipos E e F (solúveis em éter e em tampão fosfato, respectivamente). Cada grupo subdivide-se conforme o número de duplas ligações em três subgrupos (PGs E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> e

E<sub>3</sub>; PGs F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub>). O número subscripto indica a quantidade de duplas ligações. Os grupos E e F diferenciam-se, de modo que as PGs E têm um grupo ceto no C-9 e um hidroxila no C-11, ao passo que as PGs F têm grupos hidroxila em ambas as posições (Figura 7). Existem outras PGs chamadas secundárias que são produto de desidratações enzimáticas das PGs E, como são as PGs A, C, B e D<sub>2</sub>.

As prostaglandinas são consideradas hormônios, pois são sinais que exercem mudanças metabólicas, embora atuem em tecidos perto de seu lugar de síntese. Suas ações biológicas são muito variadas, sempre atuando



**Figura 7** – Estrutura das prostaglandinas.

do através de um segundo mensageiro intracelular (AMP cíclico): atuam na contração do miométrio (músculo liso do útero) durante o parto e a menstruação, na luteólise (terminação da atividade do corpo lúteo) em várias espécies animais, na contração das artérias, nos mecanismos da inflamação e nos movimentos peristálticos, entre outras funções.

Os tromboxanos encontram-se nas plaquetas (trombócitos) e têm o anel de ciclopentano interrompido por um átomo de oxigênio (anel oxano). Atuam no mecanismo da coagulação sanguínea. Os leucotrienos contêm 3 ligações duplas conjugadas e possuem várias ações biológicas participando na resposta imune e nas reações alérgicas.

### Biossíntese das prostaglandinas

O ácido araquidônico se encontra esterificado nos fosfolíperídeos das membranas celulares e pode ser liberado por uma fosfolipase A específica, que se ativa por estímulo hormonal ou neural. Muitas células do organismo possuem as enzimas que podem liberar o ácido araquidônico e sintetizar prostaglandinas. O ácido araquidônico livre é convertido, mediante oxidação por incorporação de  $O_2$ , em prostaglandina  $H_2$  ( $PGH_2$ ) composto precursor das prostaglandinas ativas e dos tromboxanos. A enzima prostaglandina-endoperóxido sintetase realiza a oxidação em dois passos (Figura 8):

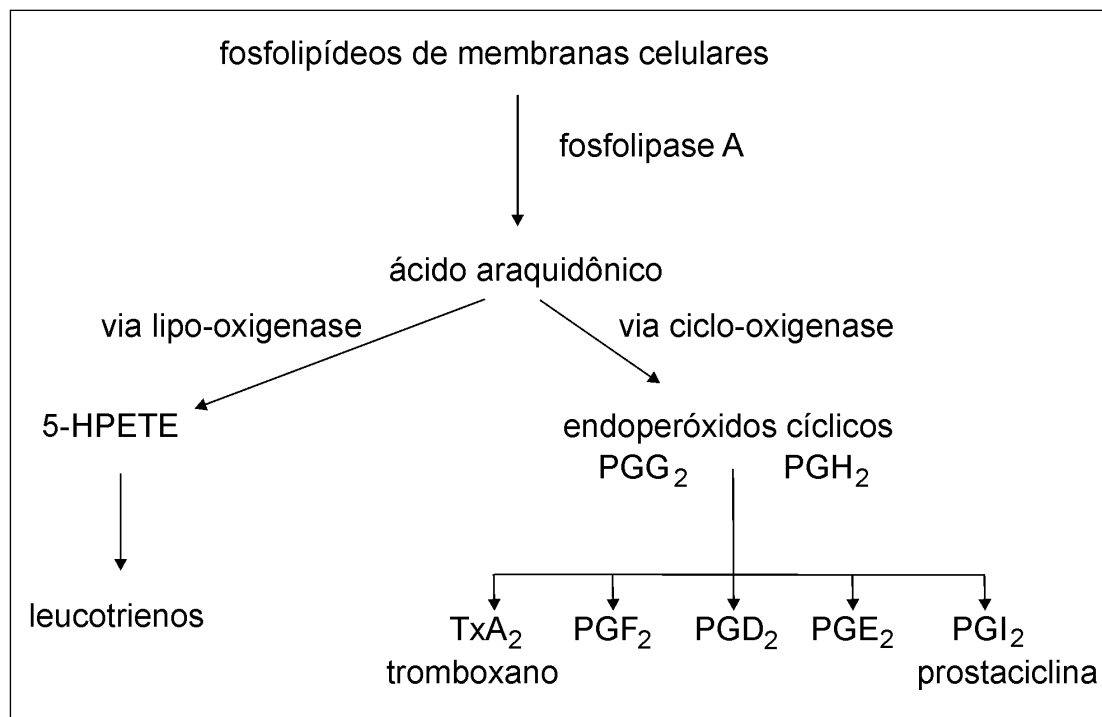


Figura 8 – Biossíntese das prostaglandinas.



araquidonato + O<sub>2</sub> → prostaglandina G<sub>2</sub> →  
prostaglandina H<sub>2</sub>

Essa enzima pode ser inibida em forma irreversível pela aspirina (analgésico) e pelo ibuprofeno (anti-inflamatório), mediante a acetilação de um resíduo de serina no sítio ativo.

Os tromboxanos causam vasoconstrição e agregação plaquetária e são produzidos nas plaquetas, por ação da enzima tromboxano sintetase. Essas atividades metabólicas também podem ver-se diminuídas por causa das drogas anteriormente referidas.

Outros compostos da família eicosanoide são os leucotrienos, que são produzidos nos leucócitos e participam dos processos da resposta imune. São produzidos também a partir do ácido araquidônico, mas tomam a chamada via linear, diferente da via cíclica tomada pelas prostaglandinas e os tromboxanos. A via linear não é afetada pelas drogas analgésicas e anti-inflamatórias, pois nela participa outra enzima não suscetível (lipoxigenase).

## TRANSTORNOS DO METABOLISMO DOS LIPÍDEOS

### Introdução

A maioria dos transtornos relacionados com o metabolismo dos lipídeos fazem relação ao excesso de ingestão de energia (obesidade) ou a complicações pelo déficit de energia (cetoses dos ruminantes). Em falhas hepáticas graves, concomitantes ou não com cetose, pode haver acúmulo de triglicéridos no fígado, provocando lipidose. Menos comum em animais são os transtornos das lipoproteínas. Os bovinos leiteiros no início da lactação e as ovelhas e cabras no final de gestação são os grupos de animais mais propensos a sofrer de cetoses espontâneas. As cetoses estão caracterizadas pelo aumento anormal de corpos cetônicos no sangue,

sendo definidos dois tipos de cetoses nos ruminantes: cetose das vacas, que se apresenta durante a lactação e responde facilmente ao tratamento, e toxemia da gestação dos pequenos ruminantes, geralmente fatal.

A obesidade vem afetando pequenos animais em função dos hábitos alimentares com sérias consequências para a saúde, como a propensão para diabetes mellitus.

### Cetose das vacas leiteiras

A cetose tem sido reconhecida como uma das mais importantes doenças metabólicas das vacas leiteiras, com consequências econômicas muito elevadas devido a sua apresentação ocorrer, na maioria dos casos, entre a 2ª e a 7ª semana de lactação, afetando não somente a produção, mas também a reativação ovárica. É causada pelo aumento das concentrações de corpos cetônicos nos tecidos e líquidos corpóreos, em níveis tóxicos ao organismo. Em situações crônicas de falta de substrato energético (glicose ou seus precursores), o organismo utiliza a oxidação dos ácidos graxos como fonte para suprir as demandas de energia, sobrecarregando o tecido hepático. O aumento da β-oxidação dos ácidos graxos (AG) nos hepatócitos gera um excedente de acetil-CoA, que é transformado em corpos cetônicos que são liberados na corrente circulatória e, em excesso nos tecidos, trazem danos à saúde animal.

### Etiologia

A maior ocorrência de cetose nos bovinos é durante o período de transição em vacas leiteiras, isto é, entre o último mês da gestação e as primeiras semanas da lactação. Neste período há um aumento significativo na demanda energética associado à diminuição da ingestão de matéria seca, o que favo-

rece um balanço energético negativo. Vacas de alta produção são frequentemente acometidas por esta doença, em função do grande volume de nutrientes escoados diariamente pela produção de leite. Uma vaca com produção de leite em torno de 30 kg/dia secreta aproximadamente 1,0 kg de proteína, 1,0 kg de gordura e 1,5 kg/dia de lactose. O nível de produção parece ser um fator de risco para o desenvolvimento de cetose, pois nem sempre a seleção genética para vacas de alta produção vem acompanhada de aumento da eficiência na conversão alimentar.

A falha determinante na cetose ocorre no metabolismo dos glicídeos e dos lipídeos. A falta do principal precursor gliconeogênico, o propionato, ocasiona uma hipoglicemia que leva a excessiva transformação de triglicéridos em ácidos graxos livres para produzir energia, via beta-oxidação, o que leva à presença de grande quantidade de acetil-CoA que supera a sua capacidade de utilização no ciclo de Krebs, aumentando as demandas de oxalacetato. O resultado é o acúmulo de corpos cetônicos (beta-hidroxibutirato, acetoacetato e acetona) dando um quadro clínico de cetonemia e cetonúria, com esgotamento do glicogênio hepático e hipoglicemia.

Desde o início da lactação até o pico de produção de leite, a vaca requer grandes quantidades de glicose para suas necessidades metabólicas e para a síntese de lactose. O efeito hormonal sobre a glândula mamária mantém a produção de leite, de forma que os requerimentos energéticos são preenchidos às expensas das reservas corporais. Nas vacas leiteiras, a taxa de prevalência de cetose clínica está entre 3 a 7 %, ao passo que a forma subclínica está em torno de 25 %, podendo chegar a 34 %. Na maioria dos casos (90 %) o transtorno é observado nos primeiros 60 dias de lactação, especialmente entre os dias 10 a 28 dias, sendo as vacas primíparas menos suscetíveis que as pluríparas.

São reconhecidas pelo menos três diferentes síndromes de cetose bovina: cetose por subconsumo (tipo I), cetose espontânea (tipo II) e toxicose butírica (Quadro 2).

Na cetose por subconsumo, o animal não recebe quantidade suficiente de calorias para atender a demanda de glicose pela glândula mamária. Esta deficiência calórica pode ser nutricional, na qual o animal apresenta apetite normal, porém com balanço energético negativo, ou secundária, causada por doenças que provoquem anorexia, tais como hipocalcemia, metrite e mastite. Neste tipo de cetose, as vacas de alta produção estão direcionando a energia para produção de leite e não conseguem manter o ritmo de demanda de energia, devido à deficiência nutricional. Incluem-se neste tipo de cetose vacas que não tiveram dificuldades no período pré-parto nem no parto, começando a lactação com boa produtividade. Podem fazer glicose de forma efetiva a partir de precursores, principalmente propionato do rúmen e aminoácidos das reservas proteicas (albumina e músculo). O fator limitante neste caso é a provisão dos precursores de glicose. Podem ser destacadas como causas dietas baixas em energia durante o período seco. As concentrações de acetato no sangue podem ficar muito altas e as concentrações de glicose e insulina muito baixas. Vacas acometidas por cetose do tipo I respondem bem aos tratamentos.

A cetose espontânea (tipo II) é a mais comum e mais pesquisada das cetoses, porém as causas e os mecanismos envolvidos são os menos compreendidos. Este tipo de cetose é mais comum em vacas leiteiras nas quais a demanda de glicose por parte da glândula mamária para produzir lactose provoca uma verdadeira drenagem da glicose sanguínea, provocando o desenvolvimento de uma cetose similar à cetose por subconsumo.

Aparentemente a cetose tipo II está relacionada à obesidade em vacas leiteiras.

QUADRO 2 – CARACTERÍSTICAS DOS TIPOS DE CETOSE NAS VACAS.

Característica	Tipos de Cetose		
	Tipo I	Tipo II	Butírica
Descrição	subnutrição espontânea	vaca gorda e fígado gorduroso	silagem com altas concentrações de butirato
BHB	muito alto	alto	alto
AGL	alto	alto	normal ou alto
glicose	baixa	alta	variável
Insulina	baixa	alta	variável
Status da insulina	insulina dependente	insulina resistente	variável
Condição corporal	baixa	alta	variável
Gliconeogênese	alta	baixa	variável
Patologia no fígado	não apresenta	fígado gorduroso	variável
Período de risco	3 a 6 semanas de lactação	1 a 2 semanas de lactação	variável
Prognóstico	bom	desfavorável	variável

Sua patogenia baseia-se nos mecanismos de regulação hormonal, com diminuição dos receptores de membrana para insulina. Os animais nesta condição tendem a mobilizar rapidamente uma maior quantidade de gordura sob condições de balanço energético negativo. As concentrações de insulina e glicose no sangue estão altas, embora só temporariamente. Trata-se de uma resistência à insulina que provoca graves consequências uma vez que a vaca enfrenta uma crise de energia no início da lactação e precisa passar glicose para o interior celular.

A cetose espontânea ocorre em vacas leiteiras de alta produção e não vem acompanhada de acidose severa. Frequentemente a recuperação também é espontânea, porém, com grande perda de produção de leite. O quadro é caracterizado por anorexia, depressão, cetonemia, cetonúria, acetolactia, hipoglicemia

e diminuição da produção láctea. A causa da doença, conforme a “teoria hipoglicêmica” seria uma queda na concentração de glicose sanguínea, que ocorreria mesmo em animais bem alimentados. A agressividade metabólica da glândula mamária, em vacas altamente selecionadas para produção leiteira, causaria a perda de grandes quantidades de glicose do sangue sem que o fígado possa responder com gliconeogênese em suficiente quantidade. A hipoglicemia seria seguida de uma lipólise com acetonemia, contribuindo para que o animal diminua o consumo de alimento. Com isso, seria precipitado o aparecimento de uma cetose similar à de jejum, ocorrendo diminuição de insulina, aumento de glucagon e, finalmente, excesso de AGL e de corpos cetônicos.

Por outro lado, existem evidências de que vacas podem apresentar cetonemia sem sofrer hipoglicemia, sugerindo a “teoria li-

política”. Esta teoria postula que deve haver um sinal lipolítico causador de hidrólise de triglicerídeos para suprir às demandas de AGL na glândula mamária, com controle independente da concentração de glicose sanguínea. É frequente observar esta situação metabólica na cetose subclínica, onde se observa normoglicemia associada a aumento de AGL e de corpos cetônicos. De acordo com teoria lipolítica, a lipólise endógena e a cetose espontânea poderiam ser prevenidas pela suplementação com triglicerídeos “protegidos”. Esta “proteção” se refere à cobertura destes triglicerídeos com proteínas tratadas com formaldeído, evitando sua degradação ruminal, fazendo com que sejam absorvidos no intestino delgado e transportados pelos quilomícrons até a glândula mamária.

Entre os fatores predisponentes da cetose bovina podem ser citados:

- período seco muito prolongado;
- vacas com sobrepeso no período pós-parto;
- ocorrência concomitante de febre do leite;
- retenção de placenta;
- hipomagnesemia.

Não tem sido observada predisposição hereditária. Também são postuladas como possíveis causas metabólicas predisponentes à cetose bovina, a falha na secreção de glicocorticoides e a deficiência nutricional de enxofre e cobalto. A falha na secreção de glicocorticoides limitaria a capacidade do animal para se adaptar ao estresse nutricional. A deficiência mineral limitaria a utilização de glicídeos, especialmente por deficiência de coenzima A, coenzima B<sub>12</sub> e de outros cofatores ou coenzimas.

A toxicose butírica ou cetose alimentar ocorre quando o gado é alimentado com

feno mal conservado, em decomposição, contendo altas quantidades de ácido butírico, o qual pode ser fonte de beta-hidroxibutirato e acetoacetato no rúmen.

#### Distúrbios metabólicos na cetose

O acetato (dois carbonos) é metabolizado principalmente para síntese de gordura. O butirato (quatro carbonos) sofre hidroxilação na parede do rúmen e é o principal responsável pela produção de corpos cetônicos em condições normais. No fígado, o acetil-CoA é condensado a acetoacetil-CoA, que pode ser convertido em acetoacetato, acetona e β-hidroxibutirato, formando corpos cetônicos ou ser transformado de novo em acetil CoA e aproveitado no ciclo de Krebs. O propionato (três carbonos) é a principal fonte de glicose no ruminante, sendo metabolizado através do ciclo de Krebs. No rúmen as relações de AGV cetogênicos (acetato e butirato) para o AGV glicogênico (propionato) são de 4:1 em condições de dieta de forragem.

Os níveis de glicose nos ruminantes são baixos (em torno de 60 mg/dL) quando comparados aos monogástricos, pois seu metabolismo está baseado na conversão dos AGV em energia. Este fator é determinante, quando no final da gestação e início de lactação, a demanda de glicose está aumentada em 30 % e 75 % respectivamente. O crescimento final do feto, a produção de colostro e o pico da lactação, somados à diminuição da ingestão de matéria seca nestes períodos, podem provocar um balanço energético negativo, no qual a quantidade de nutrientes necessários para manutenção e produção é muito maior que a da ingestão.

Na lactação existe uma súbita exigência de aumento da produção de nutrientes pelo início da lactação que não é suprida pelo consumo de matéria seca e o organismo uti-

liza rotas catabólicas de reservas energéticas para a manutenção da homeostase, iniciando pela utilização das reservas de glicogênio e posteriormente mediante a oxidação dos ácidos graxos que leva a uma saturação da capacidade hepática de utilizá-los e termina na produção elevada de corpos cetônicos. Em vacas leiteiras de alta produção, no início da lactação, grande parte do propionato produzido pelo rúmen é levado à glândula mamária para a produção de lactose, graças à capacidade desta glândula de realizar gliconeogênese. Este é o principal fator desencadeante de cetose nesta categoria.

No ciclo de Krebs, a principal substância que regula a velocidade em que o ciclo ocorre é o oxaloacetato. No ruminante, o propionato entra diretamente no ciclo através do succinil-CoA, sendo assim precursor do oxaloacetato. Como o propionato, que está sendo produzido no rúmen, em um período de baixo consumo de matéria seca, é em grande parte desviado para produção de lactose pela glândula mamária, ocorre uma diminuição dos níveis de oxaloacetato na mitocôndria, pela falta de seus precursores. Além disto, as concentrações de acetil-CoA mitocondrial, ponto de partida para o ciclo de Krebs, estarão reduzidas, uma vez que a principal via de produção de acetil-CoA é a glicólise. Consequentemente, há uma diminuição na velocidade do ciclo de Krebs, pela falta de acetil-CoA e do oxaloacetato.

Quando isto acontece, a falta de energia no fígado desencadeia novas rotas para gliconeogênese. A menor disponibilidade de glicose do intestino e da gliconeogênese hepática causa hipoglicemia com a devida resposta por parte do pâncreas, liberando glucagon e diminuindo a secreção de insulina. O glucagon provoca aumento de cAMP no tecido adiposo, ativando a lipase hormônio-sensível, a qual hidrolisa triglicerídeos e li-

bera ácidos graxos livres (AGL) e glicerol no sangue. Os AGL são utilizados pelos tecidos para produzir energia via beta-oxidação, sendo também captados pelo fígado.

A  $\beta$ -oxidação tem como produto final o acetil-CoA, que pela baixa concentração de oxaloacetato e a diminuição do ciclo de Krebs, acumula-se na mitocôndria e é desviado para a síntese de corpos cetônicos. Se esta condição é mantida por um período prolongado, pode ocorrer cetose e acúmulo de AGL em diferentes tecidos, incluindo o fígado e as células musculares.

Os corpos cetônicos formados no tecido hepático são acetoacetato, acetona e  $\beta$ -hidroxibutirato. A síntese dos corpos cetônicos obedece esta ordem sendo o acetoacetato o primeiro a ser produzido na cetogênese hepática, e rapidamente descarboxilado formando a acetona, que é altamente volátil. A instabilidade determina que acetona e acetoacetato não possam ser usados como marcadores para determinar os níveis de corpos cetônicos. O  $\beta$ -hidroxibutirato é resultado da oxidação do butirato e sua produção é controlada pela enzima 3-hidroxibutirato desidrogenase, sendo este processo dependente da relação  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ . Devido a sua maior estabilidade no sangue e à disponibilidade de kit comercial, utiliza-se o  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) para avaliação dos níveis séricos de corpos cetônicos.

As principais manifestações bioquímicas da cetose são a hipoglicemia, o baixo nível de glicogênio hepático, a cetonemia, a cetonúria e o aumento do nível plasmático de ácidos graxos livres. A severidade da síndrome é proporcional ao grau de hipoglicemia e de cetonemia. A queda do nível de glicose pode afetar a função cerebral, que também pode estar comprometida pelo ácido isopropílico, produto do catabolismo do acetoacetato. A glicemia pode baixar a menos de

40 mg/dL. São considerados normais valores de BHB abaixo de 1,0 mmol/L, ao passo que valores acima de 1,2 mmol/L consideram-se como cetose subclínica e acima de 1,5 mmol/L se relacionam com cetose clínica. Os corpos cetônicos na urina podem atingir níveis de até 1,3 mmol/L (referência: até 0,7 mmol/L). No leite, os corpos cetônicos podem chegar a 4,0 mmol/L (referência: 0,3 mmol/L). Os níveis de ácidos graxos livres estão aumentados no sangue sendo indicadores do grau de lipólise.

Os corpos cetônicos podem ser utilizados pelos tecidos extra-hepáticos, especialmente coração e rins. Outros tecidos são bastante dependentes de glicose, especialmente o cérebro na ovelha, porco e cão. Ao contrário dos ácidos graxos, que devem ser transportados ligados à albumina, os corpos cetônicos são bastante solúveis no plasma, não requerendo proteínas transportadoras. No jejum prolongado ocorre diminuição da concentração de albumina plasmática, diminuindo, portanto, a quantidade de AGL transportados. O excesso de AGL no plasma tem efeito tóxico. Caso a capacidade da albumina de transportar AGL seja excedida, os AGL no plasma podem ter uma ação detergente, danificando as membranas das células endoteliais e contribuindo para a formação de placas ateroscleróticas. Também se relaciona o excesso de AGL circulantes com efeitos deletérios na competência imunológica do animal.

A cetogênese no jejum ou na deficiência energética deve ser vista como um mecanismo de sobrevivência para os tecidos periféricos, e não como uma carga aplicada pelo fígado ao resto do organismo. Qualquer condição que cause anorexia virá acompanhada de aumento de corpos cetônicos nos fluidos corporais, com cetonemia, cetonúria e cetolactia.

Em todos os tipos de cetoses ocorre acidose metabólica, casos em que o bicar-

bonato do sangue pode cair a níveis menores que 10 mM (referência: 18-25 mM) e o pH, a menos de 7,2 (referência: 7,4).

#### Sinais clínicos

A forma subclínica de apresentação de cetose é a mais frequente, especialmente em animais que perdem mais do que 20 % do peso vivo nas primeiras semanas pós-parto, ou que são alimentadas com excesso de proteína (pastos novos, azevém) ou com valores de fibra inferiores a 18 %. O animal perde o apetite, permanece com o dorso encurvado, a pele fica com aparência resseca e a produção de leite cai. As complicações da forma subclínica são de grande importância econômica uma vez que afeta a reprodução causando alteração no ciclo estral, anestro, cistos, morte embrionária, baixa secreção de progesterona, abortos, mumificação fetal, atonia uterina e retenção de placenta. A forma subclínica pode levar a uma emaciação grave, com severa lesão hepática de prognóstico desfavorável. Nessa situação, é característica a elevação das transaminases e a presença de fezes líquidas e inodoras.

A cetose clínica em vacas leiteiras geralmente manifesta-se como uma síndrome debilitante, com gradual perda de apetite, diminuindo primeiramente a ingesta de concentrado, seguida pela silagem e depois as forrageiras. A diminuição da produção de leite acompanha a diminuição da ingesta e os animais caracterizam-se por uma drástica perda de condição corporal em consequência da grande mobilização de gordura para suprir a demanda de energia. Os sinais vitais geralmente estão normais, sendo perceptível um forte odor cetônico primeiramente na respiração e mais tarde na urina e no leite. Inicialmente os movimentos ruminais estão diminuídos e, com a evolução da doença, podem estar ausentes.

Na forma digestiva ou debilitante, que corresponde a 86 % dos casos, ocorre perda gradual do apetite, indigestão, diarreia, diminuição da produção de leite e do peso corporal, esgotamento, perda de condição corporal, diminuição no consumo de água, atonia ruminal, constipação, fezes duras, fétidas e com vestígios de sangue, perda da elasticidade da pele por desaparecimento da gordura subcutânea, depressão e letargia com decúbito em casos severos. Ocasionalmente, nos casos avançados, os corpos cetônicos conferem odor acético a pele, leite, urina e hálito. Em geral não é uma doença mortal e a recuperação é espontânea. Contudo, caso não seja tratada, a recuperação será muito lenta e as perdas de produção leiteira serão significativas.

Na forma nervosa, menos comum, ocorre uma sintomatologia que lembra a raiva bovina. O animal apresenta mudanças de comportamento, realiza movimentos circulares, mastiga sem conteúdo, sofre alterações da visão, saliva de forma profusa, tem comportamento agressivo, lambe a pele ou outros objetos, sofre quedas frequentes, empurra superfícies (paredes, estábulo, árvores), há hiperestesia, tremores e incoordenação motora. Estas alterações ocorrem por irritação do tecido nervoso. Com o avanço do quadro sem tratamento, a forma nervosa termina em depressão acentuada. Sintomas nervosos são menos comuns e quando observados são indícios de um quadro adiantado. Os sinais clínicos nervosos podem desaparecer espontaneamente se o balanço energético positivo for restabelecido.

Em vacas de corte gestantes, os sinais clínicos caracterizam-se, inicialmente, por hiperexcitabilidade, agressividade e atitude de alerta. Observam-se também tremores musculares e incoordenação com ataxia dos membros posteriores. Os animais levantam e deitam constantemente e fazem movimentos com a cabeça. Pode ser observado, ainda,

ptialismo, dispneia, corrimento nasal seroso, diminuição dos movimentos ruminais e presença de fezes secas. Alguns animais podem apresentar febre. Em estágios mais avançados, os tremores musculares se estendem ao corpo todo, principalmente na cabeça, levando ao decúbito e a convulsões tônico-clônicas. Estão presentes salivação, contrações clônicas dos músculos cervicais, causando dorsoflexão ou desvio lateral da cabeça e andar em círculos. Os animais permanecem deitados após as convulsões podendo levantar-se posteriormente, assumindo uma posição característica de “olhar as estrelas”. Quando tentam andar apresentam incoordenação e tornam a cair. Os animais mais afetados ficam em decúbito permanente 3-4 dias após o início dos sinais clínicos e permanecem em profunda depressão até a morte. O curso clínico pode variar entre 2-7 dias, sendo rápido nos animais muito gordos.

Estudos em vacas leiteiras e também em ovelhas e cabras induzidas experimentalmente sugerem que parte dos sintomas nervosos (depressão, cambaleio, cegueira, midríase, etc), verificados na acetonemia, possam ocorrer em razão da ação do isopropanol, gerado por descarboxilação principalmente do beta-hidroxibutirato, que produziria um efeito tóxico no córtex cerebral.

#### Diagnóstico

O diagnóstico clínico leva em conta os sinais clínicos, a época da apresentação e o volume de produção leiteira. A concentração de corpos cetônicos aumenta no sangue e na urina. Concomitantemente, os valores de glicemia estão baixos e os de ureia, elevados. A AST e a GGT têm atividade plasmática aumentada, sugerindo dano hepático.

A associação de baixo teor de glicose e alto de beta-hidroxibutirato no plasma constitui um bom elemento preditivo da situação. O

prognóstico depende da severidade dos sinais e do grau de acetonemia. Em casos leves, uma mudança na alimentação pode regredir os sinais em 10 dias de iniciado o tratamento. Em casos graves pode considerar-se a possibilidade de cetose secundária a outro processo patológico, como reticuloperitonite traumática, deslocamento do abomaso, pielonefrite, retenção de placenta, endometrite e distomatose.

Devido às perdas econômicas ocasionadas pela cetose subclínica, é ideal detectar e tratar as vacas que possuem níveis de BHB sérico igual ou maior a 1,4 mmol/L. Utiliza-se na prática, para identificar as vacas com esse transtorno, os níveis de corpos cetônicos no leite, através de testes de fitas reagentes como Ketolac test strip, Ketocheck powder, Bioketone powder e Ketostix strip.

#### Tratamento

As vacas, antes do parto, devem estar em condição corporal 3,5 a 4,0 (escala de 1= magra; 5= obesa) e evitar mudanças bruscas na alimentação no peri-parto. O conteúdo de proteína deve ser moderado, a forragem palatável e com bom nível de fibra (mínimo 18 %). A alimentação deve incluir substratos que propiciem a formação de ácido propiônico como feno de alfafa ou de milho. Em animais com tendência genética a sofrer deste transtorno, recomenda-se o uso preventivo de propionato sódico ou de propileno-glicol, além de um bom fornecimento de cobalto, fósforo e iodo.

O tratamento geralmente é sintomático tratando de reverter o quadro hipoglicêmico com elevada administração de glicose via endovenosa (500 mL de solução de glicose a 50 %), renovação do fluido ruminal e tranquilizantes em casos de excitação. A glicose via oral deve ser evitada, pois é rapidamente

fermentada no rúmen, produzindo precursores cetogênicos, o que agravaria o problema. O tratamento na cetose deve ter como objetivo primário a elevação dos níveis de oxalacetato para, com isso, aumentar a gliconeogênese. Isto pode ser obtido mediante infusão oral de propileno-glicol ou de glicerol mediante sonda ruminal (450 g/dia, dividido em duas doses, por 2 dias, seguido de 110 g/dia, por mais 2 dias). Propionato de sódio (110-225 g/dia) pode ser fornecido com o alimento.

Também se pode administrar corticosteroides (estimuladores da gliconeogênese) para manter a glicemia por mais tempo (8-10 horas), pois o tratamento endovenoso com glicose mantém a glicemia por apenas 2 a 3 horas. Os níveis elevados de glicemia conseguem estimular o apetite, o que, por sua vez, favorece o restabelecimento da glicemia. A homeostasia deve conseguir-se em 4 a 5 dias. Injeções de 10 mg de dexametasona produzem hiperglicemia por 4-6 dias. O tratamento com glicocorticoides causa diminuição da produção de leite, favorecendo a recuperação. Anabolizantes não esteroides, como o trenbolone (60 mg), também têm sido efetivos. Também pode ser administrada insulina (250 UI, repetida a intervalos de 24-48 h) com base na sua propriedade anti-lipolítica, mas sempre acompanhada de glicose intravenosa.

Outra possibilidade seria o fornecimento de fósforo orgânico, que aumenta a ingestão de matéria seca e diminui os níveis de  $\beta$ -hidroxibutirato e de AGL, favorecendo, assim, a reversão do quadro clínico de cetose.

Nos últimos anos, devido às altas produções das vacas leiteiras, percebe-se um aumento no número de casos de cetose clínica. O balanço energético negativo (BEN) que ocorre nas vacas leiteiras de alta produção pode causar um estado de cetose subclínica, que em certas circunstâncias de manejo da dieta pode levar à ocorrência de cetose clínica.



## Profilaxia

O controle da cetose está integralmente relacionado com a nutrição adequada da vaca no período seco e na lactação. Devem ser evitadas as condições predisponentes a esta condição metabólica. As vacas devem chegar ao período do parto com um escore corporal aproximado de 3,5 (escala de 1 a 5), ou seja, não devem estar muito magras nem muito gordas. É recomendável que as vacas sejam avaliadas 4 semanas antes do parto para que os ajustes pertinentes na alimentação sejam feitos. Vacas de alta produção leiteira devem ser observadas com atenção, especialmente se já padeceram anteriormente de cetose. Estes animais devem ter seu peso e alimentação controlados nos meses finais da gestação.

O uso profilático de compostos que aumentem a concentração do propionato ruminal tem dado bons resultados. Com esta finalidade, podem ser utilizados, iniciando no dia do parto, propionato de sódio (110 g/dia, por 6 semanas) ou propileno-glicol (350 mL/dia, por 10 dias). Ionóforos, como a monensina, contribuem para aumentar a relação propionato/acetato no rúmen, além de reduzir o conteúdo de gordura no leite, evitando, assim, maiores perdas energéticas. O uso do perfil metabólico é de utilidade na prevenção da cetose. Níveis de glicose sanguínea menores que 35 mg/dL em vacas leiteiras com 2 a 6 semanas de lactação, constituem sinal de alarme. Níveis de beta-hidroxibutirato sanguíneo maiores de 12 mg/dL (1,2 mmol/L) são indicativos de cetose subclínica. É útil, também, que testes para detecção de corpos cetônicos na urina ou no leite sejam feitos a partir da 2ª semana de gestação.

Uma possibilidade em vacas em balanço energético negativo, considerando a praticidade na rotina, é o uso do chamado Drench, que se refere a soluções fornecidas via sonda ororuminal, com a seguinte possível composição:

20 L de água a 37 °C

150 mL de propileno-glicol

100 g de cloreto de potássio

220 g de fosfato de sódio

100 g de bicarbonato de sódio.

O propileno-glicol pode ser utilizado tanto na prevenção como no tratamento da cetose. Sua fermentação no rúmen origina grandes quantidades de propionato e glicerol, o que explica seus efeitos no aumento dos níveis séricos de glicose e insulina, e diminuição dos AGL e de  $\beta$ -hidroxibutirato em vacas no início de lactação. Raramente são observados efeitos colaterais, mas pode causar salivação, hiperventilação e depressão, especialmente quando usado em altas dosagens. Tem a vantagem de não alterar o pH ruminal quando administrado até 688 g/dia no concentrado. Entretanto, se a dose exceder 500 g/dia pode causar diminuição do consumo de matéria seca por afetar a palatabilidade do concentrado, causar toxidez na flora ruminal ou por oxidação parcial do propionato no fígado, quando o animal já supriu suas necessidades energéticas.

Os ionóforos são compostos de poliéter produzidos a partir de espécies de *Streptomyces* sp, que, quando adicionados à dieta de ruminantes, atuam de forma seletiva na flora ruminal levando à diminuição da multiplicação, ou mesmo levando a morte de microrganismos Gram-positivos. Caso sejam utilizados em doses muito elevadas, podem causar também inibição e mortalidade de fungos, protozoários ruminais e microrganismos Gram-negativos. O principal ionóforo é a monensina, a qual reduz a metanogênese ruminal, por desviar átomos de C e H<sup>+</sup> para outros compostos que não o metano (CH<sub>4</sub>). O redirecionamento deste fluxo de C e H<sup>+</sup> leva a uma maior produção de propionato, aumentando a eficiência energética da

dieta em até 4 %. A administração de 15 a 30 mg de monensina por kg da dieta no periparto favorece a diminuição da cetogênese e aumenta os níveis de glicose sanguíneos.

A niacina é necessária para a síntese dos compostos NAD<sup>+</sup> e NADP<sup>+</sup>, coenzimas essenciais no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas. A niacina é sintetizada pelos microrganismos do rúmen, mas após ter sido descoberto seu efeito reduzindo a lipólise e diminuindo o fluxo de ácidos graxos livres no sangue em ratos e humanos, esta vitamina passou a ser incorporada à dieta de vacas de leite no periparto. A dose recomendada para prevenção de cetose e esteatose hepática é de 6 a 12 g/dia para vacas no pré-parto e início de lactação.

A deficiência de colina pode afetar a formação de fosfolipídeos necessários para estruturação das lipoproteínas essenciais para o transporte dos triglicerídeos. Em monogástricos, a deficiência de colina cursa com lipídose hepática devido à incapacidade do hepatócito em sintetizar fosfolipídeos necessários para o transporte dos triglicerídeos.

Em ruminantes, a colina é sintetizada pela microflora do rúmen, de forma que deve existir quantidades suficientes de fosfatidilserina na dieta. Entretanto, o motivo pelo qual se preconiza sua suplementação baseia-se na hipótese de que vacas ao final de gestação diminuem o consumo de matéria seca ao mesmo tempo em que aumenta a demanda de proteína para síntese de leite e colostro. Esta demanda muitas vezes não consegue ser suprida e conseqüentemente há falta de substrato para a síntese de colina. Para que a suplementação com colina seja efetiva, é necessário administrá-la em uma forma protegida, que escape da degradação no rúmen. No periparto a dosagem recomendada é de 15 a 20 g/dia.

## Cetose dos pequenos ruminantes

### Etiologia

Também chamada toxemia da gestação, a cetose é frequente em ovelhas e cabras com gestação gemelar e submetidas à privação energética e/ou a estresse. A causa determinante da cetose é uma deficiência de energia na dieta, exacerbada pelo aumento da demanda energética na parte final da gestação. É caracterizada por depressão, enfraquecimento, hipoglicemia, cetonemia, cetonúria, acidose, a qual pode ser severa, deposição de gordura no fígado e, caso não tratada, coma e morte. Em ovelhas, o nível de cortisol plasmático pode aumentar acima de 10 ng/mL, sendo usado como indicador da toxemia, junto com a hipoglicemia e a cetonemia.

Os fetos são completamente dependentes de glicose para produção de energia. A placenta ovina e caprina tem pouca permeabilidade para os corpos cetônicos. Os níveis de glicose sanguínea nos fetos (0,6 mM) são baixos em relação aos níveis maternos (2,8 mM). Além disso, o glicídeo mais abundante no sangue fetal é a fructose (5,1 mM), sintetizada a partir da glicose. Assim, é formado um gradiente de glicose entre os sangues materno e fetal, permitindo um fluxo contínuo de glicose para o feto.

Nos pequenos ruminantes, a toxemia da gestação ocorre mais em sistemas de produção intensiva. Em sistemas de produção extensiva, não é comum, a menos que ocorra um mau manejo alimentar. É uma doença de ocorrência exclusiva em fêmeas prenhes, especialmente durante o último mês da gestação e em casos de dois ou mais fetos. Também pode ocorrer em gestações simples com fetos grandes. A prevalência da doença pode chegar a 20 % nos rebanhos ovinos e caprinos. Embora não exista uma suscetibilidade

identificada em raças, as ovelhas de origem inglesa são consideradas mais resistentes. Entretanto, essa resistência à doença pode ter como consequência uma diminuição do peso do cordeiro ao nascimento, levando a um aumento da mortalidade perinatal.

Existe muita variação para a predisposição à cetose entre os ovinos, dependendo da eficiência metabólica do fígado. A forma mais comum da toxemia é a primária, ou seja, deficiência nutricional no terço final da gestação, especialmente quando associada a procedimentos de manejo, tais como transporte, limpeza, tosquia e everminação, mudanças na alimentação e frio excessivo. Em ovelhas com sobrepeso, pode ocorrer queda no consumo por redução do volume ruminal devido à pressão, tanto do feto quanto da gordura intra-abdominal. A forma secundária ocorre por doença intercorrente, como *footrot* e infestação parasitária, causando queda do consumo de alimentos ou grande drenagem de energia.

#### Sinais clínicos

Os sinais clínicos da cetose dos pequenos ruminantes são similares à forma nervosa das vacas, embora manifestada de forma mais grave. As ovelhas e as cabras são mais suscetíveis aos efeitos da cetose que os bovinos, sendo observadas, além dos sintomas nervosos, uma severa acidose metabólica, falha renal aguda, uremia e desidratação, por incapacidade de beber água. O animal se afasta do grupo e aparenta cegueira, não reage a estímulos e cambaleia, fica várias horas junto aos bebedouros, mas sem beber água. Ocorre constipação, tremores musculares, salivação e convulsões, podendo ser detectado o hálito cetônico. Em 3 a 4 dias pode entrar em decúbito, mantendo estado de profunda depressão, podendo chegar a coma e morte. Geralmente acontece a morte dos fe-

tos, o que exacerba a toxemia e aumenta as chances de mortalidade.

#### Tratamento

Diferentemente da cetose nos bovinos, a resposta à terapia nos pequenos ruminantes é ineficaz ou nula quando o animal já se encontra em decúbito. Antes de o animal recumbir, é necessária uma terapia de reposição de fluidos, eletrólitos e do equilíbrio acidobásico, além de glicose intravenosa. É utilizada administração endovenosa de glicose (6 g 6-8 vezes/dia), junto com insulina (30 UI intramuscular a cada 48 h por 2 vezes). Adicionalmente, pode ser administrada injeção endovenosa de solução Ringer-lactato, além da administração de líquidos com sonda esofágica.

Outra alternativa de terapia é a administração de infusões orais, a cada 4 horas, de uma solução de 160 mL contendo 45 g de glicose, 8,5 g de cloreto de sódio, 6,2 g de glicina e eletrólitos (por exemplo, soluções antidiarreicas). Em certas ocasiões, será necessária a remoção do feto, o qual é a causa da drenagem de glicose, mediante cesariana ou indução hormonal do parto com glicocorticoides. Assim como em vacas, é útil a administração de propilenoglicol ou glicerol via oral.

Para o controle da toxemia da gestação são aplicadas recomendações similares às das vacas. O nível nutricional deve ser aumentado a partir do 3º mês de gestação. A condição corporal deve ser avaliada aos 3 meses de gestação, devendo o escore corporal ser de 2,5-3,0 (escala de 1 a 5). Os últimos 2 meses de gestação são de especial importância para a prevenção da toxemia da gestação, pois é a época em que o peso dos fetos aumenta em 70 %. Nesse período, é recomendável fornecer concentrado contendo 10 % de proteína (250 g/dia, aumentando progressivamente

até chegar a 1 kg/dia) nas duas últimas semanas de gestação.

Também deve ser evitado o aumento excessivo de peso no início da gestação, sendo preferida alimentação em pastejo nessa época, reservando a suplementação com concentrado somente para o final da gestação. Todas as situações que submetam os animais a estresse devem ser evitadas, principalmente no final da gestação.

### **Lipidose hepática**

A lipidose hepática, fígado gorduroso ou infiltração gordurosa do fígado é um transtorno do metabolismo lipídico devido à mobilização excessiva de triglicerídeos do tecido adiposo para o fígado. Suas causas são múltiplas, mas, em geral, pode ser consequência da privação de alimento, do aumento súbito da demanda energética ou da interferência na formação de lipoproteínas hepáticas, que impedem a exportação de lipídeos do fígado para a circulação.

#### **Etiologia**

Qualquer causa que interfira com a síntese de lipoproteínas resulta em acúmulo de gordura no fígado. Todas as hepatotoxinas (etionina, micotoxinas, clorofórmio, puromicina, ácido orótico) produzem disfunção hepática por interferir na síntese de apoproteínas requeridas para a formação de lipoproteínas. A deficiência de colina causa fígado gorduroso devido à falta de síntese dos fosfolipídeos necessários para formar o complexo lipoproteico.

A ingestão de álcool aumenta a captação hepática de ácidos graxos e impede a sua exportação nas lipoproteínas. Consequentemente, contribui para a instalação de fígado gorduroso, o que se vê agravado por ser o

etanol precursor de acetato, fonte de ácidos graxos. Ainda nesse caso, aumenta a formação de triglicerídeos no fígado, causando hipertrigliceridemia.

O jejum prolongado e a diabetes mellitus provocam acúmulo de gordura no fígado devido à mobilização exagerada de lipídeos unida à falha de produção de lipoproteínas.

O transtorno é frequente em gatos obesos que fogem da casa do proprietário por vários dias.

Em vacas leiteiras de alta produção, é frequente observar o problema nas primeiras semanas de lactação, existindo maior suscetibilidade em vacas que recebem excessiva quantidade de alimento durante o período seco e chegam com sobrepeso ao parto. Também pode estar associada com apresentação de transtornos após o parto, como hipocalcemia, cetose, deslocamento do abomaso ou qualquer situação que cause anorexia total, como retenção de placenta ou distocia.

Tem sido proposto como agente etiológico a acelerada lipomobilização desde os depósitos corporais até o fígado, seja por diminuição de alimento nas vacas próximas ao parto ou por uma intempestiva demanda de energia no pós-parto de vacas leiteiras (início da lactação) ou, em gado de corte e em ovelhas, por gestações gemelares. Qualquer deficiência energética por carência de alimento (manejo), ou por impossibilidade endógena do animal em produzir energia de rápida utilização, leva a uma acelerada lipomobilização de ácidos graxos de cadeia longa de suas reservas corporais, o que ocasiona acúmulo de gordura nos hepatócitos, esgotamento do glicogênio hepático, transporte alterado das lipoproteínas hepáticas, hipoglicemia, produção de corpos cetônicos e estabelecimento de cetonemia, terminando com morte por coma hepático após 7 a 10 dias de iniciado o quadro clínico.

## Sinais clínicos

Alguns animais, antes de morrer, exibem quadro nervoso com tremores musculares, ataxia, incoordenação, inquietude e agressividade. Os sinais clínicos terminais são icterícia e diarreia amarela e fétida. Recomenda-se fazer diagnóstico diferencial para deslocamento de abomaso, cetose clínica ou subclínica, hipocalcemia e peritonite. O grau de lipomobilização e, portanto, o grau de infiltração hepática dependem do peso corporal (reserva de gordura) e do grau de deficiência de consumo de energia. Em casos severos (>34 % de gordura infiltrada) observam-se hipoglicemia, cetonemia, cetonúria, aumento de ácidos graxos livres, beta-hidroxibutirato, bilirrubina e enzimas hepáticas (AST, FA, LDH, GGT), simultaneamente com diminuição de colesterol, albumina e insulina.

Na necropsia pode se encontrar hepatomegalia, fígado friável e gorduroso, túbulo renal com gordura e adrenomegalia com coloração amarelo intenso.

## Tratamento

Não existe tratamento específico. Procura-se diminuir a intensidade dos sinais clínicos com fármacos de proteção hepática. O tratamento pode direcionar-se a corrigir os efeitos da cetose com injeção endovenosa de solução de glicose com eletrólitos, dexametasona (20 mg a cada 2 dias) e infusão oral de propilenoglicol. Alguns nutrientes essenciais, como colina, vitamina B<sub>12</sub> e metionina, previnem a apresentação de fígado gorduroso por estarem envolvidos na síntese de lipoproteínas, seja de apoproteínas ou de fosfoglicerídeos.

O tratamento de casos graves costuma não ser efetivo e o prognóstico deve ser discutido antes de ser iniciado o tratamento. No caso de decidir-se pelo uso da terapia, o foco será em reduzir a mobilização de gordura e fornecer uma fonte de glicose e, portanto, energia a fim de favorecer a função hepática. Para tanto, o tratamento deve iniciar precocemente antes de um acúmulo elevado de gordura no fígado e de um comprometimento irreversível da função hepática. Em casos moderados pode-se administrar 500 mL de glicose 50 % via endovenosa, acompanhado de 200 UI de insulina longa ação, fornecida uma ou duas vezes com intervalos de 48 horas. Também se pode adotar o uso de Drench como recomendado no tratamento da cetose.

No controle da doença, deve-se considerar a alimentação das vacas leiteiras no último trimestre de gestação, evitando que engordem nesse período, além de propiciar o consumo de alimento em animais com distocias e/ou retenção de placenta. O uso de perfis metabólicos é útil para determinar a condição energética, mediante dosagem de glicose e beta-hidroxibutirato, bem como o de corpos cetônicos no leite ou na urina. Uma prova fundamental é determinar os valores de AST (grandes animais) ou ALT (pequenos animais) para avaliar o grau de lesão hepática. O uso de propilenoglicol, no início da lactação, tem sido usado para prevenir a excessiva mobilização de gordura, promovendo a gliconeogênese. A prevenção inclui avaliar a condição corporal durante o parto, começando dois meses antes do parto até três meses após, considerando que um escore de 3,0 a 4,0 na escala de 1-5 é ideal para o parto. A observação da condição corporal durante a lactação serve para monitorar a condição nutricional do rebanho.

## **Anormalidades das lipoproteínas plasmáticas**

### **Deficiência de lipoproteínas**

As deficiências são entidades herdadas e podem ser por falta de  $\beta$ -lipoproteína (abetalipoproteinemia) e a falta de HDL ou  $\alpha$ -lipoproteína (doença de Tangier). Essas duas doenças até agora se relacionam com humanos.

A falta de  $\beta$ -lipoproteína causa falhas na absorção de ácidos graxos essenciais e de vitaminas lipossolúveis e no transporte de triglicerídeos, seja em VLDL ou em quilomícrons. Observam-se níveis plasmáticos muito baixos de colesterol, fosfolipídeos e triglicerídeos; clinicamente ocorrem transtornos neurológicos, crescimento retardado, esteatorreia e distensão abdominal.

A falta de  $\alpha$ -lipoproteína é uma doença rara até agora só observada em um grupo familiar da ilha de Tangier, nos EUA (daí o nome da doença). Também se observam baixos níveis de colesterol e fosfolipídeos, embora a doença não seja tão séria quanto a abetalipoproteinemia. Os sinais clínicos estão relacionados com deposição anormal de lipídeos nos tecidos corporais.

### **Excesso de lipoproteínas**

As hiperlipoproteinemias têm sido observadas em humanos e em animais. O aumento de lipoproteínas pode ser secundário a uma doença sistêmica, como diabetes ou hipotireoidismo, ou primário, principalmente em humanos, relacionado com fatores herdados.

Existem vários tipos de hiperlipoproteinemias, dependendo de qual a lipoproteína envolvida (quilomícrons, VLDL, LDL, HDL). A classificação foi possível graças a técnicas de imunoenálise específicas para cada apo-

proteína. O excesso de quilomícrons tem sido observado como consequência de diabetes, pancreatite e alcoolismo agudo. Na diabetes, a hiperlipidemia dá ao sangue uma aparência de “sopa de tomate”. O aumento de quilomícrons causa elevação de triglicerídeos, ao passo que o aumento de VLDL leva a aumento de colesterol. Na diabetes, a hiperlipidemia pode dever-se à falha na lipólise dos quilomícrons e da VLDL secundária à deficiência da enzima lipoproteína-lipase nas células, e não à sobreprodução de lipoproteínas.

O excesso de LDL causa aumento de colesterol no sangue e tem sido observado como doença familiar em humanos, em decorrência de mutações no receptor LDL. O aumento de colesterol, juntamente com triglicerídeos, também tem sido observado na hiperlipoproteinemia secundária a hipotireoidismo e doença obstrutiva hepática.

Em alguns grupos familiares, observa-se hipercolesterolemia, causando aterosclerose prematura, aparentemente devido a mutações nos genes que codificam para apolipoproteínas. Tanto em humanos quanto em animais, o polimorfismo das apolipoproteínas está relacionado com o aumento do número de falhas genéticas causadores de anormalidades no metabolismo dos lipídeos. Já foram demonstrados polimorfismos das lipoproteínas em vaca, ovelha, aves, suínos, coelhos, macacos e peixes.

## **Hiperlipidemias em animais**

São doenças que afetam o transporte de lipídeos, resultando em valores anormalmente elevados de triglicerídeos, de colesterol ou de ambos. A maioria são problemas transmitidos geneticamente e resultantes da alteração de uma ou várias proteínas comprometidas na produção, processamento ou transporte de lipídeos plasmáticos.

Em equinos, pode ocorrer aumento de VLDL como consequência de inanição, que pode acentuar-se em animais obesos ou em condições de estresse (gestação, lactação, parasitismo, frio). Diferentemente de outros animais em que o jejum causa aumento nos níveis de ácidos graxos livres, no cavalo o fígado tem uma grande capacidade de formar VLDL com os lipídeos mobilizados, provocando hiperlipoproteinemia com pouco aumento de colesterol e de ácidos graxos livres. O processo, no entanto, pode estar acompanhado de infiltração gordurosa no fígado, coração e rins. É provável que a própria utilização da VLDL esteja anormal.

As hiperlipidemias em cachorros têm ocorrência relativamente frequente, relacionada com defeitos congênitos do metabolismo lipídico. Já foram descritos defeitos genéticos nas raças Schnauzer miniatura e em Beagles. Por outra parte, as hiperlipidemias podem ser secundárias à diabetes mellitus, hipotireoidismo e pancreatite, com hipercolesterolemia e aumento de HDL, LDL e triglicédeos. Outros transtornos que causam hiperlipidemia em cães são hepatite, síndrome nefrótica, hipoalbuminemia e inanição.

Em suínos, tem sido caracterizado um defeito genético da proteína apo B, que vem acompanhado de hipercolesterolemia e lesões ateroscleróticas nas artérias coronárias. É provável que a hipercolesterolemia esteja relacionada com falha na união ao receptor LDL.

Um problema genético sério é a ausência de lipoproteína-lipase, o que impossibilita a remoção de triglicédeos dos quilomícrons após as refeições. Nesses casos, ocorrem depósitos de gordura subcutâneos (xantomas eruptivos) além de pancreatite, sintomas que são aliviados com dietas sem gorduras.

## Obesidade

### Introdução

A obesidade é definida como um acúmulo de gordura em excesso, ao ponto que afeta a otimização das funções corporais. Essa condição, em animais de companhia, vem aumentando em consequência da sobrecarga de glícidos e gorduras na dieta, castração, sedentarismo e resistência à insulina, o que aumenta a susceptibilidade a várias enfermidades. O sobrepeso se estabelece quando o peso corporal está até 20 % acima do peso ideal, enquanto que a obesidade se considera quando ultrapassa 20 % desse peso. O problema é mais frequente em cães, gatos e humanos. As causas precisas não estão esclarecidas. Em humanos, o principal mecanismo é o consumo de calorias acima dos requerimentos, o que se relaciona com hábitos alimentares. As causas da obesidade podem ser de origem endócrina, farmacológica, genética e ambiental. Causas endócrinas incluem hipotireoidismo, hiperadrenocorticismo e tumores de hipotálamo, que resultam em hiperfagia. O fator genético é importante em humanos, onde 80 % dos filhos de obesos tem chance de ser obesos, enquanto apenas 14 % dos filhos de pais normais têm chance de desenvolver obesidade. Entre as principais complicações clínicas da obesidade estão hipertensão, diabetes e trombose (por diminuição dos níveis de antitrombina III).

Em condições normais, os animais controlam a quantidade de alimento ingerido, mas em consequência da alta palatabilidade e do desbalanço dos alimentos comerciais, a grande maioria dos animais ingere uma maior quantidade de alimento que seria necessário para as condições de manutenção. Por volta de 25 % dos gatos e 40 % dos cães

apresentam sobrepeso, o que mostra a dificuldade de reconhecimento da condição e as formas de avaliá-la. Com a obesidade, surgem complicações metabólicas que podem levar ao desenvolvimento de várias enfermidades, dentre as quais a mais comumente observada na clínica de pequenos animais é a diabetes mellitus. No desenvolvimento da obesidade juvenil, está alterado não só o tamanho dos adipócitos, mas também seu número, o qual permanece por toda a vida. Na obesidade adquirida do adulto este efeito não ocorre, aumentando apenas o tamanho das células, o que torna o controle mais fácil.

Embora não seja difícil de obter a identificação da obesidade, a investigação do seu grau é mais complexa, pois o peso corporal não é um bom índice para se avaliar a quantidade de gordura corporal, utilizado isoladamente, uma vez que pode estar relacionado com a quantidade de tecido muscular. Para essa avaliação existem vários parâmetros, porém a maioria, além de ter sido desenvolvida para humanos, demanda altos custos e não são métodos práticos. Atualmente têm-se utilizado a mensuração do índice de massa corporal (IMC) e a avaliação do escore de condição corporal como métodos práticos para acessar a obesidade em cães e gatos, apresentando boa correlação com métodos mais sofisticados, como a mensuração da absorção de raios X de energia dual (DEXA). O IMC baseia-se em mensurações físicas simples que podem ser usadas para estimar o conteúdo de massa adiposa em gatos. Este pode ser obtido a partir de duas medidas físicas, ambas realizadas com o animal em estação, com os membros perpendiculares ao chão e a cabeça na posição ereta. São elas a circunferência da caixa torácica (cm) ao nível da 9ª costela e a medida do membro posterior esquerdo (cm)

desde a patela até a tuberosidade calcânea. A percentagem de gordura corporal pode ser calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ gordura corporal} = \frac{\left[ \frac{\text{caixa torácica}}{0,7067} \right] - \text{medida do membro}}{0,9156} \times \text{medida do membro}$$

Um percentual de gordura corporal maior do que 30 % indica obesidade, entre 10 e 30 % indica peso ideal e abaixo de 10 %, caquexia.

#### Obesidade e diabetes mellitus

Cães e gatos são diferentes em termos metabólicos, requerendo níveis alimentares diferenciados de proteínas, gorduras e glicídeos. Um manejo mal elaborado entre esses nutrientes pode causar sérios distúrbios metabólicos, dentre os quais a diabetes mellitus, que ocorre frequentemente. No Quadro 3 pode-se observar que, nas duas espécies, a obesidade é uma das principais causas incriminadas na etiologia da doença. A obesidade é comum em gatos diabéticos, resultando do excessivo aporte calórico na alimentação de livre escolha com ração seca felina. Ela causa resistência reversível à insulina, a qual se resolve assim que a obesidade é curada, além de alterar a tolerância tecidual à glicose, ainda que não exista hiperglicemia. No desenvolvimento da obesidade em felinos, ocorrem aumento na resistência tecidual à insulina e uma redução na efetividade da glicose. Isso muitas vezes torna a avaliação clínica dificultosa, uma vez que não se sabe se o felino é insulino dependente ou não. O animal obeso necessitará de maior aporte de insulina para se manter, o que, a médio e longo prazo, leva à exaustão das células  $\beta$ -pancreáticas. Além disso, leva à



QUADRO 3 – ETIOLOGIA COMPARATIVA DA DIABETES MELLITUS ENTRE CÃES E GATOS.

Cães	Gatos
Genética	Amiloidose
Insulinite imunomediada	Obesidade
Pancreatite	Infecção
Obesidade	Doença concomitante
Infecção	Drogas
Doença concomitante	Pancreatite
Drogas	Genética
Amiloidose	Insulinite imunomediada

Fonte: Zerbé (2001).

diminuição da translocação para a membrana plasmática do transportador GLUT4. Assim, parece plausível que o reconhecimento precoce da doença pode ajudar a impedir tal exaustão pancreática.

#### Tratamento da obesidade

O manejo efetivo da obesidade e sua prevenção dependem da aquisição de informações sobre a desordem, a partir das quais os fatores de riscos poderão ser identificados e minimizados.

#### Aporte calórico

O controle de peso depende da redução da ingestão calórica, seja pela redução do fornecimento diário, seja em casos mais graves, pela introdução de dietas especiais. As recomendações para felinos determinam, como requerimento energético, 80 kcal/kg de PV, mas essas necessidades são aplicáveis apenas para animais em atividade. Mudanças no estilo de vida do felino, nas últimas décadas, levaram a alterações nas necessidades diárias de energia.

Deve-se objetivar uma perda de peso inicial de 15 %, calculando-se o conteúdo calórico diário para cães (em calorias) a partir da fórmula  $55 \times [\text{peso corporal inicial (kg)}^{0,75}]$ , e para gatos a partir da fórmula  $30 \times [\text{peso corporal inicial (kg)}]$ .

Com esse fornecimento, os cães devem atingir a redução de peso em 6 semanas, e os gatos, em 18 semanas. Todavia, a restrição calórica só deve acontecer em animais acima do peso. Animais abaixo do peso devem ser alimentados com dietas inicialmente energéticas e, à medida que ganharem peso, oferece-se um alimento com restrição de energia. Os animais devem ser reavaliados a cada duas semanas, verificando-se se o objetivo de perda de peso está sendo alcançado. A perda de peso semanal deve estar em torno de 1-2 %. Caso essa perda seja maior, o aporte calórico deve aumentar em 10-15 %, e se não houve perda, devem-se reduzir adicionais 10-15 % no aporte calórico, além da quantidade já restringida.

Além da redução calórica, o manejo dietético inclui uma modificação na frequência de ingestão diária. Animais que são alimentados uma vez ao dia são mais predispostos à

obesidade do que aqueles alimentados várias vezes com pequenas quantidades. Isso ocorre porque o aumento na frequência alimentar leva à perda energética através da termogênese. Os objetivos principais da terapia dietética no manejo de animais diabéticos são minimizar o impacto da refeição na hiperglicemia pós-prandial, corrigir e/ou prevenir a obesidade.

Para cães diabéticos deve ser oferecida uma dieta rica em carboidratos complexos, como fibra alimentar e amido compondo 45-60 % da energia metabolizável. A fibra complexa apresenta uma digestão mais prolongada, permanecendo no trato gastrointestinal por mais tempo e diminuindo a oscilação na hiperglicemia pós-prandial, por retardar a absorção de outros nutrientes, além de apresentar um efeito sobre a liberação dos hormônios do TGI na circulação. Fibras altamente fermentáveis melhoram a homeostase da glicose em cães saudáveis, sendo preferível a sua inclusão a níveis altos de fibra não-fermentável, como a celulose.

#### Aporte proteico

Existem controvérsias em relação ao aporte proteico em dietas de humanos diabéticos. O consumo excessivo de proteínas, principalmente associado a altos níveis de sódio e potássio, pode contribuir para o desenvolvimento da nefropatia diabética, ao passo que o consumo de baixos níveis pode evitar essa complicação. Originalmente cães e gatos caçavam presas, cuja composição era em torno de 42 % de proteína e 55 % de gordura, ou seja, seu metabolismo está adequado a digerir dietas com essa composição. Vários estudos demonstram que, diferentemente do que ocorre com humanos, altas doses proteicas não são responsáveis pela origem e progressão de distúrbios renais em cães, ainda que já houvesse um grau de lesão nesse órgão. As proteínas são necessárias em todos os processos metabólicos e não devem estar ausentes, porém quantidades moderadas (14-30 %) são adequadas para o controle da obesidade.

## REFERÊNCIAS

- ACORDA, J. H.; YAMADA, H.; GHAMSARI, S. M. Comparative evaluation of fatty infiltration of the liver in dairy cattle by using blood and serum analysis, ultrasonography, and digital analysis. *Veterinary Quarterly*, v. 17, p. 12-14, 1995.
- BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. R. Effects of fat and methionine hydroxy analog on prevention or alleviation of fatty liver induced by feed restriction. *J. Dairy Sci.*, v. 82, p. 2731-2736, 1999.
- BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L.; HOW, L. D. L. Receptors influence cholesterol and atherosclerosis. *Sci. Am.*, v. 251, p. 58-66, 1984.
- BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostase. *Sci.*, v. 232, p. 34-47, 1986.
- CONTRERAS, P. A. Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños. *Archivos de Medicina Veterinaria*, v. 30, p. 1-13, 1998.
- DRACKLEY, J.K.; OVERTON, T.R.; DOUGLAS, G.N. Adaptations of glucose and long chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.*, v. 84 (Suppl. E), E100-E112, 2001.
- DUFFIELD, T. F. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v. 16, p. 231-253, 2000.
- DUFFIELD, T. F. et al. Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *Can. Vet. J.*, v. 38, p. 713-718, 1997.
- GEELLEN, M. J. et al. Short-term hormonal control of hepatic lipogenesis. *Diabetes*, v. 29, p. 1006, 1980.
- GEISHAUSER, T. et al. Evaluation of eight cow-side ketone tests in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 83, p. 296-299, 2000.
- GEISHAUSER, T. et al. Evaluation of five cow-side tests for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 81, p. 438-443, 1998.
- GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p. 1260-1268, 1997.
- GRIFFIN, B. Feline hepatic lipidosis: pathophysiology, clinical signs, and diagnosis. *The Compendium*, v. 22, p. 847-856, 2000.
- GRIFFIN, B. Feline hepatic lipidosis: treatment and recommendations. *The Compendium*, v. 22, p. 910-922, 2000.
- GRUM, D. E.; DRACKLEY, J. K.; YOUNKER, R. S. Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. *J Dairy Sci*, v. 79, p. 1850-1864, 1996.
- GURR, M. I.; HARWOOD, J. L. *Lipid biochemistry: an introduction*. 4<sup>th</sup> ed. London: Chapman & Hall, 1991.
- HOLTENIUS, P.; HOLTENIUS, K. New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: a review. *Journal Veterinary Medical Series A*, v. 43, p. 579-587, 1996.
- INGVARTSEN, K.L. Feeding- and management-related diseases in the transition cow. Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. *Animal Feed Science and Technology*, v. 126, p. 175-213, 2006.
- INGVARTSEN, K.L.; DEWHURST, R.J.; FRIGGENS, N.C. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livestock Production Science*, v. 83, p. 277-308, 2003.
- JORRITSMA, R. et al. Evaluation of a milk test for detection of subclinical ketosis. *Vet. Quart.*, v. 20, p. 108-110, 1998.
- KOSTNER, G. M. Apolipoproteins and lipoproteins of human plasma: Significance in health and in disease. *Adv. Lipid. Res*, 20, 1, 1983.

- MCCARTHY, A. D.; HARDY, D. G. Fatty acid synthase- an example of protein evolution by gene fusion. *Trends Biochem. Sci.*, v. 9, p. 60-63, 1984.
- MELENDEZ, P. et al. Incidence of subclinical ketosis in cows supplemented with a monensin controlled-release capsule in Holstein cattle, Florida, USA. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 73, p. 33-42, 2006.
- MOORE, D. A.; ISHLER, V. Managing dairy cows during the transition period: focus on ketosis. *Veterinary Medicine*, p. 1061-1072, dec. 1997.
- NIELSEN, N.I.; INGVARTSEN, K.L. Propylene glycol for dairy cows: A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Animal Feed Science and Technology*, v. 115, p. 191-213, 2004.
- NOSADINI, R. et al. Ketone body metabolism: a physiological and clinical overview. *Diabetes Metab. Rev.*, v. 5, p. 299, 1989.
- ØSTERGAARD, S.; GROHN, Y. T. Effects of diseases on test day milk yield and body weight of dairy cows from Danish research herds. *J Dairy Sci*, v. 82, p. 1188-1201, 1999.
- RAJALA-SCHULTZ, P. J.; GROHN, Y. T.; McCULLOCH, C. E. Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. *J Dairy Sci*, v. 82, p. 288-294, 1999.
- ROBINSON, A. M.; WILLIAMSON, D. H. Physiological roles of ketone bodies as substrates and signals in mammalian tissues. *Physiol. Rev.*, v. 60, p. 143-187, 1980.
- RUKKWAMSUK, T.; WENSING, T.; GEELLEN, M. J. Effect of fatty liver on hepatic gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci*, v. 82, p. 500-505, 1999.
- SAKAI, T. et al. Therapeutic Effects of simultaneous use of glucose and insulin in ketotic dairy cows. *J Dairy Sci*, v. 76, p. 109-114, 1993.
- SCHULZ, H.; KUNAV, W. H. Beta-oxidation of unsaturated fatty acids: a revised pathway. *Trends Biochem. Sci.*, v. 12, p. 403-406, 1987.
- SMITH, T. R. et al. Metabolic characteristics of induced ketosis in normal and obese dairy cows. *J Dairy Sci*, v. 80, p. 1569-1581, 1997.
- STUDER, V. A.; GRUMMER, R. R. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 76, p. 2931-2939, 2004.
- VEIGA, A. Obesidade e Diabetes Mellitus em pequenos animais. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; SANTOS, A. P. (Ed.). *Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. p. 82-91.
- WANG, C. S.; HARTSUCK, J.; MCCONATHY, W. J. Structure and functional properties of lipoprotein lipase. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1123, p. 1-17, 1992.
- YRJÖ, T. G. et al. Analysis of correlated continuous repeated observations: modelling the effect of ketosis on milk yield in dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 39, p. 137-153, 1999.
- ZERBÉ, C. A. Proceedings of ESFM symposium at BSAVA Congress, 2001: What is so special about feline diabetes mellitus? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 3, p. 99-103, 2001.



### INTRODUÇÃO

Os glicídeos ou carboidratos são as biomoléculas orgânicas mais abundantes na natureza, encontrados principalmente na forma de polissacarídeos, como o amido e a celulose nas plantas, e o glicogênio, nos animais. Os glicídeos constituem uma importante fonte energética para os animais, além de fazerem parte da estrutura da parede das células vegetais e bacterianas.

Estruturalmente os glicídeos são poli-hidroxi-aldeídos ou poli-hidroxi-cetonas, e o nome “carboidratos” provém do conceito originado de sua fórmula empírica,  $C_n(H_2O)_n$ , a partir da qual foram classificados inicialmente como hidratos de carbono, embora existam glicídeos que não obedecem a essa fórmula, assim como outros que contêm elementos diferentes de C, H e O, como, por exemplo, N, S e P.

Dependendo do número de subunidades contidas na sua estrutura, os glicídeos são classificados em:

(a) Monossacarídeos ou açúcares simples, como a glicose ou a fructose.

(b) Oligossacarídeos, que contêm umas poucas subunidades de monossacarídeos unidas entre si mediante ligações glicosídicas. Dentre os mais abundantes, estão os dissacarídeos, que contêm duas subunidades de monossacarídeos, como a sacarose e a lactose. Os oligossacarídeos com mais de três subunidades costumam estar associados a

outras biomoléculas, especialmente com lipídeos, formando glicolipídeos e com proteínas, formando glicoproteínas.

(c) Polissacarídeos, que contêm centenas de monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas, podendo ser lineares, como a celulose, ou ramificados, como o amido e o glicogênio.

### DIGESTÃO E ABSORÇÃO DOS GLICÍDEOS

#### **Animais monogástricos**

As principais fontes de glicídeos na dieta dos animais monogástricos são polissacarídeos, tais como amido, glicogênio e dextrinas, e alguns dissacarídeos, como sacarose, lactose e maltose.

Os polissacarídeos constituem os glicídeos mais abundantes na natureza e diferem entre si quanto ao tipo e número de monossacarídeos que os formam, quanto ao tipo de ligação entre suas subunidades e quanto ao grau de ramificação. Eles servem de reservas energéticas ou de elementos estruturais e estão formados por centenas a milhares de unidades de monossacarídeos, tendo pesos moleculares muito variados, mas sempre elevados.

Entre os polissacarídeos que constituem reservas energéticas estão o amido e o glicogênio, ambos constituídos por unidades de glicose. O amido é encontrado nos vegetais,

principalmente nas sementes e nas tuberosas, ao passo que o glicogênio é próprio dos animais. Ambos os polissacarídeos são armazenados em grânulos citoplasmáticos.

O amido está organizado na forma de dois polímeros: amilose e amilopectina. A amilose está composta por milhares de unidades de glicose unidas por ligações  $\alpha$ 1-4, sem ramificações, e tem peso molecular de 5 a 500 kDa. A amilopectina possui glicoses unidas linearmente por ligações  $\alpha$ 1-4 e também ramificações unidas mediante ligações  $\alpha$ 1-6 a cada 25 a 30 glicoses, tendo peso molecular maior do que 1.000 kDa. O glicogênio está organizado similarmente à amilopectina, mas suas ramificações são mais curtas e estão em maior número, a cada 8 a 10 unidades de glicose.

A digestão dos glicídeos é iniciada pela amilase salivar, enzima presente na saliva, que atua por pouco tempo, continuando no estômago, onde o suco gástrico causa hidrólise ácida dos polissacarídeos.

A digestão mais significativa ocorre no intestino delgado, onde os polissacarídeos são atacados pela  $\alpha$ -amilase, enzima proveniente do suco pancreático, que hidrolisa as ligações  $\alpha$ 1-4 da fração amilose do glicogênio ou do amido, produzindo maltose e maltotriose. A maltase, enzima secretada pelas células intestinais, hidrolisa as moléculas de maltose e de maltotriose para gerar glicose livre (Figura 1).

A fração amilopectina dos polissacarídeos, que forma frações ramificadas devido



**Figura 1** – Digestão de glicídeos em monogástricos.

a suas ligações  $\alpha$ 1-6 entre as unidades de glicose, gera uma maior proporção de dextrinas limite, que são compostos ramificados formados por até 8-10 moléculas de glicose. A enzima intestinal isomaltase ( $\alpha$ -dextrinase) hidrolisa a dextrina limite até glicose e maltose. As células intestinais também secretam lactase e sacarase, que hidrolisam lactose e sacarose, respectivamente, para produzir glicose, galactose e fructose.

Dessa forma, os produtos finais da digestão dos glicídeos nos monogástricos são os monossacarídeos simples, que podem ser absorvidos pelas vilosidades intestinais mediante processos nos quais participam transportadores específicos. A absorção pode ocorrer de duas formas: por difusão facilitada e por transporte ativo dependente de  $\text{Na}^+$  (sistema symport). A glicose e a galactose são absorvidas rapidamente, ao passo que a fructose é absorvida mais lentamente. Na circulação êntero-hepática, os monossacarídeos aparecem em forma livre e ingressam no fígado mediante transporte passivo facilitado (que utiliza transportador).

Em alguns grupos humanos, principalmente orientais, árabes e judeus, observa-se baixa produção de lactase em adultos, impossibilitando a hidrólise da lactose e impedindo sua absorção intestinal, o que causa sua fermentação no intestino, com produção de gases e diarreia. Esta doença, de causas genéticas, é conhecida como intolerância à lactose. A lactose não absorvida é utilizada pelas bactérias intestinais, as quais produzem substâncias tóxicas responsáveis pelos sinais clínicos.

## **Animais ruminantes**

As principais fontes de glicídeos nos ruminantes são celulose, hemicelulose e pectinas e, em menor proporção, amido e dissacarídeos. O amido é componente importante quando a dieta é à base de grãos (concentrados).

A celulose é o polissacarídeo estrutural mais abundante na natureza. Ela forma parte da parede celular dos vegetais. Está composta de unidades de glicose (10 a 15 kDa) unidas por ligações  $\beta$ 1-4 lineares e geometricamente estendidas, sofrendo agregações que configuram fibras muito resistentes devido às pontes de hidrogênio formadas entre uma cadeia e outra.

A celulose é insolúvel e somente pode ser hidrolisada por certos fungos e bactérias que possuem a enzima celulase, entre os quais estão alguns microrganismos do rúmen dos animais poligástricos e do intestino grosso do cavalo e do coelho. A celulose geralmente está combinada com lignina, uma substância polimérica não-glicídica composta por derivados de fenilpropano. A lignina encontra-se em maior proporção nas porções lenhosas das plantas ou nas forragens mais maduras. Devido às ligações da lignina com a celulose, a digestibilidade das pastagens é reduzida quando existe maior proporção de lignina em pastagens de maior idade, pois este composto não pode ser hidrolisado por nenhuma enzima.

Outros polissacarídeos associados com a parede celular vegetal são a hemicelulose e a pectina, ambos heteropolissacarídeos. A hemicelulose está composta por unidades de glicose, xilose, manose, arabinose e galactose, encontrando-se também associada com a lignina. A pectina é um polímero que contém duas subunidades que se repetem sequencialmente: ácidos galacturônicos unidos por ligação  $\beta$ -4, intercalados com ramnoses em uniões  $\beta$ 1-2. Devido a sua capacidade para reter água, a pectina é usada como matéria-prima no ingrediente de compostos farmacêuticos indicados para reduzir os sintomas da diarreia.

Todos os polissacarídeos que formam parte da parede da célula vegetal têm valor nutritivo para os animais herbívoros, pois estas biomoléculas podem ser degradadas a

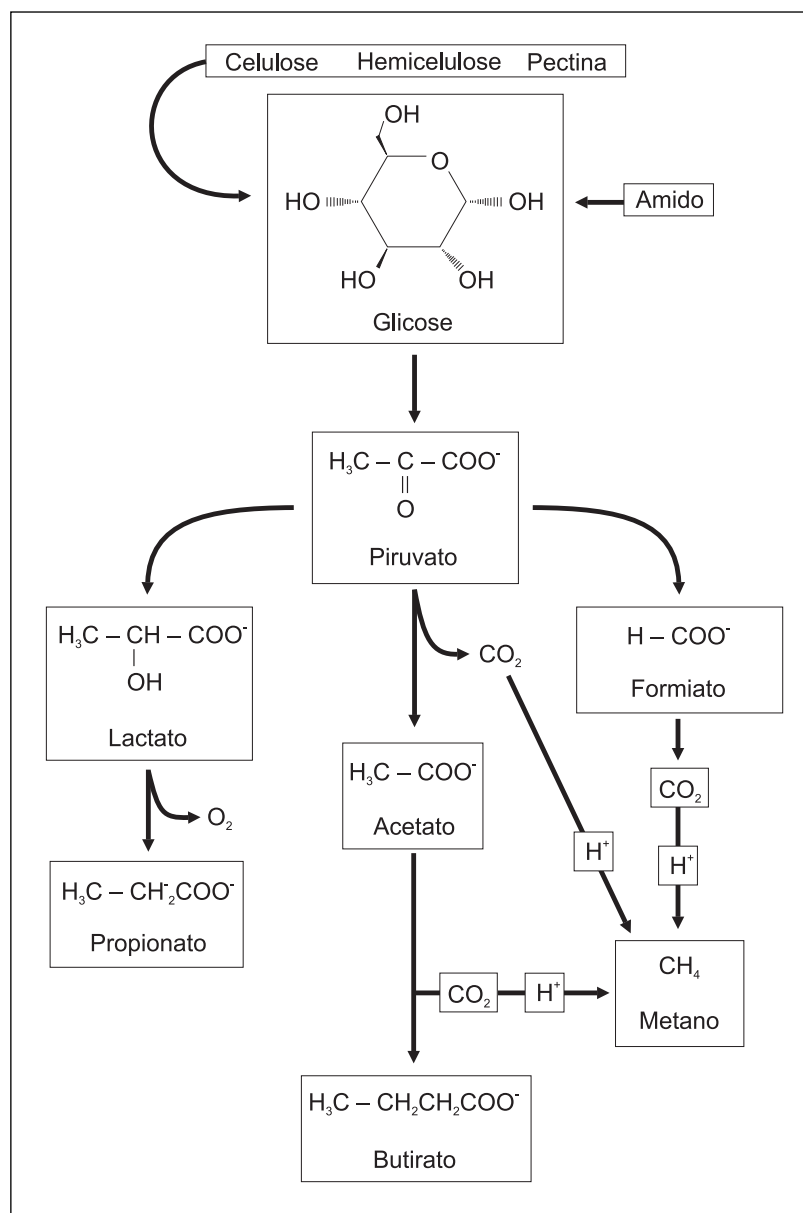


suas unidades básicas pelas bactérias ruminais. A lignina não possui conteúdo nutritivo e, quando está em maior proporção, entrelaça polissacarídeos, dificultando sua digestão. No entanto, uma pouca proporção de lignina é considerada benéfica por estimular os movimentos peristálticos do intestino.

A parede celular vegetal está composta por celulose em 20 % a 40 %, hemicelulo-

se em 10 % a 40 %, pectina em 1 % a 10 % e lignina entre 5 % a 10 %, contendo também uma porção de proteína.

Diferentemente dos monogástricos, os substratos alimentícios nos ruminantes são submetidos à fermentação microbiana no retículo-rúmen (Figura 2). Os polissacarídeos são hidrolisados no rúmen até suas unidades básicas (monossacarídeos), já



**Figura 2** – Fermentação de glicídeos no rúmen.

que os microrganismos ruminais possuem todas as enzimas para romper as ligações glicosídicas, tanto  $\beta$  quanto  $\alpha$ . Na primeira etapa, todos os glicídeos são convertidos a monossacarídeos, principalmente glicose e, posteriormente, a glicose é convertida, via glicólise, em ácidos graxos voláteis (ácidos graxos com menos de 5 carbonos).

A proporção dos diferentes ácidos graxos voláteis produzidos varia em função da dieta. Numa alimentação à base de pastagens, a proporção aproximada é de 65 % de ácido acético, 20 % de ácido propiônico, 12 % de ácido butírico e 3 % de outros ácidos, entre eles o valérico, o isovalérico e o isobutírico. Numa alimentação à base de concentrados, a proporção de propionato produzido é aumentada significativamente às expensas do acetato, ficando a proporção em 40 % de propionato e 37 % de acetato.

Outros produtos finais da fermentação ruminal, como formiato,  $\text{CO}_2$  e hidrogênio, são convertidos pelas bactérias metanogênicas em metano ( $\text{CH}_4$ ), gás que não é aproveitado e que deve ser expulso para fora do rúmen, seja pelo reflexo da eructação, seja via trato gastrointestinal posterior.

O tipo de microrganismo predominante no rúmen depende dos substratos alimentícios, fato que por sua vez vai influir nos produtos finais da fermentação. Assim, com alimentação à base de pastagens, proliferam as bactérias celulolíticas, que degradam celulose e têm como principais produtos finais da fermentação acetato, butirato e  $\text{CO}_2$ , enquanto na alimentação à base de grãos proliferam as bactérias amilolíticas, que degradam amido e produzem mais propionato e menos  $\text{CO}_2$ . Este gás é depois convertido em metano ( $\text{CH}_4$ ) e constitui perda de energia, de forma que as dietas à base de amido são mais eficientes no aproveitamento da energia dos alimentos. A manipulação da flora mi-

crobiana ruminal mediante o uso de agentes ionóforos, como a monensina, tem sido usada para reduzir a população de bactérias que produzem mais acetato e butirato e estimular as que produzem mais propionato.

Existe uma complexa e delicada interação na população microbiana do rúmen, de forma que, quando a dieta é mudada, causando, portanto, mudança dos substratos utilizados pelos microrganismos, é necessário um processo de adaptação não inferior a 15 dias para estabilizar a flora microbiana, sob risco de acontecerem sérios transtornos digestivo-metabólicos, como a acidose láctica ruminal.

O rúmen é um meio altamente redutor pela quantidade de hidrogênio produzido no processo fermentativo. Parte desse H sai com o gás metano. Os ácidos graxos voláteis são absorvidos diretamente no rúmen e, em menor proporção, no retículo, omaso e intestino grosso, mediante um processo de difusão passiva, no qual o ácido deve estar em seu estado não-dissociado, sem carga elétrica ( $\text{R-COOH}$ ). Sendo o pK desses ácidos entre 4 a 5, a maioria deles encontra-se na forma dissociada no pH ruminal, que está por volta de 6,7. Entretanto, como a forma  $\text{R-COOH}$  é absorvida rapidamente, desaparecendo do rúmen, a direção da reação é favorecida no sentido dissociado  $\rightarrow$  não-dissociado:  $\text{R-COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{R-COOH}$ .

Os ácidos graxos voláteis absorvidos sofrem metabolização no epitélio ruminal. Cerca de 80 % do butirato é convertido em acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato (corpos cetônicos) de forma que os níveis de butirato no sangue portal e sistêmico são baixos. A concentração dos corpos cetônicos no plasma é um parâmetro de importância nos estudos metabólico-nutricionais dos ruminantes. No epitélio ruminal, aproximadamente 50 % do propionato pode ser metabolizado em lactato ou piruvato.

Os ruminantes praticamente não absorvem glicose no trato gastrointestinal, pois ela

é completamente fermentada em ácidos graxos voláteis no rúmen, a menos que a dieta seja particularmente rica em sacarose. A manutenção dos níveis de glicose sanguínea nos ruminantes depende em sua maior parte da síntese de glicose nova, a partir do propionato e outros precursores. O trato gastrointestinal dos ruminantes lactentes é equivalente ao dos monogástricos, até que o rúmen se desenvolva anatômica e bioquimicamente, fato que depende da ingestão de forragens.

## METABOLISMO DOS GLICÍDEOS

Os glicídeos, especialmente a glicose, são os principais combustíveis utilizados pelo organismo para realizar os diferentes trabalhos biológicos. A forma de extrair energia da glicose é através de sua oxidação em várias etapas.

A energia livre que 1 mol de glicose gera a partir de sua completa oxidação até  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  é de 2.840 kJ. A glicose deve estar sempre disponível para todas as células e, por isso, se encontra solúvel no sangue mantendo níveis dentro de intervalos sempre estáveis, que variam conforme a espécie (Tabela 1). Dentro de cada espécie, ocorrem variações da glicemia principalmente em função da dieta, da idade e das condições fisiológicas.

Os glicídeos não somente servem como fonte de energia para a célula, mas também funcionam como precursores de metabólitos intermediários essenciais, tais como aminoácidos, nucleotídeos e coenzimas. Alguns compostos derivados dos monossacarídeos que têm importância metabólica são os seguintes:

(a) Derivados aminoglicosídicos, que fazem parte de oligossacarídeos de membranas.

(b) Derivados ácidos no C1 (ácidos aldônicos) ou no C6 (ácidos urônicos), úteis na detoxificação de compostos exógenos e na

metabolização de substâncias endógenas, graças a sua propriedade de solubilização no sangue, o que facilita a excreção renal.

(c) Derivados fosfatados, os quais apresentam seu grupo fosfato dissociado e, portanto, com carga negativa, impedindo a passagem da molécula através das membranas plasmáticas.

(d) Ácido siálico, derivado ácido da N-acetilmanosamina, importante monossacarídeo de 9 carbonos que faz parte de glicoproteínas e de glicolipídeos.

## Armazenagem da glicose: o glicogênio

A glicose é armazenada na forma de glicogênio, principalmente no fígado e no músculo. Os animais monogástricos têm maiores quantidades de glicogênio hepático que os ruminantes. O glicogênio no cão pode corresponder a 6-8 % do peso do fígado, enquanto nos bovinos o valor é de 1-3 %. O fígado dos animais jovens contém mais glicogênio que o dos adultos. Assim, o leitão recém-nascido tem 14,8 %, ao passo que o porco adulto tem apenas 4 %.

O glicogênio é mais abundante no fígado, onde pode ser armazenado em animais adultos em até 8 % do peso do órgão e no músculo esquelético, onde chega a 1 % do peso da massa muscular. Devido a sua estrutura, o glicogênio está organizado em forma helicoidal. Esta forma de armazenagem da glicose nas células evita grandes mudanças na osmolaridade intracelular, que aconteceriam caso a glicose estivesse livre, e não com o glicogênio dentro de grânulos citoplasmáticos.

Glicogenólise:  
o glicogênio como fonte de glicose

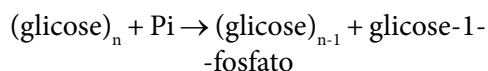
O glicogênio pode ser degradado enzimaticamente para a obtenção de glicose, para que esta possa entrar nas rotas oxidativas visando

TABELA 1 – NÍVEIS DE GLICOSE SANGUÍNEA EM VÁRIAS ESPÉCIES

Espécie	Concentração	
	mg/dL	mmol/L
Bovinos	45-75	2,5-4,1
Equinos	75-115	4,1-6,4
Ovinos	50-80	2,8-4,4
Caprinos	50-75	2,8-4,2
Suínos	85-150	4,7-8,3
Caninos	65-118	3,6-6,5
Felinos	70-110	3,9-6,1
Humanos	70-110	3,9-6,1

Fonte: Kaneko, Harvey e Bruss (1997).

a obtenção direta de energia. A produção de glicose a partir do glicogênio é chamada de glicogenólise, mecanismo que possui controle endócrino, no qual intervêm as enzimas glicogênio-fosforilase,  $\alpha$ 1,6 glicosidase e fosfoglicomutase. A glicogênio-fosforilase catalisa a seguinte reação:



Nessa reação, ocorre quebra da união glicosídica com introdução de uma molécula de fosfato sem intervenção de ATP (fosforólise). A fosforilase atua no glicogênio sobre os extremos não redutores das unidades de glicose, rompendo as ligações  $\alpha$ 1-4 até encontrar pontos de ramificação com ligações  $\alpha$ 1-6, nas quais a enzima não pode atuar.

Dessa forma, os produtos finais da ação da fosforilase são unidades de glicose-1-fosfato e frações de dextrina limite. Sobre as frações de dextrina limite atua a enzima  $\alpha$ 1,6-glicosidase (enzima desramificante), a qual rompe as ligações glicosídicas  $\alpha$ 1-6. A glicose-1-fosfato liberada pela ação da fosforilase não pode entrar no metabolismo ainda, devendo antes ser transformada em

glicose-6-fosfato por ação da enzima fosfoglicomutase.

A fosforilase é uma enzima alostérica ou regulatória que aparece em duas formas: uma ativa chamada fosforilase a, que possui 4 subunidades idênticas unidas e fosforiladas em resíduos de serina, com peso molecular de 380 kDa; e outra inativa chamada fosforilase b, separada em 2 pares de subunidades defosforiladas.

A fosforilase como enzima alostérica tem metabólitos reguladores que a fosforilam (ativam) ou a defosforilam (inativam). Essas ações são realizadas por duas enzimas diferentes: a fosforilase-quinase (fosforila) e a fosforilase-fosfatase (defosforila). Por sua vez, a enzima ativadora fosforilase-quinase é regulada pela adrenalina, hormônio da medula adrenal e pelo glucagon, hormônio do pâncreas. Esses hormônios atuam sobre o fígado e o músculo, órgãos onde o glicogênio encontra-se armazenado.

Por outro lado, a insulina estimula a ação da enzima inativadora, a fosforilase-fosfatase, ao mesmo tempo que inibe a enzima ativadora, a fosforilase-quinase. Portanto, a glicogenólise é estimulada pela adrenalina e o glucagon e é inibida pela insulina.

No fígado, o glicogênio constitui a única reserva para manter o nível de glicose sanguínea. No músculo, o glicogênio é usado como reserva energética exclusivamente para a contração muscular. O fígado é o único órgão que pode “exportar” glicose livre para o sangue, já que possui glicose-6-fosfatase, enzima que catalisa a reação:



Glicogênese: a síntese de glicogênio

A glicogênese é o processo metabólico que leva à formação de glicogênio a partir da glicose excedente. Este processo é realizado no citosol das células de todos os tecidos, embora tenha maior importância nas células do fígado, do tecido muscular esquelético e na glândula mamária durante a lactação.

A glicose entra na formação de glicogênio como glicose-6-fosfato, devendo ser convertida em glicose-1-fosfato pela enzima fosfoglicomutase, para posteriormente produzir o composto ativo UDP-glicose, conforme as reações mostradas na Figura 3. A reação

é catalisada pela enzima UDP-glicose pirofosforilase e atua como ponto de controle da glicogênese. A rápida hidrólise que sofre o pirofosfato ( $\text{PPi} \rightarrow 2\text{Pi}$ ) permite o seu desaparecimento, favorecendo a reação no sentido da formação de UDP-glicose.

O substrato para a biossíntese de glicogênio é a UDP-glicose. Os monossacarídeos unidos a uridina-nucleotídeos estão “marcados” para participar em reações de síntese, e não de degradação. A UDP-glicose também é intermediária na síntese de galactose para a formação de lactose. A UDP-glicose se incorpora ao glicogênio em uma reação catalisada pela enzima glicogênio sintetase:



A glicogênio sintetase é uma enzima alostérica controlada endocrinamente sendo estimulada pela insulina e inibida pelo glucagon. Possui quatro subunidades e tem um peso molecular de 360 kDa. Ela não pode catalisar uniões entre C1 e C6 para obtenção das ramificações do glicogênio. Neste tipo de ligação participa a chamada enzima ramifi-

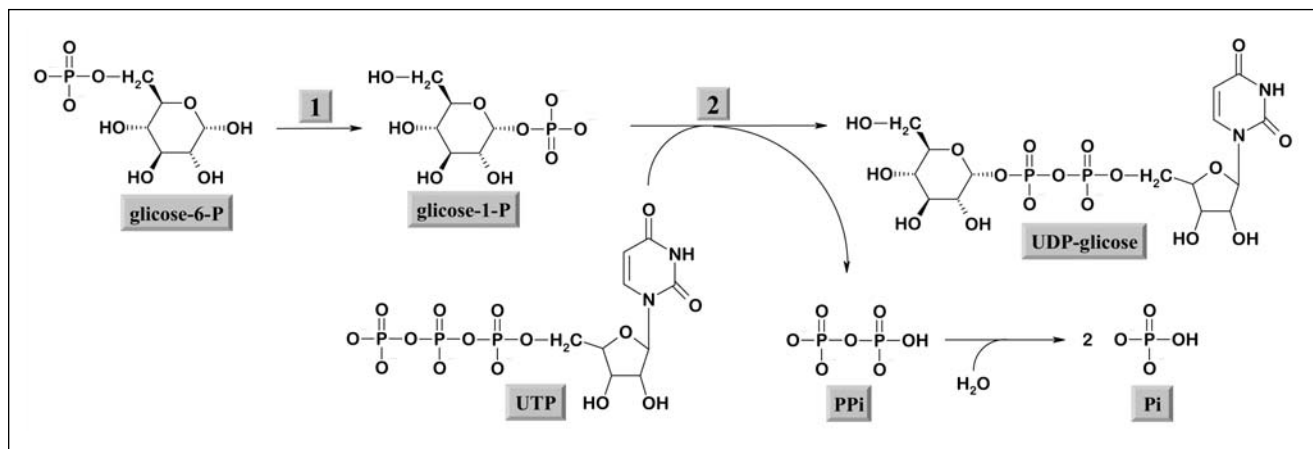


Figura 3 – Formação da UDP glicose. As enzimas envolvidas são: [1] fosfoglicomutase, [2] UDP glicose pirofosforilase.

cante. O efeito biológico das ramificações é tornar o glicogênio mais solúvel e aumentar o número de ligações não-redutoras, deixando-o mais reativo à ação das enzimas de degradação e de síntese.

Como a enzima glicogênio sintetase requer um “primer” de glicogênio para incorporar a UDP-glicose, cabe a pergunta: como é criada a primeira molécula de glicogênio? A produção desse “primer” é realizada por uma proteína chamada glicogenina, com peso molecular de 37 kDa, que atua ela própria como se fosse um “primer” ao qual se une a primeira glicose, atuando simultaneamente como enzima de sua própria reação, ou seja, é substrato e ao mesmo tempo enzima. Depois, a glicogênio sintetase se une à glicogenina para formar um complexo no qual se vão unindo outras glicoses sobre a primeira até ter um número suficiente (maior que 7), momento em que a glicogênio sintetase é liberada do complexo.

#### Regulação da glicogênese e da glicogenólise

A síntese e a degradação do glicogênio são processos que estão reciprocamente regulados pela ação hormonal: a insulina estimula a síntese, enquanto que a adrenalina e o glucagon estimulam a degradação. Os hormônios regulam a atividade das enzimas controladoras dos processos mediante modificações covalentes em pontos específicos das enzimas.

A enzima glicogênio sintetase existe em duas formas, dependendo de seu estado de fosforilação: a forma ativa defosforilada, chamada glicogênio sintetase a, e a forma inativa fosforilada, chamada glicogênio sintetase b. A fosforilação (inativação) da sintetase é realizada por uma proteína-quinase, e a defosforilação (ativação), por uma fosfoproteína-fosfatase. As ações da proteína-quinase e da fosfoproteína-fosfatase são reguladas pela

ação hormonal: a insulina atua estimulando a defosforilação da glicogênio sintetase, tornando-a ativa e favorecendo a síntese de glicogênio.

O receptor da insulina é uma proteína-quinase que se autofosforila e que contém duas cadeias  $\alpha$  idênticas, que ficam expostas no exterior da membrana plasmática, as quais são o sítio de união da insulina, e duas cadeias  $\beta$  do lado citosólico da membrana com capacidade fosforilante. A proteína-quinase autofosforilada pela ação da insulina fica ativada para fosforilar outras proteínas que vão causar os efeitos intracelulares da insulina, alterando a atividade de uma ou mais enzimas.

A degradação do glicogênio é regulada por uma enzima também sensível à ação hormonal, a glicogênio fosforilase, de forma inversa à regulação que ocorre na glicogênio sintetase. Assim, a fosforilase deve estar fosforilada para estar ativa, isto é, para catalisar a degradação do glicogênio. A fosforilação da fosforilase é realizada por uma proteína-quinase dependente de AMP cíclico (cAMP). O cAMP é produzido a partir de ATP por ação da enzima adenilciclase, presente na membrana plasmática. Esta enzima de membrana é ativada pela interação da adrenalina ou do glucagon com seu respectivo receptor na membrana. O cAMP ativa as proteínas-quinases para que estas fosforilem a fosforilase-quinase. Esta, por sua vez, fosforila a fosforilase, tornando-a ativa.

As condições reguladoras do metabolismo do glicogênio estão apresentadas no Quadro 1.

### Metabolismo da glicose

A importância da glicose no metabolismo está relacionada com as seguintes funções:

(a) Fonte de energia para todas as células, em especial para o tecido nervoso, os eritrócitos, a medula renal, os testículos e os tecidos embrionários.

QUADRO 1 – CONDIÇÕES METABÓLICAS E HORMONAIS NA SÍNTESE OU NA DEGRADAÇÃO DE GLICOGÊNIO

Evento	Síntese	Degradação
Estado muscular	repouso	contração
Estado hepático	glicogênese ↑ ATP	glicogenólise ↓ ATP
Condição metabólica	↑ glicose-6-fosfato	↓ glicose-6-fosfato
Hormônio atuante	insulina ↓ cAMP	glucagon ↑ cAMP
Efeito hormonal	↓ gliconeogênese	↑ gliconeogênese

(b) Fonte de glicerol para a biossíntese de triglicerídeos no tecido adiposo.

(c) Manutenção da adequada concentração dos intermediários do ciclo de Krebs.

(d) Fonte de energia para a contração do músculo esquelético em condições aeróbicas e anaeróbicas.

(e) Precursora da lactose na glândula mamária lactante.

(f) Única fonte de energia para o embrião e o feto durante a gestação.

(g) Fonte de ácido ascórbico na maioria dos mamíferos.

(h) Participante na metabolização dos produtos finais do metabolismo e dos tóxicos.

Para cumprir parte dessas funções, a glicose pode ser oxidada mediante várias vias possíveis. A rota mais comum é a oxidação via glicólise, para produzir piruvato sob condições aeróbicas ou lactato sob condições anaeróbicas. Também pode seguir uma oxidação alternativa via pentoses-fosfato ou via ácido ascórbico. Sob condições de balanço energético positivo, a glicose é armazenada em forma de glicogênio.

Rotas oxidativas da glicose: glicólise

A glicólise foi a primeira via metabólica a ser elucidada. Os trabalhos foram iniciados com Büchner, em 1897, com a descoberta da fermentação alcoólica da glicose pelas leveduras, e terminaram com a total elucidação da via por Lipmann e Kalckar, em 1941. Em alguns tecidos dos mamíferos, como os eritrócitos, o cérebro, a medula renal e os espermatozoides, a glicose é a única fonte de energia. Outros tecidos podem usar alternativamente outros combustíveis, tais como os corpos cetônicos ou os ácidos graxos. A glicose fornece energia às células através da rota oxidativa da glicólise, constituindo a mais importante via catabólica da glicose.

A glicólise pode ser aeróbica ou anaeróbica, dependendo da disponibilidade de oxigênio nas células. Nos animais superiores, ocorre geralmente glicólise aeróbica. Entretanto, existem algumas células nos animais com capacidade para realizar glicólise anaeróbica, como os eritrócitos, as células do músculo estriado, a retina e o cérebro. A glicólise é realizada no citosol, e seu produto final é o piruvato, sob condições aeróbicas, ou o lactato, sob condições anaeróbicas.

Até a formação do piruvato, a glicólise aeróbica consta de dez reações. Pode ser considerado que a via está composta por duas fases: (a) fase preparatória, na qual a glicose é fosforilada e convertida em seu isômero fructose, terminando com a quebra desta molécula para formar duas trioses-fosfato (Figura 4A); e (b) fase oxidativa, na qual é produzido ATP mediante o aproveitamento da energia de oxidação para fosforilar ADP (Figura 4B).

#### Fase preparatória da glicólise

Para ingressar em qualquer via metabólica, a glicose deve ser fosforilada no interior da célula. A reação é catalisada em todas as células pela enzima hexoquinase e constitui a primeira reação da via da glicólise.

O fígado, que recebe via portal a maioria dos substratos absorvidos no intestino, possui um mecanismo especial para poder absorver glicose em grandes quantidades durante o período pós-prandial, mediante a enzima glicoquinase. As enzimas hexoquinase e glicoquinase catalisam a mesma reação, de fosforilação da glicose (Figura 4A [1]). As duas enzimas requerem o cátion  $Mg^{2+}$  como cofator. A hexoquinase predomina em todas as células, exceto nos hepatócitos, e tem especificidade relativa, isto é, pode fosforilar qualquer hexose, ao passo que a glicoquinase é exclusiva do fígado e tem como único substrato a glicose (especificidade absoluta). Os ruminantes, que absorvem quantidades mínimas de glicose por via intestinal, não possuem a glicoquinase.

A diferença entre a hexoquinase e a glicoquinase está determinada por suas características cinéticas: (a) a constante de

Michaelis ( $K_M$ ) da hexoquinase é 100 vezes menor do que a  $K_M$  da glicoquinase (0,1 e 10 mM, respectivamente); (b) a hexoquinase é inibida pelo produto da reação (glicose-6-fosfato), enquanto a glicoquinase não sofre inibição pelo produto. Essas características fazem com que a hexoquinase não atue em concentrações de glicose superiores a 1 mM, enquanto que a glicoquinase somente é saturada com concentrações de glicose maiores de 12 mM. A concentração média de glicose, no sangue periférico, está entre 4 e 5 mM. A concentração de glicose no sangue portal em estado pós-prandial, pode ser até duas vezes maior.

A hexoquinase é uma das enzimas regulatórias da via glicolítica, sendo inibida por seu produto, a glicose-6-fosfato, que atua como modulador negativo.

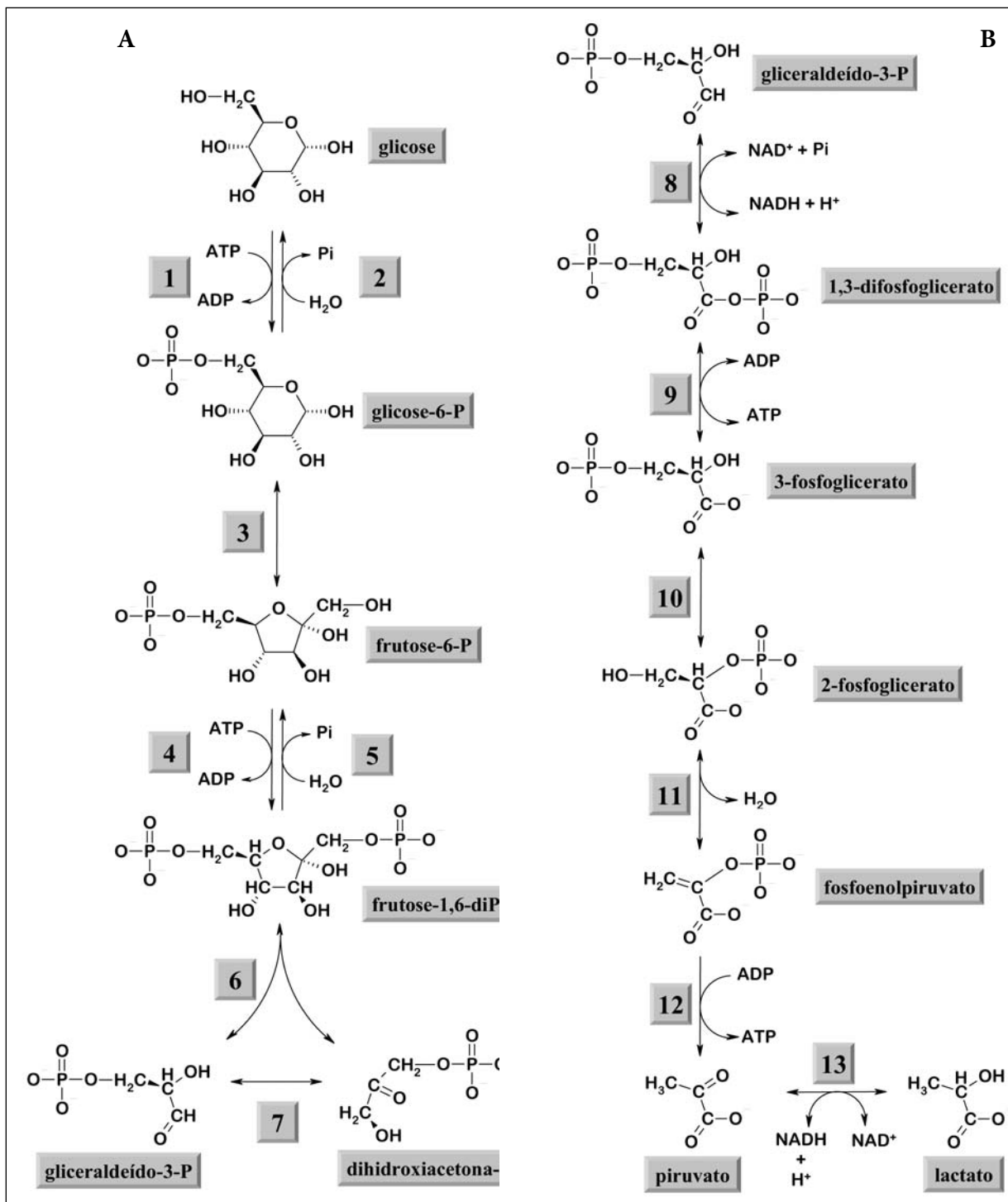
#### Fase oxidativa da glicólise

Na fase preparatória da glicólise, são formadas duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato por cada molécula de glicose, as quais entram na fase oxidativa ou fase produtora de energia da glicólise até piruvato (Figura 4B). Nesta fase, são produzidas uma molécula de NADH e duas de ATP por cada molécula de gliceraldeído-3-fosfato.

#### Glicólise anaeróbica

Em condições anaeróbicas ou em células sem mitocôndrias (eritrócitos), o piruvato é reduzido a lactato a fim de consumir o NADH produzido na fase oxidativa, para que a rota não se detenha por acúmulo desta coenzima reduzida, que não pode ser reoxidada sob condições anaeróbicas. A reação é mostrada na Figura 4B [13].





**Figura 4A** – Fase preparatória da glicólise. As enzimas envolvidas são [1] glicocinase (hexocinase), [2] glicose-6-fosfatase, [3] fosfoglicose isomerase, [4] fosfofrutoquinase, [5] difosfofrutose fosfatase, [6] aldolase e [7] triosefosfato isomerase.

**Figura 4B** – Fase oxidativa da glicólise. As enzimas envolvidas são [8] gliceraldeído 3 P desidrogenase, [9] fosfoglicerato quinase, [10] fosfoglicerato mutase, [11] enolase, [12] piruvato quinase, [13] lactato desidrogenase.

A enzima que catalisa esta reação, a lactato desidrogenase (LDH), existe em cinco formas isoenzimáticas que têm o mesmo peso molecular e estão formadas por quatro subunidades de 33,5 kDa cada uma. As subunidades têm duas formas possíveis: a forma H, predominante no músculo cardíaco, e a forma M, predominante no músculo esquelético. Assim, as cinco isoenzimas podem ser  $M_4$ ,  $M_3H$ ,  $M_2H_2$ ,  $MH_3$  ou  $H_4$ . Cada uma delas está diferenciada pela velocidade de reação e pela  $K_M$ . As isoenzimas com predominância da forma M têm menor valor de  $K_M$  e maior velocidade de reação, ao passo que as que têm predominância da forma H têm maior valor de  $K_M$  e menor velocidade de reação.

Os níveis sanguíneos de LDH podem estar aumentados anormalmente em casos de lesão hepática ou do músculo (esquelético ou cardíaco). Casos de lesões específicas podem ser identificados mediante a caracterização das formas isoenzimáticas da LDH por eletroforese.

O lactato não pode ser utilizado pelas células sob condições anaeróbicas e, portanto, deve ir por via sanguínea para o fígado, único órgão capaz de utilizá-lo, seja para oxidá-lo completamente até  $CO_2$  e  $H_2O$  para produção de energia, seja para utilizá-lo como precursor de glicose na rota da gliconeogênese. A glicose nova produzida no fígado pode retornar ao músculo para ser utilizada como combustível. Essa reciclagem do lactato é conhecida como o “ciclo de Cori”.

### Controle da glicólise

Quando ocorre glicólise anaeróbica, o gasto de glicose é muito maior que quando ocorre glicólise aeróbica, porque na primeira a produção de energia é muito menor (2 ATP) do que na segunda, considerando a oxidação total da glicose até  $CO_2$  e  $H_2O$  (38 ATP). O maior consumo de glicose na oxidação anaeróbica é conhecido como “efeito Pasteur” e ocorre porque o fluxo de glicose para a glicólise está regulado pelos níveis de ATP, que atuam como moduladores sobre a atividade de algumas enzimas alostéricas, especialmente a fosfofructoquinase-1 (PFK-1) e a piruvato quinase. Produzindo menos ATP, a glicólise anaeróbica “puxa” mais glicose para que ocorra glicólise.

eróbica é conhecido como “efeito Pasteur” e ocorre porque o fluxo de glicose para a glicólise está regulado pelos níveis de ATP, que atuam como moduladores sobre a atividade de algumas enzimas alostéricas, especialmente a fosfofructoquinase-1 (PFK-1) e a piruvato quinase. Produzindo menos ATP, a glicólise anaeróbica “puxa” mais glicose para que ocorra glicólise.

A glicose-6-fosfato pode ir para outras vias secundárias de oxidação, sendo a enzima PFK-1 que direciona a glicose para a rota glicolítica. A PFK-1 é uma enzima alostérica que é inibida pelo ATP, o qual se une ao sítio alostérico da enzima, diminuindo sua afinidade pela fructose-6-fosfato, seu substrato natural. O ADP e o AMP podem reverter a inibição causada pelo ATP, o que os torna moduladores estimulatórios da PFK-1. O citrato, primeiro metabólito intermediário do ciclo de Krebs, incrementa o efeito inibitório do ATP sobre a PFK-1, pois sua presença é indicativa de que as necessidades de energia da célula estão cobertas.

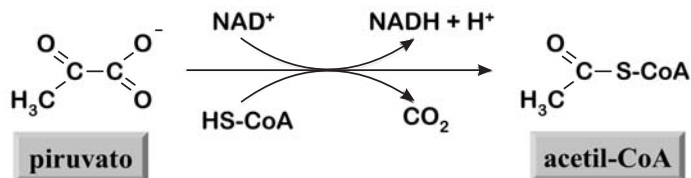
Contudo, o regulador alostérico mais significativo da PFK-1 é a fructose-2,6-difosfato, metabólito que ativa fortemente a enzima. Este metabólito é produzido pela enzima PFK-2 a partir de fructose-6-fosfato (mesmo substrato da PFK-1). Assim, quando os níveis de fructose-6-fosfato aumentam, a via glicolítica aumenta sua velocidade devido à ação da fructose-2,6-difosfato. Este metabólito também inibe a enzima fructose-1,6-difosfatase, que participa na gliconeogênese, inibindo este processo biossintético quando está ocorrendo a glicólise. A fructose-2,6-difosfato é desfosforilada pela enzima fructose-difosfatase-2 (FBP-2), que está regulada pelo hormônio glucagon, via cAMP. Este hormônio estimula a gliconeogênese. Portanto, quando diminui o nível de fructose-2,6-difosfato, é inibida a glicólise e estimulada a gliconeogênese.

A piruvato quinase, segunda enzima regulatória da glicólise, é inibida por altos níveis de ATP em forma alostérica, diminuindo a afinidade da enzima por seu substrato (PEP). Também é inibida por acetil-CoA e por ácidos graxos de cadeia longa, os quais também constituem combustíveis do ciclo de Krebs.

#### Destino do piruvato

O produto final da glicólise, o piruvato, pode seguir essencialmente três rotas:

(a) Sob condições aeróbicas, o piruvato é oxidado e descarboxilado na mitocôndria para gerar acetil-CoA, que pode ser oxidado completamente no ciclo de Krebs até  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , com produção de energia (ATP). A reação de descarboxilação/oxidação do piruvato é indispensável para que este ciclo ocorra. Esta reação é catalisada pela piruvato desidrogenase, um complexo com peso molecular total de 7.000 kDa, composto por três enzimas e cinco coenzimas. A reação ocorre em cinco etapas, mas globalmente pode-se escrever assim:



A piruvato desidrogenase é uma enzima alostérica e tem como moduladores positivos o ADP e o  $\text{Ca}^{2+}$ , e como modulador negativo, o ATP. As três enzimas do complexo são piruvato desidrogenase ( $E_1$ ), di-hidrolipoil-transacetilase ( $E_2$ ) e di-hidrolipoil-desidrogenase ( $E_3$ ), esta última uma flavoproteína. As cinco coenzimas são tiamina-pirofosfato (TPP), NAD, FAD, coenzima-A (CoA) e lipoil-lisina.

(b) Em células sob condições anaeróbicas ou em certas células do organismo, o piruvato sofre redução para produzir lactato, utilizando o NADH produzido na fase oxidativa. Esta reação ocorre obrigatoriamente nos eritrócitos, células que, embora tenham meio aeróbico, carecem de mitocôndrias. Também ocorre eventualmente no músculo esquelético durante o exercício prolongado e em outros tecidos, como a retina.

(c) Em determinadas condições metabólicas, o piruvato pode servir de precursor de outros compostos, como aminoácidos e glicose.

#### Rota alternativa de oxidação da glicose: via das pentoses-fosfato

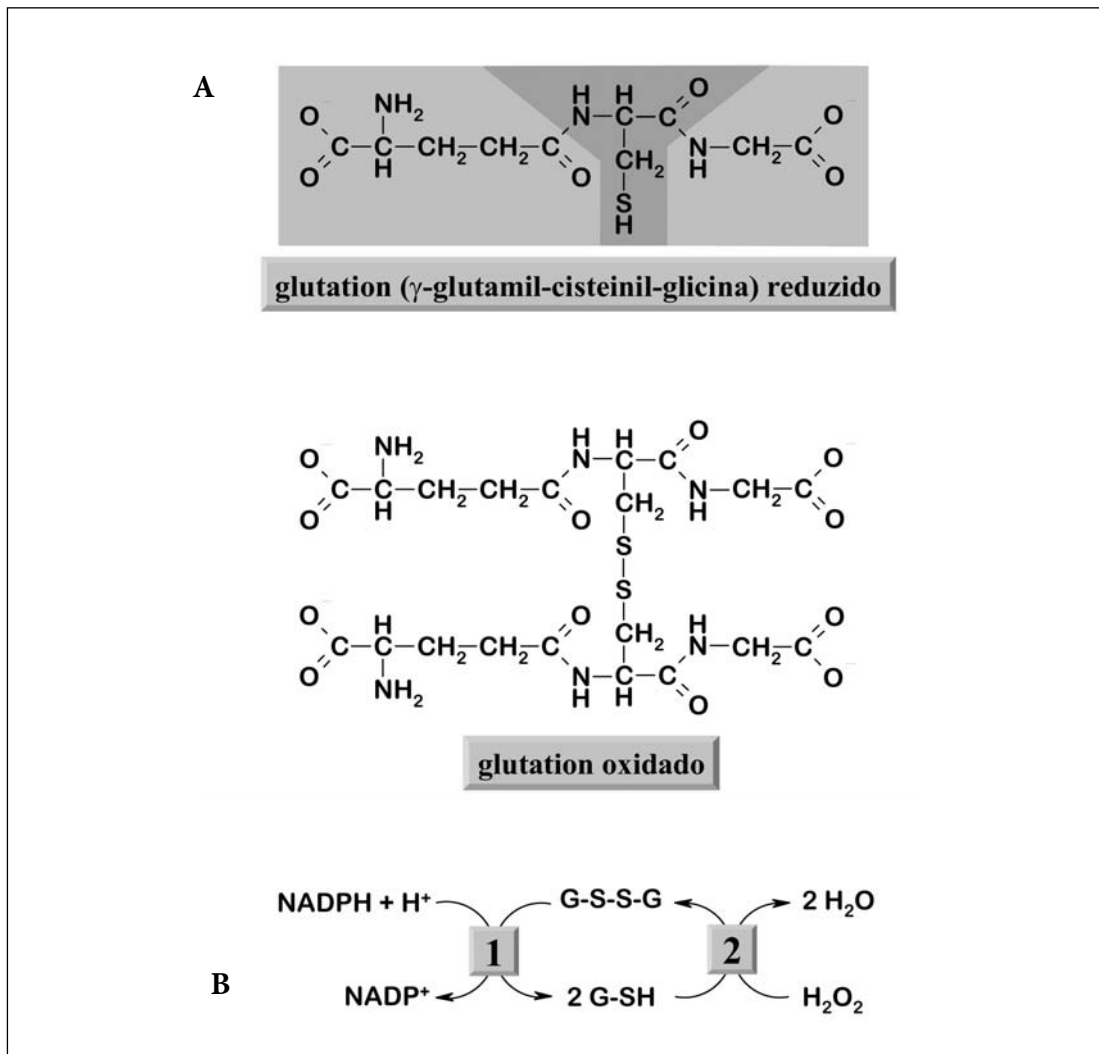
A principal rota de oxidação da glicose é a glicólise, mas existem rotas alternativas ou secundárias que produzem metabólitos intermediários necessários para a célula. A via das pentoses-fosfato, também conhecida como rota do fosfogliconato, é uma rota alternativa de oxidação da glicose. É realizada também no citosol e tem as seguintes finalidades metabólicas:

(a) Gerar potencial de redução extramitocôndrial na forma de NADPH, coenzima necessária para a biossíntese redutiva de várias biomoléculas, em especial ácidos graxos e esteroides, principalmente no fígado, glândula mamária e córtex adrenal. No eritrócito, o NADPH participa da redução do peróxido de hidrogênio que se forma devido à presença de oxigênio.

(b) Gerar ribose-5-fosfato, necessária para a biossíntese dos ácidos nucleicos.

(c) Degradar as pentoses que ingressam no metabolismo procedentes de substratos alimentícios, para que possam entrar na via glicolítica como hexoses.

A rota do fosfogliconato é bastante ativa no eritrócito, onde tem como objetivo



**Figura 5** – Estrutura do glutation.

As enzimas mostradas em B são: [1] glutation redutase e [2] glutation peroxidase.

prevenir a oxidação dos ácidos graxos insaturados da membrana plasmática, situação devida à intensa interação da membrana com moléculas de O<sub>2</sub>, e para manter o estado reduzido do átomo de ferro da hemoglobina (estado ferroso, Fe<sup>2+</sup>). Essas reduções estão garantidas pela produção de NADPH na via das pentoses-fosfato. A coenzima NADPH é necessária para a ação da enzima glutation-redutase, que reduz o glutation oxidado (G-

-S-S-G) (Figura 5B). O glutation é um tripeptídeo (γ Glu-Cys-Gly) (Figura 5A) que impede a oxidação dos ácidos graxos da membrana, causada pelo aumento nos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a expensas de sua própria oxidação. Esta oxidação do glutation é catalisada pela enzima glutation-peroxidase, tendo como cofator o selênio.

A via das pentoses-fosfato pode ser visualizada como a oxidação de três moléculas de glicose (3 x 6C = 18C) cujos produ-

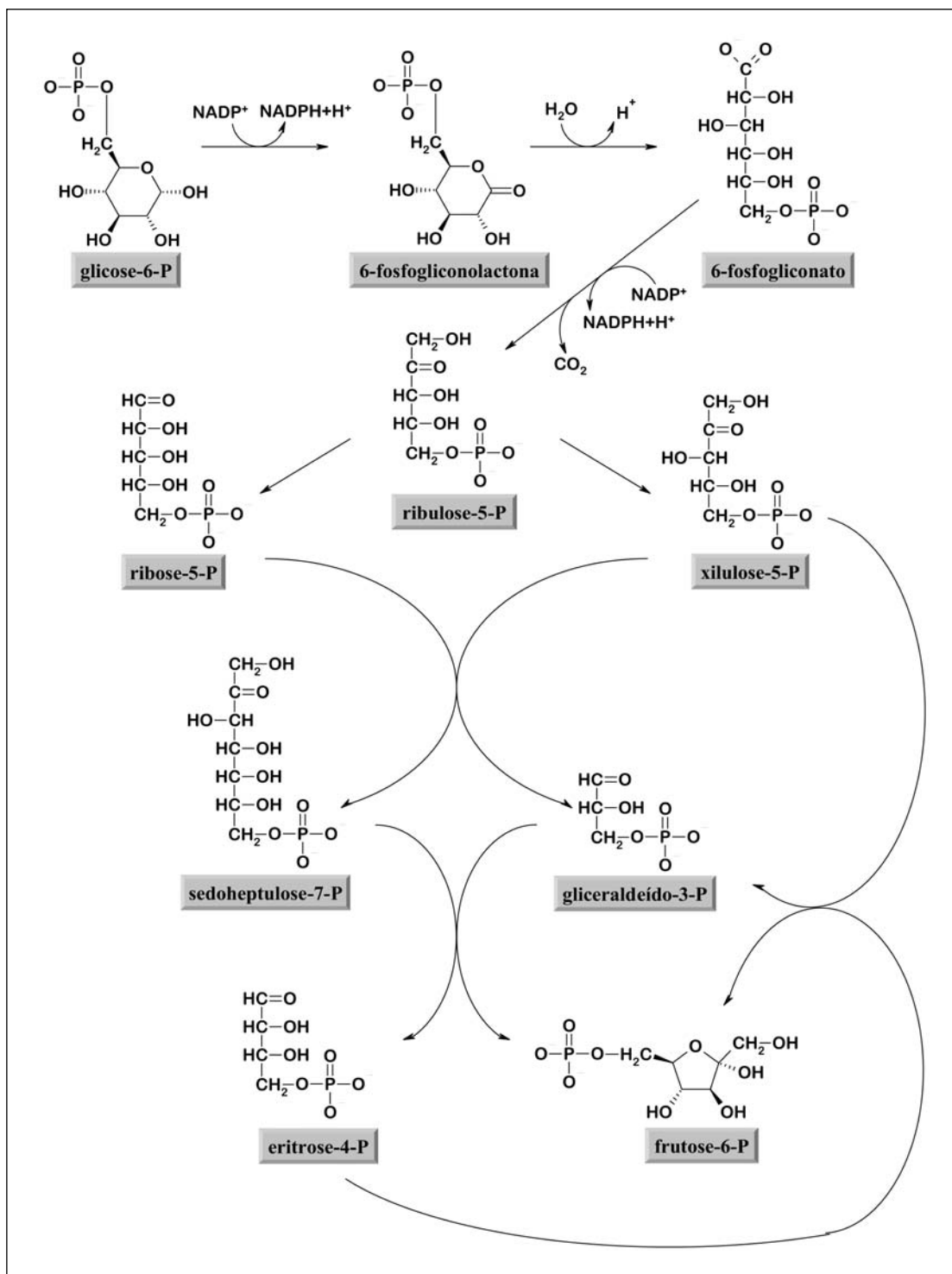


Figura 6 – Via das pentoses fosfato.

tos finais são três moléculas de  $\text{CO}_2$  ( $3 \times 1\text{C} = 3\text{C}$ ) e três moléculas de pentoses ( $3 \times 5\text{C} = 15\text{C}$ ) (Figura 6). Estas últimas podem se transformar para regenerar duas moléculas de glicose ( $2 \times 6\text{C} = 12\text{C}$ ) mais uma molécula de gliceraldeído ( $1 \times 3\text{C} = 3\text{C}$ ), que pode entrar na rota glicolítica.

Sob algumas condições metabólicas, a rota pode terminar aqui, pois estão preenchidos os objetivos metabólicos de produzir NADPH e ribose. Em outras circunstâncias metabólicas, quando são baixas as necessidades de ribose ou de NADPH, a rota pode prosseguir para uma segunda fase constituída por transformações reversíveis entre aldoses e cetoses.

Os produtos da última reação são metabólitos intermediários da rota da glicólise, onde podem entrar para serem metabolizados.

Rota alternativa de oxidação da glicose:  
rota do glicuronato

A glicose pode ser oxidada por outra via secundária que leva à formação de glicuronato e, eventualmente, a ácido L-ascórbico ou vitamina C. O glicuronato é um importante composto que participa na detoxificação e excreção de substâncias orgânicas. Esta via é iniciada com a formação de UDP-glicose (Figura 3) que posteriormente é convertida em glicuronato (Figura 7).

O glicuronato pode atuar como agente detoxificante no catabolismo, pois ele pode ser conjugado com diferentes metabólitos, a fim de facilitar a excreção da substância mediante o aumento de sua polaridade e, portanto, de sua solubilidade. Uma outra alternativa é atuar como molécula precursora do ácido L-ascórbico ou vitamina C. Os primatas, as cobaias e alguns peixes e aves carecem da gliconolactona oxidase, uma das enzimas da síntese do ácido L-ascórbico, e dependem da dieta para suprir suas necessidades de vitamina C.

### A oxidação total do acetil CoA é realizada no ciclo de Krebs

Entre os processos oxidativos das moléculas orgânicas destinados à obtenção de energia nas células, existem aqueles que correspondem à oxidação total, em que ocorre o consumo final do  $\text{O}_2$  no organismo. Tais processos são conhecidos como “respiração celular”. Nesses processos, o acetil-CoA proveniente da oxidação dos glicídeos, dos ácidos graxos e de alguns aminoácidos, entra no ciclo de Krebs para sua oxidação total até  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . Esta via metabólica, também conhecida como ciclo dos ácidos tricarbóxicos ou ciclo do ácido cítrico, foi proposta por Hans Krebs, em 1937.

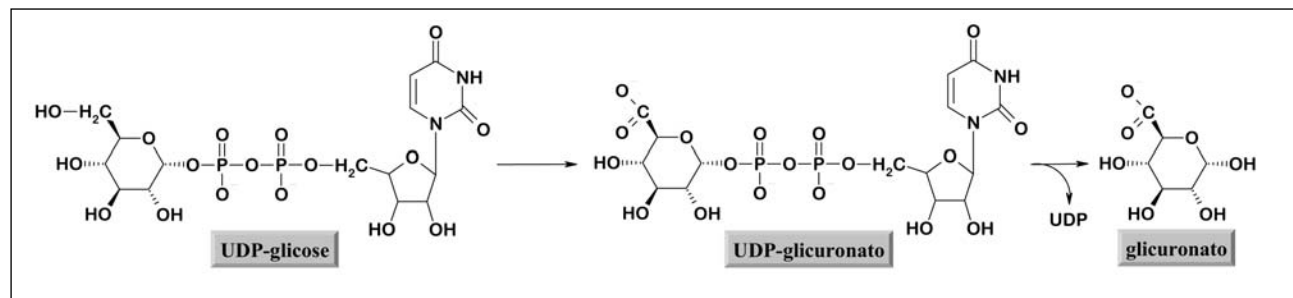


Figura 7 – Formação de glicuronato e do ácido ascórbico.

A energia obtida a partir da oxidação do acetil-CoA é conservada na forma de coenzimas reduzidas, NADH e FADH<sub>2</sub>, as quais, em processos sequenciais, cedem seus elétrons a várias moléculas receptoras na chamada cadeia respiratória, para reduzir o O<sub>2</sub> e produzir energia e H<sub>2</sub>O. Nos processos de oxidorreduções consecutivas realizadas na cadeia respiratória, é liberada energia, a qual é aproveitada em um processo acoplado chamado fosforilação oxidativa, com produção de ATP. Assim, o ciclo de Krebs, junto com a cadeia respiratória e a fosforilação oxidativa, forma parte da respiração celular, na qual é produzida a maior parte do ATP do organismo.

O ciclo de Krebs é realizado por um complexo multienzimático localizado na matriz mitocondrial e na membrana mitocondrial interna, onde ocorrem oito reações enzimáticas (Figura 8). Os compostos intermediários do ciclo devem estar em concentrações adequadas para que o ciclo possa ocorrer. Na primeira reação do ciclo, o oxalacetato (OAA) se

condensa com o acetil CoA para formar ácido cítrico. OAA constitui um dos principais compostos limitantes da velocidade com que o ciclo se realiza. Todos os compostos intermediários podem eventualmente sair do ciclo e servir como precursores de outras moléculas em determinadas condições metabólicas. Das oito reações do ciclo, quatro são oxidações que levam à formação de coenzimas reduzidas. Em cada volta do ciclo, pode ser considerado que, virtualmente, o acetil-CoA é oxidado até 2 CO<sub>2</sub> e 1 H<sub>2</sub>O, sendo produzido também 3 NADH + H<sup>+</sup> e 1 FADH<sub>2</sub>, além de 1 GTP (equivalente a 1 ATP).

### Regulação do ciclo de Krebs

A regulação do ciclo de Krebs é bastante complexa, tendo os seguintes pontos de controle:

(a) Complexo piruvato desidrogenase, cuja reação é responsável pela produção do acetil-CoA. Este complexo enzimático é regula-

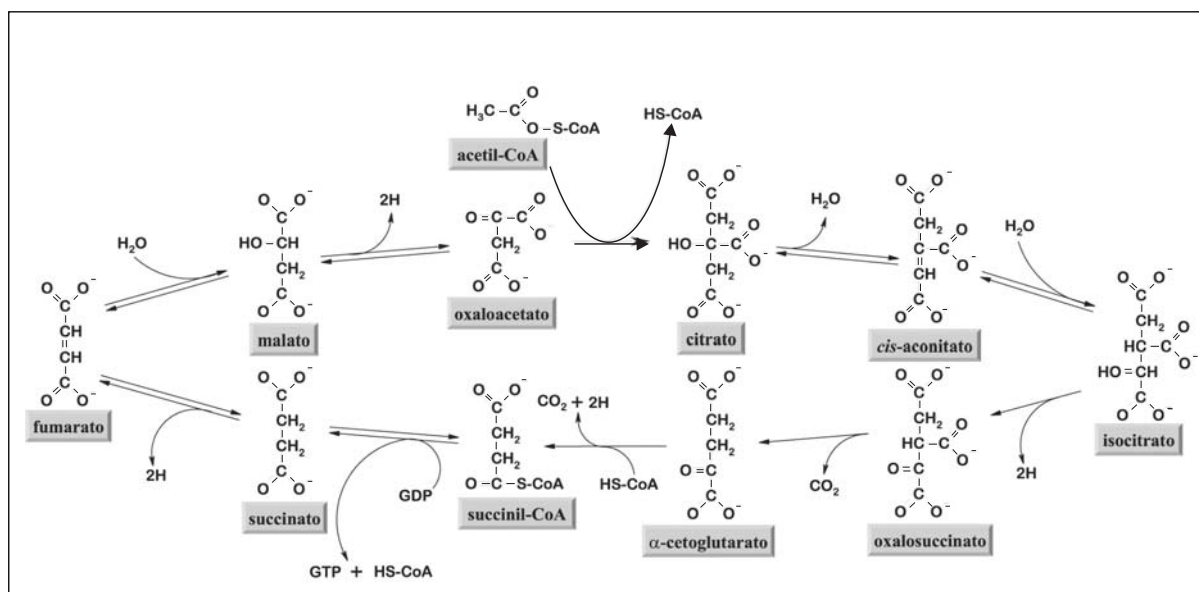


Figura 8 – Ciclo de Krebs.

do alostérica e covalentemente. O controle alostérico ocorre por inibição exercida pelo ATP, pelos produtos da reação (acetil-CoA e NADH) e pelos ácidos graxos de cadeia longa, bem como por estimulação exercida pelo AMP e pelo NAD<sup>+</sup>. Isso significa que o complexo é inibido quando há oferta de combustíveis na célula, e ativado quando da falta deles. O controle covalente, segundo nível de regulação do complexo, ocorre mediante fosforilação reversível da enzima E<sub>1</sub>, por uma proteína quinase específica que causa inativação do complexo enzimático. O complexo piruvato desidrogenase é ativado mediante desfosforilação por uma fosfoproteína fosfatase específica. A fosforilação (inibição) do complexo ocorre às expensas do ATP, fato que é coerente com a regulação alostérica, pois o ATP é modulador negativo do complexo.

(b) Enzima citrato sintetase e seus dois substratos, acetil-CoA e oxalacetato. O ATP inibe a enzima, e o ADP reverte a inibição. O citrato, produto da reação, é um metabólito que pode sair para o citosol e funcionar como modulador alostérico negativo da glicólise, afetando a atividade da enzima PFK-1.

(c) Enzimas isocitrato desidrogenase e α-cetoglutarato desidrogenase. Essas enzimas catalisam reações altamente exergônicas no ciclo de Krebs, estando comprometidas em reações de oxidorredução.

(d) Concentração dos metabólitos intermediários, a qual está em função das necessidades metabólicas do organismo e da disponibilidade de nutrientes.

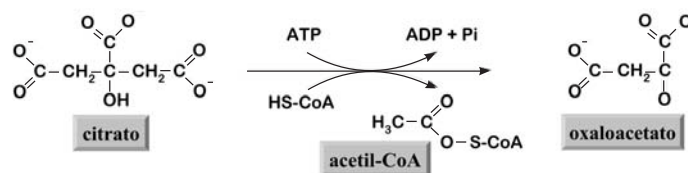
#### Caráter anfibólico do ciclo de Krebs

O ciclo de Krebs atua no catabolismo oxidando o acetil-CoA, intermediário comum na oxidação de glicídeos, aminoácidos e ácidos graxos, mas também pode atuar no fornecimento de precursores das vias anabólicas,

a partir de seus metabólitos intermediários. Por ter rotas anabólicas que geram compostos para processos de biossíntese e, ao mesmo tempo, servir de rota oxidativa, catabólica, o ciclo de Krebs é uma via anfibólica. Entre os metabólitos produzidos nas reações anabólicas do ciclo de Krebs, podem ser citados:

(a) precursores de aminoácidos, principalmente alanina e aspartato (Figura 9);

(b) precursores de acetil-CoA para a síntese de ácidos graxos, como a reação catalisada pela ATP-citrato liase:



(c) oxalacetato, como precursor de glicose, nas reações da via da gliconeogênese.

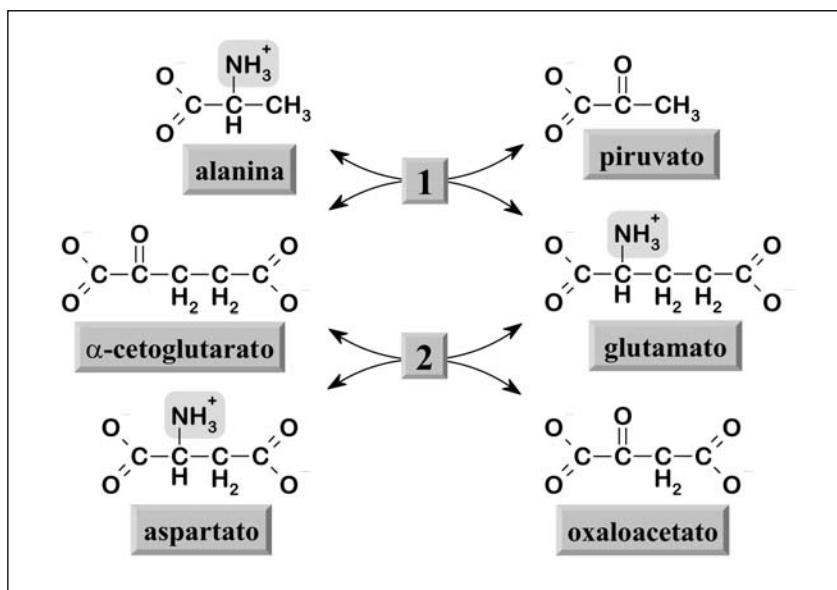
#### Reposição dos intermediários do ciclo de Krebs

Quando os intermediários do ciclo de Krebs estão em baixa concentração, eles podem ser repostos mediante reações anapleóticas ou de “recheio”. Assim, podem ser repostos o oxalacetato e o malato, intermediários cujas concentrações são limitantes para o funcionamento do ciclo (Figura 10).

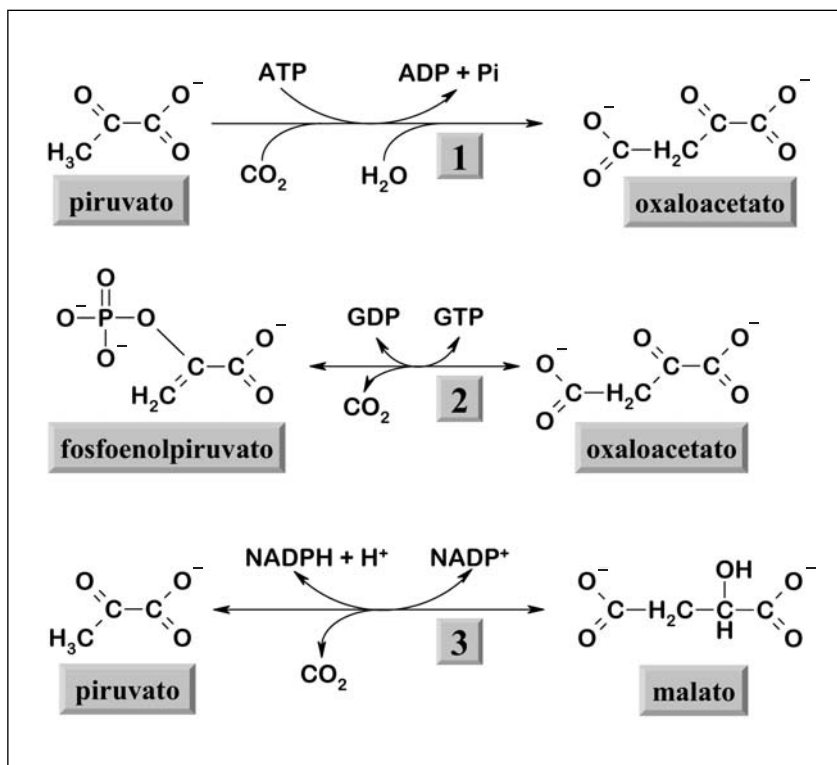
#### Balanco energético do ciclo de Krebs

Com relação à produção de energia no ciclo de Krebs, pode ser feito um balanço energético, considerando que, para cada molécula de acetil-CoA que entra, são obtidos como produtos finais 2 CO<sub>2</sub>, 3 NADH, 3 H<sup>+</sup>, 1 FADH<sub>2</sub> e 1 GTP. O CO<sub>2</sub> é eliminado na respiração e energeticamente não tem valor, embora tenha importância no equilíbrio acidobásico. As coenzimas reduzidas vão para





**Figura 9** – Conversão de intermediários do ciclo de Krebs em aminoácidos. As enzimas relacionadas são: [1] alanina aminotransferase (ALT) e [2] aspartato aminotransferase (AST).



**Figura 10** – Reposição dos intermediários do ciclo de Krebs. As enzimas relacionadas são: [1] piruvato carboxilase (usando Mn<sup>2+</sup> como co-fator e biotina como coenzima), [2] fosfoenolpiruvato (PEP) carboxiquinase e [3] enzima málica.

a cadeia de transporte de elétrons para produzir energia em uma série de transferências eletrônicas e render, finalmente, ATP nas reações acopladas da fosforilação oxidativa. Nesses processos, para cada NADH é possível obter 3 ATP, e para cada FADH<sub>2</sub> são obtidos 2 ATP. Assim, para cada molécula de acetil-CoA que é oxidada no ciclo de Krebs, são produzidos 12 ATP:

$$3 \text{ NADH} \times 3 \text{ ATP} = 9 \text{ ATP}$$

$$1 \text{ FADH}_2 \times 2 \text{ ATP} = 2 \text{ ATP}$$

$$1 \text{ GTP} = 1 \text{ ATP}$$

$$\text{Total} = 12 \text{ ATP}$$

Considerando a oxidação total de um mol de glicose, através da glicólise aeróbica, mais a oxidação do piruvato e a oxidação do acetil-CoA no ciclo de Krebs, a produção total de ATP que é obtida nos três processos é a seguinte:

Na glicólise aeróbica (1 glicose):

$$2 \text{ ATP} + 2 \text{ NADPH} (6 \text{ ATP}) = 8 \text{ ATP}$$

Na oxidação do piruvato (2 piruvatos):

$$2 \text{ NADH} = 6 \text{ ATP}$$

No ciclo de Krebs (2 acetil CoA):

$$24 \text{ ATP}$$

$$\text{Total} = 38 \text{ ATP}$$

Fazendo o balanço energético da oxidação total da glicose nas células, obtém-se que a geração de 38 ATPs consome:  $38 \times 30,5 \text{ kJ/mol} = 1.160 \text{ kJ/mol}$ . Considerando que a energia de combustão total da glicose liberada em um calorímetro é de  $2.840 \text{ kJ/mol}$ , significa que o processo de oxidação da glicose nas células representa uma eficiência de conservação da energia de 40 % ( $1.160/2.840$ ).

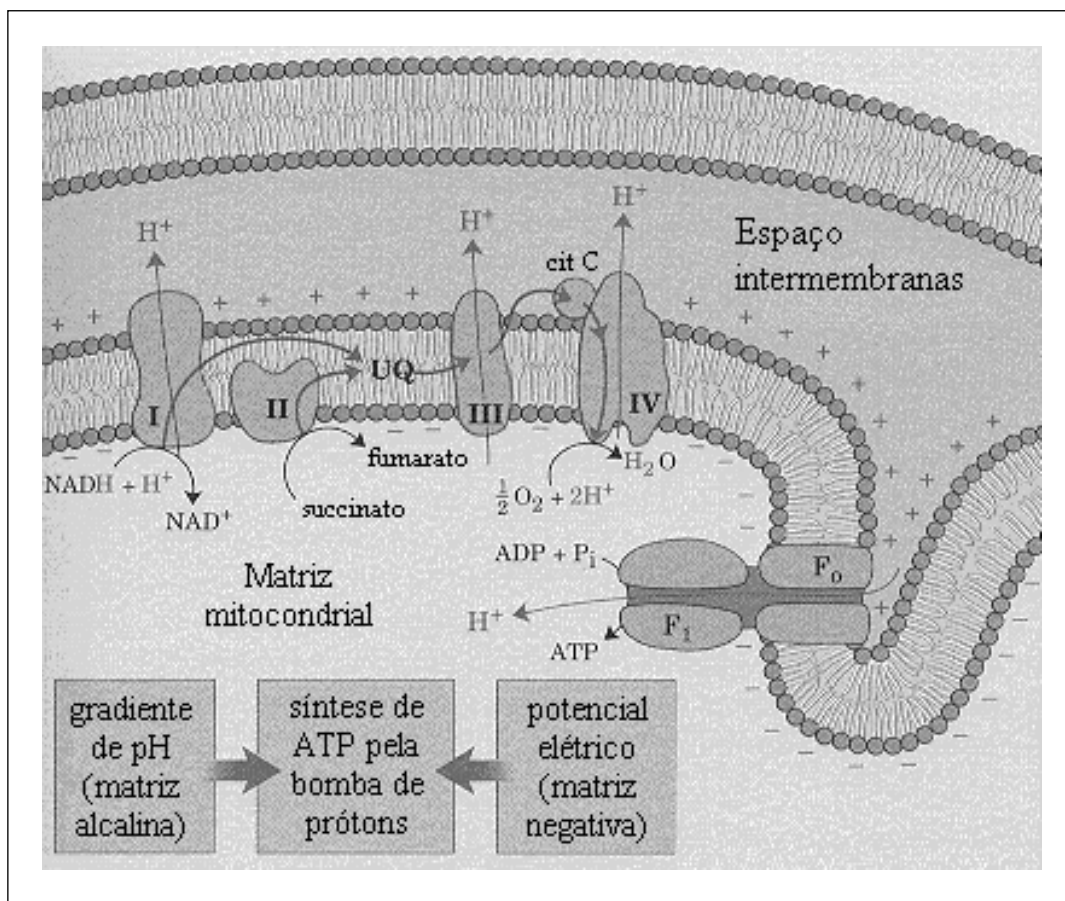
## Cadeia respiratória: a síntese de ATP

A fosforilação oxidativa é a síntese de ATP realizada na mitocôndria, graças à energia proveniente do transporte de elétrons entre moléculas receptoras e doadoras, em reações de oxidorredução. Tais elétrons, por sua vez, provêm dos processos oxidativos das vias catabólicas de glicídeos, ácidos graxos e aminoácidos. Os processos de fosforilação oxidativa e transporte de elétrons ocorrem simultaneamente e de forma acoplada, isto é, o fluxo de elétrons “força” que a fosforilação ocorra. Esta constitui a fonte de ATP mais importante no organismo animal (Figura 11).

Existe outra forma de produção do ATP que se realiza em outras vias no citosol ou na mitocôndria que, comparativamente com a cadeia respiratória, contribui com pouco ATP. Esta forma de fosforilação utiliza a energia de hidrólise dos compostos fosfatados ou sulfatados de alta energia, isto é, aqueles em que a energia de hidrólise dos grupos fosfato ou sulfato é maior do que a energia de hidrólise do ATP (maior que  $30 \text{ kJ/mol}$ ). Os principais compostos são o 1,3-difosfoglicrato, o fosfoenol-piruvato e o succinil-CoA.

A cadeia respiratória (cadeia de transporte de elétrons + fosforilação oxidativa) envolve a redução do O<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O, utilizando os elétrons doados por NADH e FADH<sub>2</sub>. É nesses processos que se realiza a recepção final do oxigênio ou respiração celular.

As enzimas da cadeia respiratória e da fosforilação oxidativa localizam-se na membrana interna da mitocôndria, a qual é impermeável a moléculas pequenas e à maioria dos íons, incluindo H<sup>+</sup>. As coenzimas reduzidas (NADH, NADPH, FMNH<sub>2</sub> e FADH<sub>2</sub>) produzidas nos processos oxi-



**Figura 11** – Teoria quimiosmótica da fosforilação oxidativa para a síntese de ATP (modificada de Lehninger et al., 1993).

dativos do citosol e da mitocôndria (glicólise, oxidação do piruvato, ciclo de Krebs, oxidação dos ácidos graxos e oxidação dos aminoácidos) cedem os elétrons a uma série de compostos transportadores que são reduzidos e oxidados de forma sequencial, até entregar os elétrons a seu receptor final, o oxigênio, para a produção de água.

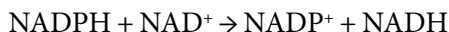
A maioria dos transportadores são proteínas integradas à membrana interna mitocondrial com grupos prostéticos capazes de receber e doar elétrons. Cada compo-

nente da cadeia recebe elétrons de um transportador precedente e os entrega ao transportador que lhe segue, numa série de reações com sequência específica (Figura 11).

Nos sistemas biológicos, existem quatro tipos de transferência de elétrons: (a) transferência direta de elétrons (exemplo, redução do  $\text{Fe}^{3+}$  em  $\text{Fe}^{2+}$ ); (b) transferência de um átomo de H ( $\text{H}^+ + e^-$ ); (c) transferência de um íon hidreto ( $\text{H}^-$ ) que contém  $\text{H}^+$  e  $2e^-$ ; e (d) combinação direta de um redutor orgânico com  $\text{O}_2$ . Desses tipos de transferência, os três primeiros ocorrem na cadeia respiratória.

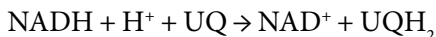
### • Sequência da cadeia respiratória

A coenzima reduzida NADH é o primeiro composto da cadeia, pois ela concentra os elétrons de muitos substratos nos processos oxidativos celulares. O NADPH, que é produzido em alguns processos, transfere os elétrons para o NAD<sup>+</sup>, formando NADH + H<sup>+</sup>, numa reação catalisada pela enzima piridina-nucleotídeo transidrogenase:



Os elétrons (transportados como H) do NADH são recebidos pela ubiquinona ou coenzima Q (UQ), uma benzoquinona lipossolúvel presente em todos os animais, cujo grupo quinona pode estar oxidado ou reduzido. Como a ubiquinona é uma molécula pequena que pode difundir-se facilmente através das membranas, é um eficiente transportador de elétrons. A ubiquinona oxidada pode aceitar um elétron e converter-se em uma semiquinona radical (UQH<sup>•</sup>) ou aceitar dois elétrons e formar a ubiquinona completamente reduzida ou ubiquinol (UQH<sub>2</sub>).

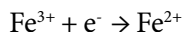
A transferência de elétrons do NADH para a ubiquinona requer a enzima NADH desidrogenase, uma flavoproteína ferrossulfurada que possui um grupo prostético de FMN (flavina-mononucleotídeo) (complexo I). O FMN recebe os elétrons do NADH e os transfere para os átomos de Fe-S, que os entregam finalmente à ubiquinona:



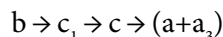
As coenzimas flavínicas reduzidas (FADH<sub>2</sub>, FMNH<sub>2</sub>) produzidas em alguns processos de oxidorredução, transferem seus elétrons diretamente à ubiquinona, que somente aceita elétrons de grupos flavínicos. A enzima que transfere os elétrons desses grupos flavínicos para a ubiquinona é a succinato desidrogenase (complexo II), única enzima do ciclo de Krebs que se encontra integrada

à membrana interna da mitocôndria. Esta enzima possui um grupo prostético FAD e quatro centros Fe-S.

Nas etapas seguintes da cadeia, a ubiquinona cede os elétrons a uma série de citocromos, proteínas integradas à membrana interna da mitocôndria, que transferem elétrons através dos seus grupos prostéticos de ferroprotoporfirina IX (grupo heme), que formam parte de suas estruturas, sendo similares aos núcleos prostéticos da hemoglobina. Existem três classes de citocromos (a, b, c), mas em todos eles o processo de oxidorredução se realiza por mudanças na valência do ferro do grupo heme:



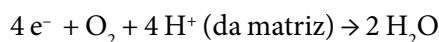
Os três tipos de citocromos são diferenciados por seus espectros de absorção de luz na forma reduzida (Fe<sup>2+</sup>). A absorção é maior a 600 nm nos citocromos *a*, a 560 nm nos citocromos *b* e a 550 nm nos citocromos *c*. A sequência de transferência dos elétrons nos citocromos na cadeia respiratória é a seguinte:



A passagem dos elétrons desde a ubiquinona até o citocromo *c* é conhecida como complexo citocromo *bc*, ou ubiquinona-citocromo *c* oxidoreductase (complexo III), contendo os citocromos b<sub>562</sub>, b<sub>566</sub>, c<sub>1</sub>, uma proteína ferrossulfurada, e pelo menos 6 subunidades de outra proteína. As proteínas estão assimetricamente instaladas na membrana mitocondrial interna.

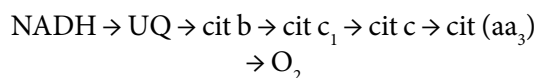
A transferência de elétrons da ubiquinona para os citocromos deixa de ser em pares de H, passando a ser em elétrons simples (e<sup>-</sup>). Os prótons (H<sup>+</sup>) restantes são bombeados para o espaço intermembranar utilizando a energia da reação de oxidorredução e produzindo um gradiente de prótons (potencial eletroquímico transmembranar) (Figura 11).

O núcleo de ferro dos citocromos não pode ligar o oxigênio, exceto o último citocromo da cadeia (citocromo a+a<sub>3</sub>), que constitui o receptor biológico do oxigênio no final da cadeia respiratória. Este citocromo recebe também o nome de citocromo oxidase (complexo IV) e consiste de uma proteína oligomérica de peso molecular de 200 kDa, cujo núcleo contém, além do grupo heme, dois átomos de Cu<sup>+</sup>, responsáveis pela transferência dos elétrons para o O<sub>2</sub>. O complexo citocromo oxidase pode transportar grupos de 4 elétrons que vão reduzir o O<sub>2</sub>. O fluxo desses elétrons causa um movimento de prótons da matriz para o espaço intermembranar, contribuindo para o potencial eletroquímico de prótons:



A passagem dos prótons da matriz mitocondrial para o espaço intermembranar força o fluxo de mais elétrons na cadeia e, portanto, o bombeio de mais prótons para o espaço intermembranar. O íon cianeto (CN<sup>-</sup>) inibe a reoxidação da citocromo oxidase, bloqueando a cadeia respiratória, causando anoxia tissular e morte rápida. O sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) exerce uma ação similar.

A sequência total da transferência eletrônica desde o NADH até o O<sub>2</sub> é a seguinte:



#### Fosforilação oxidativa

Existem três pontos da cadeia respiratória nos quais é gerada suficiente quantidade de energia livre para fosforilar um mol de ADP, ocorrendo também, nestes pontos, formação de gradiente de prótons: (a) entre o NADH e a ubiquinona (complexo I); (b) entre a ubiquinona e o citocromo c (complexo III); e (c) entre a citocromo oxidase e o oxigênio

(complexo IV). Os substratos nos quais participam flavoenzimas para sua oxidação (complexo II) entregam os elétrons diretamente à ubiquinona sem produzir fosforilação, gerando, no processo de transferência até o oxigênio, somente dois ATP.

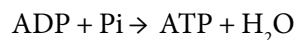
O complexo enzimático ATP sintetase está localizado na membrana interna da mitocôndria e consta de duas partes denominadas fatores F<sub>1</sub> e F<sub>0</sub> (Figura 11). O subscrito 1 refere-se ao fato de ter sido o primeiro fator descoberto (por Racker, na década de 1960), ao passo que o subscrito 0 está relacionado à inibição deste fator pela oligomicina. O fator F<sub>1</sub> consta de seis subunidades maiores e de três subunidades menores, localizadas na periferia da membrana interna, voltadas para a matriz mitocondrial. A fração F<sub>0</sub> está mais integrada à membrana do lado do espaço intermembranar. Esta fração é a encarregada de transportar os prótons envolvidos no gradiente eletroquímico do espaço intermembranar para o interior da matriz, transportador necessário, pois a membrana interna é impermeável aos prótons. A fração F<sub>0</sub> forma um canal através do qual fluem passivamente os prótons a favor do gradiente, o que gera uma força que garante a fosforilação do ADP na matriz da mitocôndria (Figura 11).

O modelo atualmente aceito para a fosforilação oxidativa é o do acoplamento quimiosmótico, introduzido por Mitchell em 1961 (Figura 11). Esta teoria assinala que o acoplamento seria realizado por um estado intermediário de aumento de energia, obtido por um gradiente eletroquímico (diferença elétrica devido ao aumento de H<sup>+</sup> e diferença química devido à diminuição do pH) que se produz pelo bombeio de íons de H<sup>+</sup> através da membrana interna da mitocôndria para o espaço intermembranar.

Os íons H<sup>+</sup> provêm da cadeia respiratória quando a ubiquinona entrega os elétrons

aos citocromos e deixa os  $H^+$  livres para serem bombeados. A energia para o bombeio provém das variações de energia livre nas etapas da cadeia respiratória. A matriz mitocondrial torna-se alcalina em relação ao espaço intermembranar.

O gradiente eletroquímico leva a um estado energizado que impulsiona a fosforilação do ADP com participação da enzima ATP sintetase  $F_1F_o$ , na membrana interna mitocondrial:



Desacopladores  
e inibidores da fosforilação oxidativa

Os agentes desacopladores da fosforilação oxidativa são substâncias tóxicas que, embora permitam o transporte de elétrons na cadeia respiratória, desacoplam a transmissão de energia da cadeia eletrônica para a fosforilação oxidativa, impedindo a formação de ATP. Os desacopladores estimulam a atividade da cadeia respiratória e, portanto, o consumo de oxigênio. Exemplos desses agentes são o 2,4-dinitrofenol, o dicumarol e o CCCP (carbonilcianeto-m-clorofenil-hidrazona). Em geral, são substâncias lipossolúveis, com grupos ácido e anel aromático, que podem entrar na matriz mitocondrial, e impedem, mediante a dissociação de  $H^+$ , a formação do gradiente eletroquímico.

Outro tipo de agentes desacopladores são as substâncias ionóforas, como a valinomicina, que causam a degradação do estado de alta energia gerado no gradiente eletroquímico, pois permitem a passagem de cátions monovalentes como  $K^+$  através da membrana interna mitocondrial. Assim, a energia gerada pela cadeia respiratória deve ser gasta em bombear tais cátions de volta para o interior da matriz mitocondrial, ao invés de facilitar a fosforilação. Esses agentes não detêm a cadeia respiratória e, portanto, não reduzem o consumo de oxigênio.

Os agentes inibidores da fosforilação oxidativa são tóxicos que não somente impedem a fosforilação, como também detêm a cadeia respiratória, mediante a alteração dos seus compostos intermediários. Dessa forma, não pode ser consumido o oxigênio, pois os elétrons não chegam a seu destinatário final e também não é produzido ATP. Exemplos de agentes inibidores são a oligomicina, a rotenona, a actinomicina A, o cianeto, o ácido sulfídrico e o monóxido de carbono.

Regulação da fosforilação oxidativa

A velocidade com que o  $O_2$  é consumido na respiração celular está em função da relação ATP/ADP. Quando o ATP é gasto nos processos biológicos que demandam energia, esta relação diminui porque aumenta a disponibilidade de ADP, fazendo com que seja promovida a síntese de ATP. Ou seja, há um aumento na respiração celular para manter estável a relação, impedindo que ocorram grandes flutuações, ainda que sob situações de extrema demanda energética.

Os níveis de ADP e ATP controlam não somente a velocidade da respiração celular, mas também as vias de produção de coenzimas reduzidas, como a glicólise, a oxidação do piruvato e o ciclo de Krebs, atuando como moduladores alostéricos de várias enzimas dessas vias metabólicas.

### **Gliconeogênese: biossíntese de glicose nova**

A gliconeogênese junto com a glicogenólise constituem as duas vias metabólicas mediante as quais o organismo pode manter os níveis sanguíneos de glicose. A gliconeogênese inclui todas as vias metabólicas destinadas a sintetizar glicose a partir de piruvato, lactato, propionato, glicerol ou aminoácidos. É um processo realizado principalmente no fígado e no rim. Nos ruminantes, a gliconeogê-

nese tem especial importância, uma vez que a fonte primária de glicose é o propionato, ácido graxo volátil, produto final da fermentação microbiana dos glicídeos no rúmen.

#### Gliconeogênese a partir de piruvato

A conversão do piruvato em glicose é a via central da gliconeogênese. Esta via compartilha, em sentido inverso, sete das dez reações da glicólise. As três reações restantes, não comuns à glicólise, são irreversíveis devido a sua alta variação de energia livre. São elas:

- (a) Conversão de fosfoenolpiruvato (PEP) em piruvato.
- (b) Conversão de fructose-6-fosfato em fructose-1,6-difosfato.
- (c) Conversão de glicose em glicose-6-fosfato.

Para que essas três reações ocorram em sentido inverso, ou seja, no sentido da gliconeogênese, devem ser catalisadas por enzimas diferentes daquelas que agem na glicólise ou mediante diferentes vias. Essas três reações fazem com que as vias da gliconeogênese e da glicólise sejam irreversíveis na célula, sendo reguladas independentemente por enzimas específicas próprias para cada rota. O sentido inverso das reações anteriores é conseguido nas células mediante os mecanismos descritos a seguir.

#### Conversão de piruvato a PEP

Ocorre mediante um *by-pass* (desvio) através da mitocôndria (Figura 12). O piruvato entra na mitocôndria, onde é convertido a oxalacetato (OAA), numa reação de carboxilação que consome ATP, catalisada pela enzima piruvato carboxilase, que requer  $Mn^{2+}$  como cofator. Esta enzima é alostérica e estimulada pelo acetil-CoA e pelos glicocorticoides.

O OAA deve ser convertido em malato para poder passar ao citosol. Essa reação interconversível é catalisada pela enzima malato desidrogenase, que usa  $NAD^+$  como coenzima e se encontra tanto na mitocôndria quanto no citosol. O malato no citosol sofre a reação inversa para regenerar OAA e NADH. Essa reação é necessária para extrair NADH da mitocôndria e levar para o citosol, onde esta coenzima reduzida é escassa, sendo necessária durante a gliconeogênese na etapa da redução de 1,3 difosfoglicerato a gliceraldeído-3-fosfato.

Finalmente, o OAA no citosol pode ser descarboxilado a PEP pela ação da enzima PEP carboxiquinase, com gasto de um GTP. Esta última enzima também é estimulada pelos glicocorticoides.

#### Conversão de fructose-1,6-difosfato em fructose-6-fosfato

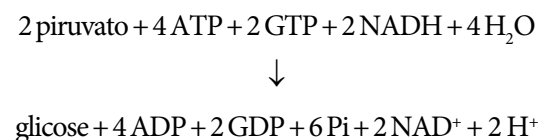
É realizada pela fructose-1,6-difosfatase, enzima alostérica que é modulada positivamente pelo 3-fosfoglicerato e o citrato e negativamente, pelo AMP (Figura 4A, enzima [5]).

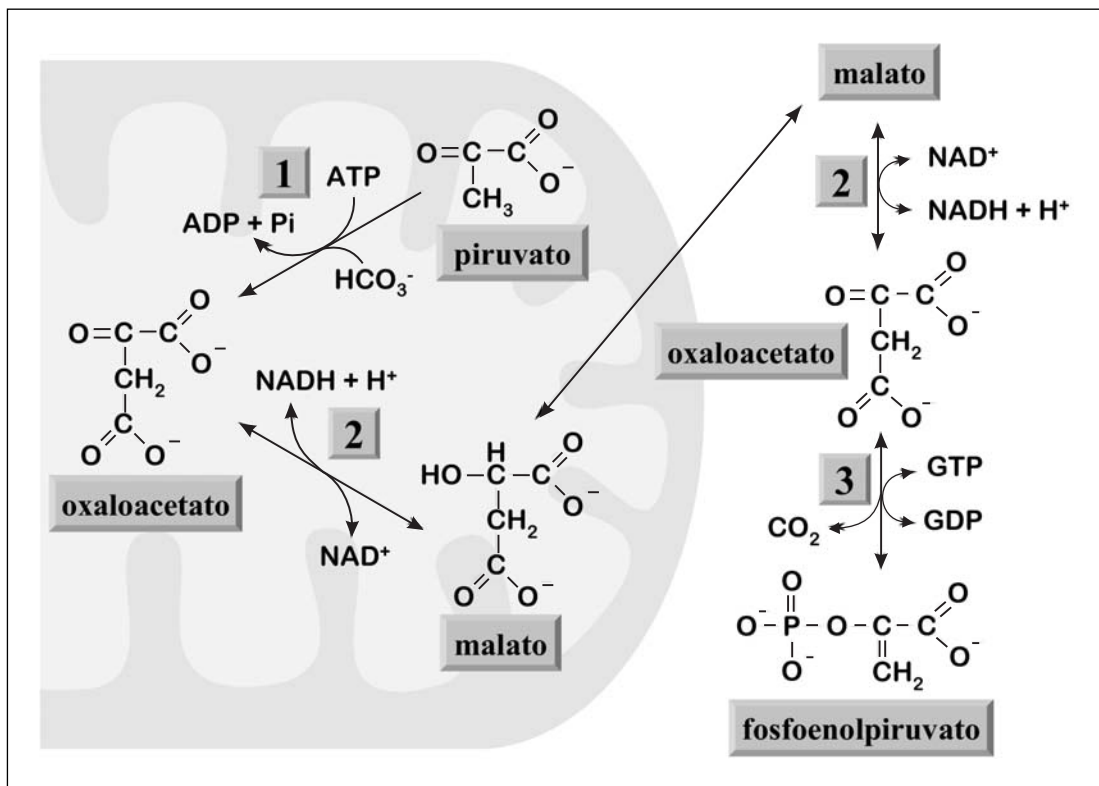
#### Conversão de glicose-6-fosfato em glicose livre

É realizada pela glicose-6-fosfatase, enzima presente unicamente no fígado, no rim e no epitélio intestinal, a qual requer  $Mg^{2+}$  como cofator (Figura-4A, enzima [2]).

Como esta enzima é inexistente no cérebro e no músculo, esses tecidos não podem realizar gliconeogênese até glicose livre e dependem da glicose sanguínea como fonte de energia.

A soma das reações desde o piruvato até a glicose é:





**Figura 12** – Conversão do piruvato em fosfoenolpiruvato (PEP).

As enzimas relacionadas são [1] piruvato carboxilase, [2] malato desidrogenase e [3] fosfoenolpiruvato carboxiquinase.

São gastos 6 grupos fosfato de alta energia, 2 ATP e 2 GTP na conversão de 2 moléculas de piruvato até PEP; e mais 2 ATP na conversão de duas moléculas de 3-fosfoglicerato a duas moléculas de 1,3-difosfoglicerato. Também são gastas 2 coenzimas reduzidas NADH. No inverso desta via, ou seja, na glicólise, somente são produzidos 2 ATP.

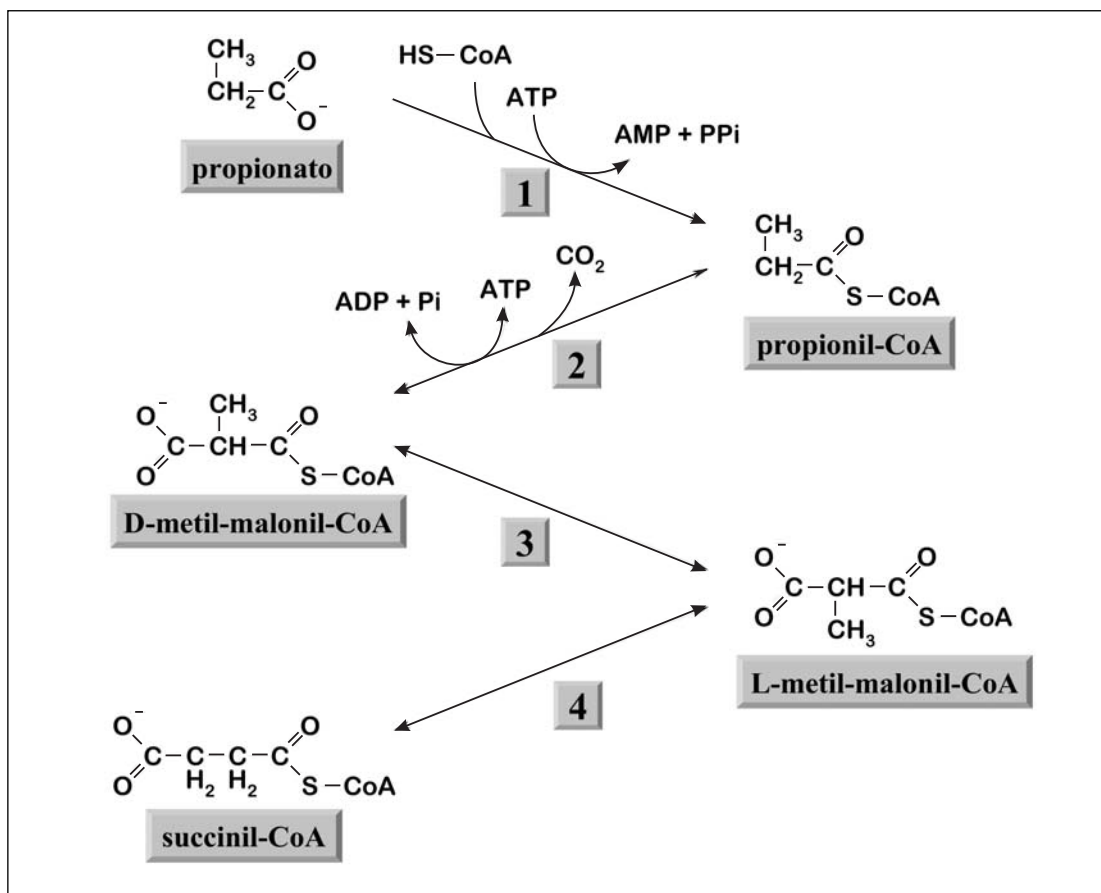
#### Gliconeogênese a partir de propionato

Embora esta rota ocorra tanto nos monogástricos quanto nos ruminantes, é de especial importância nestes últimos animais, pois é utilizada como a mais importante fonte de glicose (Figura 13). O propionato, um

ácido graxo volátil produzido pela fermentação microbiana dos glicídeos, é absorvido no epitélio ruminal, passando para o fígado, onde ingressa na rota gliconeogênica.

A rota do propionato à glicose envolve o seu ingresso no ciclo de Krebs até formar OAA, precursor gliconeogênico que pode ser convertido em PEP, como já foi explicado. Inicialmente o propionato deve ser ativado a propionil-CoA, pela ação da enzima propionil CoA sintetase, a qual tem  $\text{Mg}^{2+}$  como cofator. Após, o propionil CoA é carboxilado em D-metilmalonil CoA, pela ação da enzima propionil-CoA carboxilase, a qual requer biotina como cofator. Nesta reação é consumido outro ATP.





**Figura 13** – Gliconeogênese a partir do propionato.

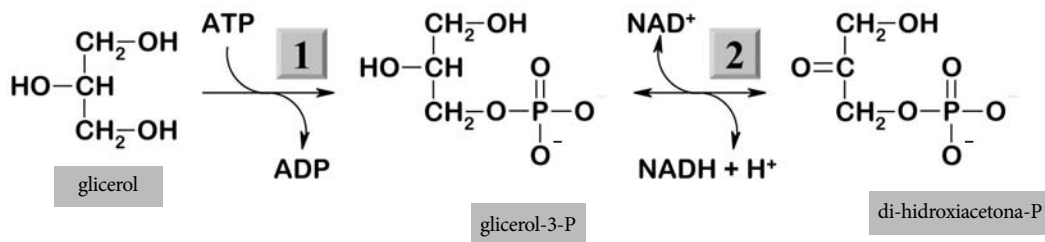
As enzimas relacionadas são: [1] propionil-CoA sintetase, [2] propionil-CoA carboxilase, [3] metil-malonil-CoA racemase e [4] metil-malonil-CoA mutase.

O produto da reação anterior é convertido em seu isômero L por uma racemase. O L-metilmalonil-CoA é convertido em outro isômero, o succinil-CoA, intermediário do ciclo de Krebs. Esta reação é catalisada pela enzima L-metilmalonil-CoA mutase, que requer a coenzima B<sub>12</sub> como cofator. Esta coenzima é sintetizada pelos microrganismos do rúmen, sendo requerido cobalto, mineral que pode ser limitante em certas circunstâncias, afetando então o metabolismo energético do animal. O succinil-CoA segue o ciclo de Krebs até gerar malato, que sai para o ci-

tosol e é convertido em OAA, continuando a gliconeogênese da mesma forma que o processo a partir de piruvato.

#### Gliconeogênese a partir de glicerol

O glicerol é produzido a partir da lipólise dos triglicerídeos no tecido adiposo, onde não pode ser metabolizado. Deve ser levado, via sanguínea, até o fígado, onde pode ingressar na via gliconeogênica através da di-hidroxiacetona-fosfato, mediante as seguintes reações:



Numa primeira etapa, o glicerol sofre fosforilação pela glicerol quinase, enzima presente unicamente no fígado (enzima [1]). Após, o glicerol-3-fosfato é oxidado pela enzima glicerol-3-fosfato desidrogenase (enzima [2]), gerando di-hidroxiacetona-fosfato, composto intermediário da via glicolítica/gliconeogênica.

#### Gliconeogênese a partir de lactato

O lactato é produzido no eritrócito e no músculo esquelético, como produto final da glicólise anaeróbica. Uma vez que não pode ser metabolizado nesses tecidos, deve seguir pela corrente circulatória até o fígado, onde é oxidado a piruvato pela ação da enzima lactato desidrogenase (Figura 4B). O piruvato entra na mitocôndria, onde é convertido em OAA, continuando a gliconeogênese (Figura 12).

#### Gliconeogênese a partir de aminoácidos

A maioria dos aminoácidos pode seguir a via gliconeogênica através de intermediários do ciclo de Krebs ou através do piruvato. Esses aminoácidos são chamados de glicogênicos e têm cinco possíveis sítios de entrada:

- (a) Via piruvato: Ala, Ser, Cys, Gly.
- (b) Via  $\alpha$ -cetoglutarato: Glu, Pro, Arg, His.
- (c) Via succinil-CoA: Val, Thr, Met, Ile.
- (d) Via fumarato: Phe, Tyr.

#### (e) Via OAA: Asp.

Dentre os aminoácidos, Trp, Ile, Phe e Tyr podem gerar glicose ou acetil-CoA, dependendo da rota metabólica, constituindo-se em aminoácidos glicogênicos ou cetogênicos. De todos os aminoácidos, somente Leu não pode gerar glicose, sendo, portanto, um aminoácido cetogênico obrigatório. A rota de gliconeogênese a partir dos aminoácidos opera em todas as espécies, mas cobra especial importância em situações de balanço energético negativo, em que as proteínas de reserva (albumina e músculo) garantem a manutenção da glicemia. Nos animais carnívoros, a glicemia é garantida mediante esta via, utilizando os aminoácidos da proteína da dieta.

#### Regulação da gliconeogênese

A gliconeogênese e a glicólise estão reguladas de forma separada e recíproca. O principal ponto de controle está relacionado com as reações que envolvem o piruvato, em ambos os casos. Na glicólise, está envolvido o complexo piruvato desidrogenase, e na gliconeogênese, a enzima piruvato carboxilase. Esta última enzima tem como ativador alostérico o acetil-CoA, de modo que a biossíntese de glicose é favorecida quando há altos níveis de acetil-CoA. Por outro lado, quando as necessidades energéticas da célula estão satisfeitas (alto valor da relação ATP/ADP), ocorre uma diminuição da fosforilação oxidativa, sendo aumentados os níveis de NADH com inibição do ciclo de Krebs. Consequentemente, o acetil-CoA será acumulado,

causando inibição da piruvato desidrogenase, com diminuição da glicólise e acúmulo de piruvato. O piruvato acumulado ativa a enzima piruvato carboxilase, direcionando o piruvato no sentido da gliconeogênese.

Outro ponto de controle da gliconeogênese é exercido sobre a enzima fructose 1,6 difosfatase (Figura 4A, enzima [5]), a qual é inibida por AMP. A enzima que catalisa a reação inversa na glicólise (Figura 4A, enzima [4]) é a fosfofructoquinase 1 (PFK-1), a qual é estimulada por AMP e ADP e inibida por citrato e ATP. Quando há suficiente concentração de ATP e de citrato, ocorre o favorecimento da gliconeogênese e da síntese de glicogênio.

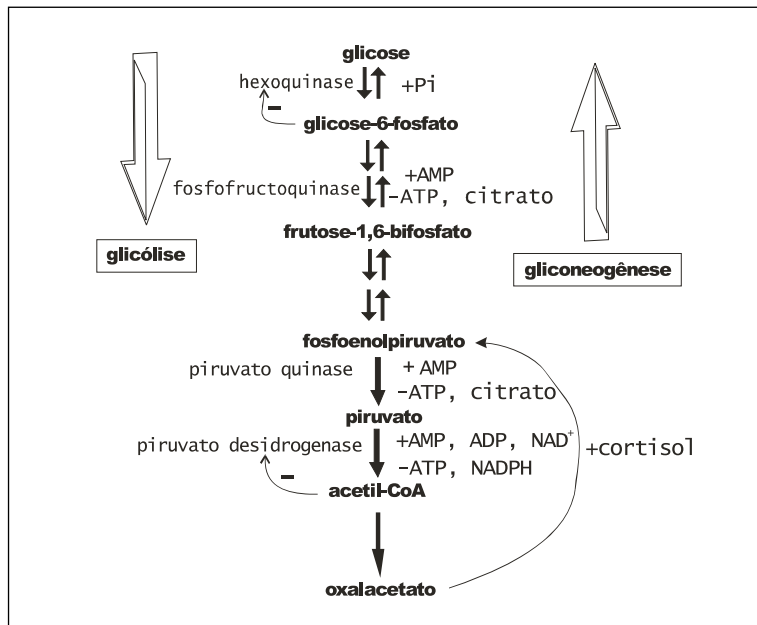
A gliconeogênese pode ser ativada endocrinamente pelo glucagon, mediante a ativação da enzima fructose-1,6-difosfatase (Figura 4A, enzima [5]) e a inibição da enzima fosfofructoquinase-2 (PFK-2), isoenzi-

ma da PFK-1 (Figura 4A, enzima [4]). O efeito do glucagon leva à conversão da fructose-1,6-difosfato em fructose-6-fosfato, favorecendo a gliconeogênese e inibindo a glicólise. O glucagon atua via cAMP, estimulando a ação de proteínas-quinases, que fosforilam as enzimas mencionadas anteriormente.

Um resumo da relação entre as vias da glicólise e da gliconeogênese e seu controle é mostrado na Figura 14.

### Biossíntese de lactose

A lactose é um dissacarídeo formado por glicose e galactose com união  $\alpha$ 1-4 e sintetizado exclusivamente na glândula mamária ativa. A síntese é realizada no aparelho de Golgi das células do epitélio mamário. As moléculas precursoras, glicose e galactose, provêm principalmente da glicose sanguínea



**Figura 14** – Relação entre glicólise e gliconeogênese e pontos de controle. Sinal + indica estímulo; sinal - indica inibição.

ou de substâncias rapidamente conversíveis em glicose, através da via gliconeogênica, tais como o propionato, o piruvato, o oxalacetato e os aminoácidos. Metade da glicose que chega na glândula mamária é direcionada para síntese de lactose, e a outra metade para formação de glicerol, necessário para a síntese dos triglicerídeos do leite. O glicerol é obtido da di-hidroxiacetona-P (via glicolítica).

Uma vez que a secreção de lactose para o alvéolo mamário determina a quantidade de água no leite, por osmose, a síntese de lactose é um dos fatores determinantes na produção total de leite. Portanto, a disponibilidade de glicose sanguínea e a capacidade de realizar gliconeogênese pela glândula mamária, constituem fatores limitantes para a produção de leite, considerado o potencial genético do animal.

A galactose necessária para a síntese de lactose pode provir da própria glicose ou também do glicerol. A galactose é sintetizada a partir da UDP-glicose (Figura 3), a qual é convertida em UDP-galactose por uma epimerase.

A enzima que sintetiza a lactose é um complexo chamado lactose sintetase, composto de duas proteínas: (a) galactosil-transferase, presente no aparelho de Golgi da célula epitelial mamária e de outros tecidos; e (b)  $\alpha$ -lactalbumina, proteína presente em altas concentrações no leite. Atuando de forma isolada, a galactosil-transferase catalisa uniões entre UDP galactose e N-acetilglicosamina para sintetizar oligossacarídeos. Em presença da lactalbumina, nas células mamarías, esta enzima transfere a UDP galactose à glicose formando lactose.

O complexo lactose sintetase requer  $Mn^{2+}$  como cofator, apesar de a concentração deste cátion na glândula mamária ser baixa (50-100  $\mu$ moles/L). A síntese da lactalbumi-

na é inibida pela progesterona durante a gestação na glândula mamária inativa, de forma que a galactosil-transferase não pode formar lactose, mas contribui para a formação de oligossacarídeos de membrana.

### Fructose como fonte de energia

A glicose pode produzir fructose para servir como fonte de energia exclusiva nos espermatozoides, necessária para sua movimentação. Esta exclusividade no uso da fructose serve, aparentemente, para que outras células não possam usá-la como fonte de energia. Na síntese da fructose, é produzido o sorbitol como composto intermediário, o qual é um derivado álcool da glicose, cujo grupo C-1 aldeído é reduzido a álcool ( $-CHO \rightarrow -CH_2OH$ ).

A fructose, monossacarídeo também abundante nas frutas, pode ser oxidada, no processo conhecido como fructólise, até lactato, para produzir energia em certos tecidos.

### O METABOLISMO DOS GLICÍDEOS E OS HORMÔNIOS DO PÂNCREAS

Os gregos, na Antiguidade, atribuíram ao pâncreas funções de suporte, conforme refletido pelo nome dado ao órgão (pan: todo; kreas: carne). Somente em meados do século XVII, Sylvius e De Graaf reconheceram sua função digestiva. Paul Langerhans, em 1869, descreveu pela primeira vez as ilhotas pancreáticas que levam seu nome. No entanto, inicialmente, não foi dada importância fisiológica ao pâncreas. Em 1889, Diamare sugeriu que as ilhotas pancreáticas estavam relacionadas com o metabolismo dos glicídeos. Minkowski e Von Mering, no mesmo ano, conseguiram induzir diabetes em cães por remoção do pâncreas. Laquesse, em 1893, propôs para as ilhotas pancreáticas o nome de ilhotas de Langerhans, postulando,

ainda, que elas produziam alguma secreção interna. Paulesco foi o primeiro a demonstrar, em 1921, o efeito hipoglicemiante de extratos de pâncreas, sugerindo a existência de um hormônio pancreático, muito embora não o tivesse identificado. Meyer, em 1909, chamou o suposto hormônio de insulina, por ser produto das ilhotas. O descobrimento da insulina foi feito por Banting e Best, em 1921, no Canadá. A síntese química da insulina foi obtida pela primeira vez na República Popular da China, em 1965, por Kang e seu grupo.

Adicionalmente, a existência de um fator glicogenolítico hiperglicemiante no pâncreas foi proposto por Kimball e Murlin, em 1924, os quais denominaram este fator de glucagon. Ao final da década de 1940, graças aos estudos de Burger e Kramer, foi reconhecida sua categoria de hormônio peptídico e sua produção pelas células A do pâncreas.

O pâncreas é uma glândula com funções exócrinas e endócrinas. A função exócrina do pâncreas está representada pelas enzimas digestivas, produzidas pela maior parte do tecido. A função endócrina é realizada pelas ilhotas de Langerhans, as quais estão difusamente distribuídas no tecido pancreático, representando somente 2 % do peso do pâncreas. As ilhotas são cordões e aglomerados irregulares de células e capilares que secretam hormônios relacionados com o controle do metabolismo energético: insulina, glucagon e somatostatina.

Cada hormônio é secretado por grupos diferentes de células. As células A ( $\alpha$ ), constituindo 25 % das ilhotas, secretam o glucagon. As células B ( $\beta$ ), que compõem 60 % das ilhotas, secretam a insulina, e as células D ( $\delta$ ), correspondendo a 10 % das ilhotas, secretam a somatostatina. Um hormônio adicional, cuja função parece ser a regulação da secreção das enzimas pancreáticas, é conhecido

como peptídeo pancreático, sendo secretado por células pouco numerosas chamadas células F (5 % das ilhotas).

A insulina e o glucagon mantêm a concentração de glicose no sangue. A insulina facilita o ingresso e a utilização de glicose nas células, reduzindo a quantidade de glicose sanguínea (ação hipoglicemiante). O glucagon, ao contrário, aumenta a concentração de glicose no sangue, mediante o estímulo da glicogenólise e da gliconeogênese hepáticas. A somatostatina inibe a liberação de insulina e de glucagon.

## **Insulina**

A insulina é uma proteína globular relativamente pequena (5,7 kDa). A insulina bovina possui 51 resíduos de aminoácidos, tendo duas cadeias polipeptídicas, A e B, com 21 e 30 resíduos, respectivamente. Estas cadeias estão unidas mediante pontes dissulfeto. Existem diferenças entre as insulinas de diferentes espécies, geralmente nos aminoácidos 8, 9 e 10 da cadeia A e no aminoácido 30 da cadeia B. As insulinas canina e suína têm a mesma estrutura.

O produto da tradução do mRNA para a insulina é um polipeptídeo de 11,5 kDa chamado pré-proinsulina. Esta apresenta 23 resíduos de aminoácidos extras na extremidade N-terminal, correspondendo ao peptídeo sinal. A pré-proinsulina secretada no retículo endoplasmático rugoso passa da cisterna do retículo para o aparelho de Golgi, onde é realizada a clivagem do peptídeo sinal, liberando a proinsulina. Esta última tem 81 aminoácidos, 51 nas cadeias A e B e 30 no peptídeo de conexão (peptídeo C), o qual sofre proteólise parcial nos grânulos de secreção das células  $\beta$  para liberar as cadeias A e B, sem afetar as pontes dissulfeto intracatenárias. Quando comparadas diferentes espécies, existe maior

variação na sequência de aminoácidos do peptídeo de conexão do que nas cadeias ativas.

A meia-vida da insulina é de 5 a 10 minutos sendo degradada por proteases específicas depois de sua união com os receptores nas células-alvo.

#### Funções da insulina

Os alvos primários da insulina são o fígado, o músculo e as células adiposas. Atua, também, de forma sinérgica com a prolactina sobre a glândula mamária. A insulina tem ações anabólicas, isto é, favorece a síntese de proteínas, de glicogênio e de triglicerídeos. Seu efeito é oposto ao dos hormônios catabólicos (glucagon, catecolaminas, glicocorticoides, GH). Também tem efeito sobre o transporte através de membranas, facilitando o ingresso e a utilização intracelular da glicose, dos aminoácidos e do íon potássio. A administração de insulina com fins terapêuticos pode causar, além de hipoglicemia, uma hipocalemia. Este efeito é causado pela estimulação da bomba Na K-ATPase, aumentando o ingresso de potássio nas células, podendo causar transtornos cardiovasculares.

Algumas células não requerem a presença de insulina para a entrada de glicose. Entre elas, as células do cérebro, do trato gastrointestinal, os eritrócitos, os leucócitos, as células das ilhotas pancreáticas, dos túbulos renais e os hepatócitos.

A insulina aumenta a atividade das enzimas envolvidas na glicólise, especialmente a glicoquinase, a fosfofructoquinase e a piruvato quinase. Efeito oposto, ou seja, diminuição de atividade, é exercido sobre as enzimas da gliconeogênese, como a glicose-6-fosfatase, a fructose 1,6-difosfatase, a fosfoenolpiruvato carboxiquinase e a piruvato carboxilase.

Algumas enzimas têm sua atividade modificada pela insulina, através de processos que envolvem desfosforilação. Assim, a glicogênio sintetase, enzima encarregada de sintetizar o glicogênio, passa da sua forma inativa, fosforilada, para a forma ativa, desfosforilada. O efeito final da ação da insulina sobre o metabolismo dos carboidratos é aumentar a síntese de glicogênio na presença de glicose-6-fosfato e inibir a glicogenólise. A combinação das ações anteriores faz com que a insulina tenha efeito hipoglicemiante.

Outra enzima ativada mediante desfosforilação mediada pela insulina é a piruvato desidrogenase, a qual oxida o piruvato a acetil-CoA. Este metabólito pode, depois, servir de precursor para a síntese de ácidos graxos ou servir de fonte energética mediante sua oxidação no ciclo de Krebs. Portanto, a insulina promove a lipogênese e inibe a lipólise.

A insulina também promove a desfosforilação da enzima acetil-CoA carboxilase, a qual converte o acetil-CoA em malonil-CoA, ativando sua ação e estimulando a síntese de ácidos graxos. Simultaneamente, a desfosforilação da lipase, mediada pela insulina, inibe a degradação dos triglicerídeos. A insulina também estimula a síntese de lipoproteínas LDL e da lipoproteína-lipase de membrana para facilitar a disponibilidade de ácidos graxos no tecido adiposo para a lipogênese.

A síntese de proteínas no fígado é estimulada pela insulina ao aumentar a captação de aminoácidos e a capacidade ribossomal para traduzir mRNA, também acelerando a transcrição e a replicação do DNA, levando à proliferação celular, atividade importante na promoção do crescimento e da diferenciação celular.

## Mecanismo de ação da insulina

Os receptores insulínicos, em número de  $10^3$  a  $10^5$  por célula, são glicoproteínas localizadas na membrana plasmática. Seu número está regulado pela concentração de insulina em um mecanismo chamado “down-regulation”, isto é, ao aumentar o nível de insulina no sangue decai o número de receptores do hormônio. A insulina une-se ao receptor na membrana, e o complexo insulina-receptor é internalizado, gerando dois tipos de ação:

- (a) Na membrana plasmática, estimula os sistemas de transporte de glicose (GLUT 4), de aminoácidos e de alguns íons, por difusão facilitada, aparentemente mediante mudanças conformacionais nos transportadores.
- (b) No meio intracelular, afeta as enzimas envolvidas no metabolismo dos carboidratos, dos lipídeos e das proteínas.

O receptor da insulina é um polipeptídeo com duas subunidades. A primeira subunidade atua como uma proteína quinase fosforilando a segunda subunidade, a qual atua como segundo mensageiro, estimulando a mobilização de proteínas transportadoras de glicose. A ação da insulina sobre a atividade das enzimas é basicamente por desfosforilação e por inibição dos efeitos do cAMP, através da diminuição dos níveis da adenilciclase (enzima que catalisa a formação de cAMP) e estimulação da fosfodiesterase (enzima que catalisa a degradação de cAMP).

## Controle de secreção da insulina

O controle da secreção da insulina é mediado pelos níveis sanguíneos de glicose. As células  $\beta$  das ilhotas pancreáticas respondem positivamente ao estímulo da glicose, dos aminoácidos (especialmente arginina, lisina e leucina), dos ácidos graxos e dos corpos cetônicos. Nos ruminantes, os ácidos graxos

voláteis também são estimuladores da secreção de insulina. Os hormônios gastrointestinais (VIP, GIP, gastrina, secretina e colecistoquinina) e o glucagon também estimulam a liberação de insulina. A insulina é secretada especialmente depois das refeições para prevenir a hiperglicemia pós-prandial, evento ligado aos sinais entéricos que estimulam a secreção dos hormônios gastrointestinais. O estímulo para a secreção de insulina pela glicose, seu mais potente estimulador, envolve o aumento na captação de  $Ca^{2+}$  e o incremento de cAMP nas células  $\beta$ . A hipercalcemia ou a administração de cálcio favorece a liberação de insulina.

O nervo vago estimula a secreção de insulina via receptores colinérgicos (muscarínicos). A estimulação adrenérgica inibe a liberação de insulina através de receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos. O estresse e o exercício provocam inibição da liberação de insulina. Uma regulação parácrina indica que a insulina inibe a secreção de glucagon e, talvez, a de somatostatina. O glucagon estimula a secreção de insulina e somatostatina, e a somatostatina inibe a secreção de insulina e glucagon. O efeito mediador para esta regulação parácrina é desconhecido.

## Glucagon

O glucagon é composto de uma cadeia polipeptídica simples com 29 resíduos de aminoácidos e peso molecular de 3,5 kDa. Este hormônio exibe similaridade estrutural com alguns hormônios gastrointestinais, como a secretina, o VIP e o GIP. É secretado como proglucagon, com peso molecular de 18 kDa, precursor formado pelas células  $\alpha$  das ilhotas pancreáticas, o qual sofre modificações pós-tradução. Também existem sítios de síntese de glucagon no intestino e nas glândulas salivares. O glucagon sai das células pancreáticas por exocitose a partir de grânulos secretores.

Os principais efeitos do glucagon são opostos aos da insulina. Dessa forma, ele estimula a degradação das reservas de glicogênio, de lipídeos e de proteínas, elevando o nível de glicose sanguínea durante períodos de déficit energético. O glucagon tem efeito hiperglicemiante por estimular tanto a glicogenólise como a gliconeogênese, através da estimulação de cAMP, ativação de quinases e fosforilação de enzimas. Assim, tem efeito ativador sobre a glicogênio fosforilase, e inativador sobre a glicogênio sintetase. Também inativa a piruvato quinase e ativa a fructose-1,6-difosfatase, promovendo a gliconeogênese. O efeito glicogenolítico do glucagon é idêntico ao da adrenalina, porém atua em baixas concentrações e sem causar a elevação da pressão sanguínea que as catecolaminas provocam.

O glucagon acelera a proteólise hepática, aumentando o *pool* de aminoácidos e a formação de ureia. Os aminoácidos fornecem os esqueletos carbonados precursores para a gliconeogênese. Também inibe a síntese de ácidos graxos e colesterol a partir de acetil-CoA. Entretanto, como o glucagon aumenta a atividade da lipase, ocorre um incremento na concentração de ácidos graxos e corpos cetônicos no sangue. A ativação da lipase é mediada pelo aumento no nível do cAMP intracelular. No rim, o glucagon favorece a filtração glomerular e a excreção de sódio, potássio, cloro, fósforo inorgânico e ácido úrico.

O glucagon é um hormônio catabólico, ao passo que a insulina é um hormônio anabólico, sendo que a ação articulada dos dois constitui o principal ponto de controle sobre a homeostase da glicose. Durante o período pós-prandial, a insulina melhora a utilização e o armazenamento de glicose, causando diminuição da glicemia. Por outro lado, em períodos de alta demanda metabólica, o glucagon aumenta a glicogenólise e a

gliconeogênese hepáticas para aumentar os níveis de glicose sanguínea.

O estímulo para a secreção de glucagon é a hipoglicemia, mediado pelo aumento do cálcio intracelular, embora os detalhes dos mecanismos sejam desconhecidos. O estímulo colinérgico provoca secreção de glucagon. Igual efeito tem o sistema simpático, via receptores  $\beta$ -adrenérgicos, o que implica que o glucagon é secretado em condições de estresse. Os aminoácidos são, também, estimuladores tanto da secreção de glucagon como de insulina, o qual é evidenciado após uma alimentação rica em proteínas. A elevação na concentração de ácidos graxos inibe a secreção de glucagon. Os hormônios tireoidianos aumentam o número de receptores para glucagon, sugerindo que tais hormônios exercem efeito permissivo sobre a ação do glucagon. Os peptídeos gastrointestinais, tais como a CCK e a gastrina, bem como as catecolaminas, o GH e os glicocorticoides estimulam a liberação de glucagon.

### Somatostatina

A somatostatina é um peptídeo com 14 resíduos de aminoácidos e peso molecular de 1,638 kDa. Previamente descrita como um hormônio hipotalâmico inibitório da secreção hipofisiária de GH, foi posteriormente evidenciada sua secreção por células gástricas, intestinais e pancreáticas.

A somatostatina é inibidora da secreção de insulina e de glucagon, bem como de secretina e gastrina. Também inibe os movimentos gástricos, a contração da vesícula biliar, a motilidade duodenal, a secreção exócrina pancreática e a absorção de glicose do intestino. Sua secreção é estimulada por níveis elevados de glicose e aminoácidos e pela CCK. Seu mecanismo de ação inibitório parece ser por bloqueio da entrada de cálcio nas células-alvo, tendo mais um papel de controle parácrino.



## Introdução

A glicose é o metabólito que representa a maior parte dos mecanismos energéticos nos mamíferos superiores, sendo designada como glicemia o seu teor no sangue. Baixos valores de glicose no sangue não constituem uma doença única, e sim um sinal clínico associado a eventos fisiológicos, como a lactação; ou patológicos, como a cetose dos ruminantes ou o hipoadrenocorticismo.

Existem dois aspectos que diferenciam o mecanismo energético entre monogástricos e ruminantes. A digestão nos monogástricos tem alcances limitados, pois apenas o amido e os glicídeos simples podem ser digeridos, tendo a glicose como produto final. Do intestino, a glicose se absorve e no fígado é fosforilada para entrar em diferentes vias metabólicas e ser distribuída aos diferentes tecidos. Nos ruminantes, a situação é bem diferente, pois os animais poligástricos praticamente não absorvem glicose do intestino. Sua adaptação digestiva lhes permite utilizar a celulose e outros glicídeos estruturais das paredes celulares dos vegetais, utilizando uma relação simbiótica entre microrganismos e meio ambiente ruminal. Os produtos finais da fermentação anaeróbica não incluem a glicose, mas diversos ácidos graxos voláteis de cadeia curta (AGV), especialmente acético, propiônico e butírico, os quais são absorvidos diretamente na parede do rúmen e transportados ao fígado. Apenas o ácido propiônico pode ser transformado em glicose no fígado, enquanto os ácidos acético e butírico servem como substratos para a síntese de ácidos graxos de cadeia longa (AGL).

## Hipoglicemia

A hipoglicemia configura-se quando a concentração de glicose plasmática atinge menos de 60 mg/dL (monogástricos) ou menos de 40 mg/dL (ruminantes). A causa principal da hipoglicemia está na ausência de reservas (jejum prolongado), no gasto exagerado de glicose por tecidos periféricos (lactação, gestação, hiperinsulinismo, sepse) e na pobre capacidade metabólica do fígado, como ocorre em animais recém-nascidos, nos quais a gliconeogênese hepática só é possível a partir do 5º dia de vida (tempo necessário para que as mitocôndrias assumam totalmente suas funções oxidativas) ou em casos de insuficiência ou lesão hepática de diversas origens.

## Etiologia

A desnutrição e a ausência de reservas é a causa de hipoglicemia mais frequente em animais de produção, seja por dificuldades ambientais ou por efeitos diretos do manejo. Em animais monogástricos a causa mais comum de hipoglicemia está associada à falha no funcionamento hepático por causas tóxicas ou infecciosas. Em situação de jejum prolongado em ruminantes, a produção ruminal de ácidos graxos voláteis (AGV) para não haver mais fermentação bacteriana e os protozoários desaparecem por ausência de substrato. Sem AGV não há precursores de glicose, o que diminui a secreção de insulina e ativa o glucagon para liberar glicogênio hepático e ativar a lipólise e o catabolismo muscular.

A gliconeogênese também está comprometida na deficiência dos chamados hormônios diabetogênicos ou hiperglicemiantes (cortisol, GH, glucagon, adrenalina) como

no hipoadrenocorticismo. Hipoglicemia iatrogênica pode ser observada em tratamento inadequado da diabetes mellitus (dose de insulina em excesso).

A idade e a condição geral do paciente auxiliam bastante na investigação da causa da hipoglicemia. Animais idosos tendem a apresentar hipoglicemia em insulinomas ou hipoadrenocorticismo. Na primeira, uma secreção exagerada e autônoma de insulina por um tumor mantém a glicemia persistentemente baixa, enquanto, na segunda, a deficiência de glicocorticoides inibe a gliconeogênese, e o paciente fica hipoglicêmico no jejum. Contudo, outras doenças podem provocar hipoglicemia em animais idosos, como doenças hepáticas, condições debilitantes ou sepse. Na sepse, demonstrou-se que ocorre um reajuste do glicostato hipotalâmico, muitas vezes acertando a faixa que seria ideal para valores baixos, mantendo o paciente hipoglicêmico. Contudo, quadros sépticos tendem a causar resistência à insulina, o que aumentaria a glicose no plasma. Este aumento da glicemia é destinado às células inflamatórias que estão plenamente ativas enfrentando os agressores e, desta forma, também podem predispor a hipoglicemia durante a sepse.

Animais muito jovens podem apresentar hipoglicemia se mantidos em jejum prolongado, uma vez que eles ainda não apresentam uma gliconeogênese eficiente. Isto é particularmente importante em filhotes de gatos, que podem tornar-se hipoglicêmicos, hipotensos e com hipotermia em face da desnutrição, ou em leitões recém-nascidos que não ingerem colostro. Nestes casos o estupor pode aparecer como sintoma inicial de hipoglicemia. Contudo, verminoses severas, des-

nutrição crônica, doenças hepáticas hereditárias, sepse ou alterações vasculares (*shunts* portossistêmicos) também são causas comuns de hipoglicemia em animais jovens. Pacientes diabéticos sob terapia com insulina ou hipoglicemiantes orais podem experimentar sinais de hipoglicemia caso não esteja adequado o tratamento. A severidade da manifestação de hipoglicemia será decorrente da intensidade e do tempo de duração da crise hipoglicêmica.

Alguns fatores relacionados com a coleta da amostra ou com o método de dosagem podem causar falsas alterações na glicemia. Se a amostra de sangue ficar muito tempo sem separar o plasma/soro, e não for usado anticoagulante inibidor da glicólise (fluoreto de sódio), a concentração de glicose pode cair a uma taxa aproximada de 10 mg/dL/hora. Amostras hemolisadas podem ser causa de falso aumento de glicose. Os métodos de dosagem de glicose mediante tiras de química seca (glicometria portátil) costumam dar valores mais baixos que aqueles dosados por métodos de química úmida (kits).

#### Implicações metabólicas

Em situações de hipoglicemia, aumenta a secreção de glucagon e diminui a secreção de insulina, no pâncreas endócrino. Receptores no hipotálamo são estimulados para ativar a medula adrenal a secretar adrenalina. O mecanismo resultante é combinado e produz três efeitos metabólicos: aumenta a glicogenólise hepática (degradação de glicogênio) para liberar glicose ao sangue, mobiliza triglicerídeos do tecido adiposo para utilizar glicerol na gliconeogênese e ácidos graxos livres como combustível alternativo

na oxidação respiratória e, finalmente, estimula a liberação de aminoácidos da proteína muscular para que possam ser direcionados como precursores de glicose.

Os efeitos do glucagon e da adrenalina são rápidos, porém curtos. Caso persista a falta de glicose, é necessária uma resposta de longo prazo que se inicia no lóbulo anterior da hipófise secretando os hormônios adrenocorticotropina (ACTH) e somatotropina (GH). O ACTH estimula a formação de glicocorticoides no córtex adrenal. O efeito final consiste em aumentar a disponibilidade de glicerol e de ácidos graxos livres procedentes da lipólise e promover a proteólise endógena muscular para liberar aminoácidos destinados à gliconeogênese hepática. Os glicocorticoides resultam especialmente efetivos porque estimulam o fornecimento de glicose no sangue para atender às demandas metabólicas. Essa situação se caracteriza pela elevação sanguínea de AGL proveniente da lipomobilização, em proporção que varia dependendo da severidade da hipoglicemia. Em algumas situações pode haver infiltração gordurosa do fígado (lipidose hepática) por diminuição da síntese de lipoproteínas de transporte e aumento dos níveis sanguíneos de triglicerídeos e colesterol. O fígado gorduroso representa uma grande limitação metabólica e é de prognóstico desfavorável para a vida produtiva do animal. Os AGL entram na rota da beta-oxidação para produzir acetil-CoA e produzem corpos cetônicos como mecanismo secundário que pode provocar cetose. Nessa situação é comum a elevação das enzimas hepáticas e da bilirrubina.

#### Sinais clínicos

Os sinais clínicos da hipoglicemia ficam evidentes quando a glicemia cai para menos de 45 mg/dL (cão, gato) ou menos de 30 mg/dL (ruminantes). De forma geral,

a hipoglicemia cursa com sinais neuroglicopênicos (baixa concentração de glicose no SNC), tais como tremores, convulsões, debilidade, incoordenação, letargia, desorientação, alucinações, nervosismo, comportamentos bizarros, andar cambaleante, vocalização excessiva, ataxia, convulsões, estupor e coma. Outros sinais clínicos são decorrentes do déficit energético muscular (fraqueza, tremores musculares, intolerância ao exercício) ou são sinais adrenérgicos (hipotermia, bradicardia, dilatação pupilar, ausência do tono muscular). Os efeitos da hipoglicemia sobre a fertilidade têm sido amplamente documentados, havendo uma estreita relação inversa, devido ao efeito negativo da hipoglicemia sobre a liberação de FSH e LH. Animais que sofrem hipoglicemia durante a gestação terão descendência com baixo peso e escassas probabilidades de sobrevivência.

#### Abordagem do paciente hipoglicêmico

Após a determinação da existência de hipoglicemia, que pode ser confirmada via medidas repetidas, torna-se fundamental a determinação da causa da hipoglicemia para um manejo adequado do paciente. A avaliação do estado do paciente, anamnese detalhada e exame clínico podem dar boas pistas sobre a causa do problema. Por exemplo, um filhote extremamente apático e hipoglicêmico, com abdômen distendido e encontrado na rua é sugestivo de hipoglicemia secundária à desnutrição e verminose. Hipoglicemia recorrente em cães de idade média a avançada e sobrepeso são bastante sugestivos de insulinoma. A presença de desidratação, hipotensão e uma condição corporal magra, especialmente se somados a histórico de falta de apetite, vômitos e diarreia ocasional, podem ser sugestivos de hipoadrenocorticismo. Pode-se esperar ocorrência de hipoglicemia em animais que vinham sob trata-

mento com glicocorticoides há muito tempo e tiveram a administração interrompida de forma abrupta, em uma forma clássica de hipoadrenocorticismo iatrogênico.

Quanto mais severos os sinais clínicos, provavelmente a hipoglicemia seja mais severa ou está ocorrendo há mais tempo. Um fenômeno interessante é a hipoglicemia inconsciente, na qual apesar de valores baixos de glicose plasmática, o paciente não apresenta nenhuma alteração clínica. Isso pode ocorrer muitas vezes em pacientes diabéticos sob terapia insulínica, e os pacientes apresentam-se normais mesmo com glicemias de 30–40 mg/dL, por exemplo. Esse fenômeno é decorrente de uma habituação do SNC à baixa glicemia, não desencadeando mais déficits neurológicos ou resposta contrarreguladora de forma eficiente. Contudo, quando se manifestam sinais clínicos, esses tendem a ser mais severos. Apesar de os sinais mais comuns de hipoglicemia serem a apatia, prostração, fraqueza, tremores musculares e déficits locomotores, não é incomum a hipoglicemia manifestar-se através de agitação excessiva, como ofegação intensa, nervosismo e desorientação. O exame clínico pode deixar clara a existência de um quadro patológico associado como causador da hipoglicemia, como nos casos de sepse (hipertermia, desidratação, taquicardia) ou doenças hepáticas (icterícia, ascite). A ativação simpática na hipoglicemia também fica bastante nítida através de taquicardia e pupilas dilatadas.

Os exames complementares desses pacientes são bastante importantes na determinação da causa do problema, uma vez que a detecção da hipoglicemia simplesmente explica os sinais clínicos observados, que poderiam estar sendo causados por outras anormalidades como hipocalcemia, azotemia, encefalopatia hepática ou até mesmo doenças primárias do SNC. Perfis hematológicos,

bioquímicos e urinários poderão elucidar a causa da hipoglicemia. Um paciente com elevada atividade das enzimas hepáticas, hipalbuminemia, hipocolesterolemia, baixa uremia e hipoglicemia pode estar sofrendo insuficiência hepática. Um paciente com hipercalemia, hiponatremia (especialmente se a relação Na:K for inferior a 27:1) é bastante sugestivo de hipoadrenocorticismo, apesar de que doenças hepáticas, renais ou do trato digestivo também podem causar relações Na:K reduzidas. Contudo, quanto menor for essa relação, maior a chance de tratar-se de hipoadrenocorticismo.

As imagens de ultrassonografia são bastante elucidativas em diversos aspectos, como na avaliação da imagem hepática, que pode evidenciar desde metástases de um eventual insulinoma até alterações no parênquima sugestivas de insuficiência hepática, como as observadas na cirrose. Outros testes específicos como os ácidos biliares para função hepática, o teste de estimulação pelo ACTH para diagnóstico de hipoadrenocorticismo, ou ainda a mensuração sérica de insulina em caso de hipoglicemia para diagnóstico definitivo de insulinoma podem fazer-se necessários.

## Tratamento

Em uma crise de hipoglicemia em pequenos animais, deve-se administrar açúcar por via oral ou um alimento doce antes de levar ao veterinário. A administração de refeições frequentes pode minimizar a ocorrência dos sinais. Em um ambiente hospitalar, a administração de bolus de glicose por via intravenosa é a forma mais rápida de reverter uma hipoglicemia. O ideal é evitar administração da glicose pura por via IV pelo risco de desenvolvimento de flebite, devendo-se idealmente diluir no mínimo duas vezes a glicose a ser

administrada. A dose preconizada de glicose em bolus é de 1 mL/kg de uma solução de glicose a 50 % diluídos em uma solução isotônica, como o cloreto de sódio a 0,9 %. Isso pode ser suficiente para reverter a hipoglicemia, porém, dependendo da causa, pode não ser suficiente. Nesses casos a repetição desse protocolo por mais algumas vezes pode ser útil. Deve manter-se os pacientes em fluido glicosado (2,5 a 5 %) por algumas horas após a resolução dos sinais, com objetivo de manter o paciente normoglicêmico. Deve-se suspender o uso de solução glicosada caso uma hiperglicemia fique evidente, especialmente com objetivo de evitar transtornos neurológicos e glicosúria. Em ruminantes, são usadas soluções IV de dextrose 5 % ou “drench” oral por sonda esofágica com propileno-glicol.

Dependendo da intensidade, a hipoglicemia pode ser fatal, especialmente se houver comprometimento de áreas importantes do SNC. Isso pode acarretar a permanência de sequelas como surdez, cegueira, coma, incoordenação motora ou alterações comportamentais, após a resolução da hipoglicemia. Nesses casos, é recomendada a aplicação de um tratamento para redução de edema cerebral, através da administração de fosfato sódico de dexametasona (1-2 mg/kg, IV), manitol (0,5-1 g/kg, IV) e furosemida (1-2 mg/kg, IV). O manejo da hipoglicemia em longo prazo irá depender da causa. A resolução do problema inicial irá prevenir a recidiva de hipoglicemia, como, por exemplo, a alimentação frequente e tratamento adequado de doenças associadas de filhotes, ou a redução na dose insulina de um paciente diabético, ou ainda remoção de um tumor secretor de insulina.

### **Hipoglicemia dos leitões**

O leitão recém-nascido é particularmente suscetível de sofrer hipoglicemia caso não seja alimentado nas primeiras horas de vida.

A glicose sanguínea nos leitões, que após o nascimento apresenta níveis elevados (130 mg/dL), pode cair para menos de 40 mg/dL em 24-36 horas. O leitão acometido por hipoglicemia apresenta apatia e fraqueza e, na evolução do quadro, convulsões, coma e morte.

As reservas de glicogênio hepático nos leitões, apesar de serem bastante altas ao nascimento, correspondendo a 15 % do peso do fígado, são esgotadas rapidamente. Nesse aspecto, diferem de bezerras, potros e cordeiros, os quais podem sofrer jejum por até uma semana sem apresentar hipoglicemia que comprometa a vida. Com a depleção das reservas de glicogênio hepático, os neonatos tornam-se mais dependentes da gliconeogênese para obter glicose. O problema nos leitões parece ocorrer porque as enzimas da via gliconeogênica, especialmente a fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEP-CK), não estão plenamente ativas após o nascimento, devendo ser estimuladas ou induzidas pela alimentação inicial. A falta de alimentação inicial no leitão pode ocorrer em razão de problemas que acometam a mãe, como agalactia, metrite e mastite, ou o próprio leitão, como anemia e infecções.

Alguns dias após o nascimento e com adequada alimentação, o leitão adquire progressivamente a capacidade para suportar a falta de alimento. Assim, o leitão com 10 dias de idade dificilmente sofreria de hipoglicemia quando submetido a jejum.

### **Insulinoma**

O insulinoma é um tumor que secreta insulina de forma autônoma e independente da concentração de glicose plasmática, principal regulador da secreção de insulina. A localização destes tumores é pancreática, a partir de células beta, apesar de tumores extrapancreáticos raramente apresentarem

secreção autônoma de insulina; raramente ocorre hipoglicemia secundária a síndromes paraneoplásicas associadas a tumores como carcinoma hepatocelular, hepatomas, leiomiossarcoma, leiomioma, hemangiossarcoma, melanoma ou leucemia. A grande maioria dos insulinomas é maligna, ocorrendo uma elevada taxa de metástases. Cerca de 50 % dos casos apresentam metástases no momento do diagnóstico inicial e os locais mais comuns de metástases são o fígado, linfonodos regionais e omento.

### Apresentação

Insulinoma tem sido observado em humanos, cães e ruminantes jovens. É bastante rara a ocorrência de insulinomas em cães, e mais rara ainda a ocorrência em gatos, com somente alguns relatos no mundo de ocorrência de insulinomas nesta espécie. Nos cães a doença é observada em cães de meia idade a idosos, apesar de haver relatos de insulinoma em cães com 3,5 anos. Algumas raças parecem mais predispostas como Pastor Alemão, Boxer, Poodle Standard, Collie, Fox e Setter.

O motivo da consulta de um cão com insulinoma são os sinais de neuroglicopenia e ativação adrenérgica secundária à hipoglicemia. As convulsões são o sinal mais comum em decorrência da dependência do SNC por glicose como fonte de energia. Apesar disso, muitas vezes a queixa dos proprietários refere-se a dificuldades ambulatorias ou simplesmente a tremores musculares. Os sinais clínicos costumam ser episódicos e associados a valores muito baixos de glicemia. Esses pacientes passam o dia inteiro com glicemias inferiores a 60 mg/dL, porém os sinais clínicos irão surgir somente quando a glicemia baixar a valores críticos, que variam de paciente para paciente. Além disso, pode haver modulação na magnitude da hipoglicemia necessária para provocar sinais clínicos.

Algumas situações podem exacerbar ou provocar sinais clínicos de hipoglicemia, como jejum prolongado, exercícios, estresse ou por mais antagônico que pareça, a ingestão de alimentos. Isto ocorre por razões distintas. Por exemplo, um paciente em jejum prolongado depende de gliconeogênese para manter a glicemia. A insulina inibe esta via e estimula a contínua captação e metabolização de glicose pelas células, culminando em hipoglicemia clínica no jejum prolongado. A prática de exercícios apresenta um efeito hipoglicemiante típico, ao estimular a translocação de transportadores GLUT-4 para a membrana celular no tecido muscular. Esse fenômeno associado à hiperinsulinemia provoca sinais clínicos em pacientes com insulinomas. Situações de estresse (banhos em estéticas caninas, ausência do dono em casos de ansiedade por separação, visitas, contato com outros animais), que no geral são difíceis de avaliar, provocam hipoglicemia porque durante o estresse ocorre liberação de hormônios hiperglicemiantes, como a adrenalina e o cortisol. Este aumento na concentração de glicose acaba sendo um estímulo para maior secreção de insulina pelo tumor, desencadeando sinais de hipoglicemia secundariamente. Uma situação similar ocorre no período pós-prandial, especialmente se a dieta for rica em carboidratos simples e administrada em grande quantidade, o que resulta em um aumento significativo na glicemia, com consequente rebote hipoglicêmico posterior.

A severidade e a duração dos sinais clínicos dependem principalmente de três fatores: o valor mais baixo de glicemia, a taxa de redução da glicemia e a duração da hipoglicemia. É comum a apresentação dos pacientes após meses de evolução dos sintomas, e muitas vezes após passagem por vários veterinários sem que fosse feito um diagnóstico definitivo, o que acaba fazendo com que um elevado grau de metástases es-

teja presente já no momento do diagnóstico. É importante, através da completa avaliação do paciente, inclusive com exames complementares, descartar outras causas de hipoglicemia, como as observadas no Quadro 2. Cães com insulinoma comumente são obesos ou apresentam sobrepeso, efeito que é secundário aos efeitos da insulina, potente hormônio anabólico e lipogênico.

#### Diagnóstico

O diagnóstico de um insulinoma é relativamente simples. Basta demonstrar-se a existência de hiperinsulinemia concomitante com uma hipoglicemia. Fisiologicamente a secreção de insulina é abolida ante glicemias menores que 30 mg/dL. Desta forma, para um adequado diagnóstico, coleta-se uma amostra de sangue para determinação de insulina (referência: 5 a 20  $\mu\text{U}/\text{mL}$ ) com o paciente apresentando glicemia inferior a 50 mg/dL. Quanto mais baixa a glicemia, maior a probabilidade do diagnóstico pela determinação de uma hiperinsulinemia, conforme a Tabela 2.

TABELA 2 – DIAGNÓSTICO DE INSULINOMA EM PACIENTE COM GLICEMIA INFERIOR A 50 MG/DL

Concentração sérica de insulina	Probabilidade de insulinoma
> 20 $\mu\text{U}/\text{mL}$	Elevada
10–20 $\mu\text{U}/\text{mL}$	Possível
5–10 $\mu\text{U}/\text{mL}$	Pequena
< 5 $\mu\text{U}/\text{mL}$	Descartada

Esse guia serve somente para avaliação de pacientes cujas amostras de sangue para determinação de insulina foram coletadas em glicemias inferiores a 50 mg/dL. A avaliação de insulinemia em glicemias superiores a 60 mg/dL não é confiável para diagnosticar um insulinoma. A detecção de hipoinsulinemia com hipoglicemia descarta a possibilidade de tratar-se de um insulinoma, pois essa é a resposta fisiológica normal. Contudo, amostras hemolisadas podem provocar resultados falsamente reduzidos de insulina, uma vez que a lise dos eritrócitos libera uma insulina capaz de degradar a insulina sérica.

QUADRO 2 – CAUSAS DE HIPOGLICEMIA

Insulinoma	Policitemia severa	Hipoglicemia de cães de caça
Sepse	Ingestão de propranolol	Doenças hepáticas
Hipoglicemia das raças Toy	Overdose de insulina	Hipopituitarismo
Inanição	Neoplasia extrapancreática	Uso de hipoglicemiantes orais
Hipoadrenocorticism	Hipoglicemia neonatal	Ingestão de salicilatos

A determinação sérica da fructosamina associada à albumina pode auxiliar num diagnóstico presuntivo, e imagens ecográficas podem muitas vezes evidenciar massas pancreáticas compatíveis com tumoração. Apesar disso, não é incomum o insulínoma ser microscópico e não ser detectado em ecografias, laparoscopias ou mesmo laparotomias exploratórias. Exames de imagens mais rebuscados, como tomografia computadorizada e ressonância magnética, podem apresentar vantagens quando comparados à ecografia.

### Tratamento

O tratamento médico de um insulínoma pode ser eficaz e simples em um primeiro momento, assim como pode ser extremamente frustrante, dependendo da malignidade do tumor e da sua capacidade de secreção de insulina. O objetivo dos diversos tratamentos não é de forma alguma normalizar a glicemia do paciente, uma vez que isso é bastante improvável, e sim controlar os sinais clínicos da doença. Essa meta se atinge com glicemias consideradas baixas (inferiores a 60 mg/dL).

Em uma crise de hipoglicemia, a administração de bolus de glicose deve ser feita de forma lenta e gradual ao longo de 5-10 minutos. A administração de uma grande quantidade de glicose, de forma rápida, pode na verdade exacerbar os sinais de hipoglicemia, uma vez que ocorrerá uma maior secreção de insulina. Deve-se administrar açúcar em solução na boca do animal. Caso o animal esteja inconsciente, não se deve tentar fazer com ele degluta. Assim que o paciente recuperar a consciência, ou restabelecer-se dos sintomas, uma pequena refeição deve ser administrada, e deve-se contatar o veterinário tão logo quanto possível. Em um ambiente hospitalar administra-se de 1 a 5 mL de uma

solução de glicose a 50 % vagarosamente ao longo de dez minutos, e, assim que o paciente normalizar-se, uma pequena refeição pode ser administrada.

Crises convulsivas irresponsivas às medidas antes descritas representam um péssimo fator prognóstico e indicam tratar-se de um tumor bastante agressivo e com alta taxa de secreção de insulina. Nesses casos pode-se tentar estabilizar o paciente com administração de glicose de 2,5 a 5 % por via intravenosa mantendo fluido constante e adicionando 0,5 a 1 mg/kg de dexametasona ao fluido administrado ao longo de 6 horas. A cada 12 ou 24 horas esse procedimento pode ser repetido, se houver necessidade. Caso não tenha sucesso, pode-se ainda administrar glucagon em infusão contínua na dose de 5 a 10 ng/kg/min. Análogos da somatostatina, como a octreotida, podem ser administrados na dose de 10 a 50 µg por via subcutânea a cada 8 a 12 horas. Caso nenhuma dessas terapias obtenha resposta, deve-se anestesiá-lo com pentobarbital por 4 a 8 horas enquanto mantêm-se as demais terapias. Caso uma cirurgia não seja possível para remoção do tumor, fica improvável evitar a evolução para óbito.

Após o diagnóstico, o tratamento inicial de um paciente com insulínoma visa reduzir as flutuações da glicemia, a fim de evitar que aumentos na glicose sanguínea venham a provocar hipoglicemia pela maior secreção de insulina pelo tumor. Neste sentido, a administração de refeições frequentes com dietas ricas em carboidratos complexos promove um controle adequado e temporário de pacientes com insulínomas pouco ativos. A recomendação dietética neste caso é igual à recomendação para cães com diabetes mellitus, uma vez que o objetivo também é limitar a hiperglicemia pós-prandial e assim evitar as crises induzidas pela alimentação, visto que a hiperglicemia pós-prandial pode provocar picos



de secreção de insulina. Deve-se administrar um mínimo de 4 pequenas refeições por dia, sendo às vezes recomendável a administração de até 8 refeições por dia, sem ultrapassar as necessidades energéticas do paciente.

Se refeições frequentes de dietas ricas em fibras não forem suficientes para controlar ou reduzir os clínicos do paciente após alguns dias de tratamento, torna-se necessária a introdução de drogas hiperglicemiantes. A principal e mais comum droga utilizada para o tratamento de insulinoma em longo prazo é a prednisona/prednisolona. Além de promover antagonismo aos efeitos da insulina, os glicocorticoides estimulam a gliconeogênese por efeito direto sobre enzimas gliconeogênicas. A dose inicial varia de 0,2 a 0,5 mg/kg a cada 12 horas, sendo que a melhora na qualidade de vida dos pacientes e a remissão dos sinais clínicos é facilmente detectada após alguns dias com a medicação. Quando necessário, é possível a administração de doses maiores, mas os efeitos colaterais (hiperadrenocorticismismo iatrogênico) são limitantes, tornando o prognóstico sombrio. Desta forma, é interessante o início do tratamento com a menor dose eficaz possível. Além dessas condutas, é aconselhável que se evite expor o paciente a situações de estresse ou exercícios, uma vez que podem provocar hipoglicemia.

Caso esse manejo não dê resultados, ainda existem opções clínicas para o tratamento. Contudo, o custo torna-se bastante oneroso por conta da necessidade de importação de certas drogas úteis para tentar obter um controle melhor do paciente. O diazóxido, um benzotiazídico anti-hipertensivo não diurético, é uma droga que auxilia no tratamento de pacientes cujo tratamento com dieta e corticoides não está mais sendo efetivo. O principal efeito dessa medicação é impedir o influxo de cálcio intracelular que precede a secreção de insulina, inibindo a secreção desse hormô-

nio. No entanto, o diazóxido não inibe a síntese da insulina, apesar de apresentar outros efeitos desejáveis como estimular a gliconeogênese e glicogenólise, e inibir a captação periférica de glicose. A dose preconizada inicialmente é de 10 mg/kg/dia, podendo ir até 60 mg/kg/dia. Porém, quanto maior a dose, maior a chance de ocorrência de efeitos indesejáveis como vômitos, anorexia, e outros efeitos tóxicos (aplasia de medula, anemia aplástica, retenção de sódio, diarreia, taquicardia e eventualmente hiperglicemia e cataratas). Esses efeitos tóxicos e o custo elevado podem tornar essa opção questionável. A administração concomitante de hidroclorotiazida na dose de 2 a 4 mg/kg/dia dividido em duas administrações por dia aumenta a efetividade do diazóxido.

A octreotida, um análogo sintético da somatostatina (STT), apresenta bons resultados no tratamento de cães com insulinoma. A medicação é injetável por via subcutânea a cada 8-12 horas na dose de 10 a 50 µg/kg. Entretanto, o custo da medicação é elevado. A única premissa para a eficácia da octreotida é que o tumor secretor de insulina tenha mantido receptores de membrana para STT. Alguns tumores sofrem alterações moleculares e podem não apresentar mais receptores para esse hormônio. Uma vez interagindo com esses receptores, a octreotida atua como um agonista da STT, estimulando a fosforilação de proteínas inibitórias que resultam em um efeito final de supressão tanto na síntese como na secreção da insulina. A droga tem início de efeito em cerca de 2 horas, com pico de efeito em 4 horas e ação máxima de 8 horas.

Outra opção no âmbito dos tratamentos médicos é a quimioterapia com estreptozotocina (STZ). A STZ é um agente alquilante usado para induzir diabetes em modelos experimentais, uma vez que promove necrose das células betapancreáticas. O uso dessa medicação para tratamento de insulinoma em humanos já foi descrito na literatura, as-

sim como em cães. Contudo, a medicação é extremamente tóxica por causar necrose tubular renal e ser fatal na maioria dos cães. No entanto, recentemente, um protocolo de diurese salina agressivo, associado a múltiplas pequenas doses de STZ tem sido preconizado com sucesso em cães com insulinoma sem ocorrência de falência renal ou óbitos.

#### Tratamento cirúrgico

O tratamento inicial de eleição no insulinoma em cães e gatos é cirúrgico. Antes de submeter o paciente à cirurgia, um adequado controle dos sinais clínicos é necessário. O objetivo geral do tratamento cirúrgico é remover o máximo de tecido alterado, seja uma massa única no pâncreas ou sítios de metástases em órgãos distintos. Cerca de 90 % dos casos apresentam massas únicas facilmente visíveis em uma laparotomia exploratória. Em alguns casos não é possível identificar anormalidade alguma durante uma abordagem cirúrgica, mesmo na presença de hipoglicemia e hiperinsulinemia. Nesses casos, às vezes após meses ou anos, é que vem a surgir alguma alteração (massa pancreática) visível ou palpável. Esses pacientes costumam viver relativamente bem por meses, às vezes anos, apenas com tratamento médico. Por essa razão, não é recomendada eutanásia nos casos em que durante a abordagem cirúrgica, detectam-se diversas metástases ou tumores não-operáveis, uma vez que ainda existem possibilidades terapêuticas para esses pacientes.

A pancreatite é a principal complicação do tratamento cirúrgico, e algumas medidas além da manipulação suave do pâncreas são recomendáveis para reduzir a ocorrência de pancreatite, observada em cerca de 15 % dos animais operados. A administração de fluidos com glicose entre 2,5 e 5 % (60 a 100 mL/kg por dia) e nada por via oral antes, durante e

após 24 a 48 horas da cirurgia, seguida de administração de dietas pobres em gordura durante a próxima semana minimizam bastante a chance de ocorrência de pancreatite. A reintrodução de alimentos por via oral deve iniciar-se lentamente após 24 a 48 horas da cirurgia através da administração de pequenas quantidades de água e conforme resposta clínica do paciente.

Outras complicações da retirada de um tumor pancreático são: diabetes mellitus (em decorrência da atrofia das demais células beta pancreáticas, o que é temporário) e hipoglicemia persistente (resultado da atividade de metástases não identificadas durante a cirurgia). A resposta clínica no tratamento cirúrgico realizado com sucesso é excelente e recupera plenamente a qualidade de vida do paciente, promovendo a cura do problema. No entanto, devido ao elevado grau de malignidade destes tumores e às metástases presentes no momento do diagnóstico em decorrência da demora em chegar-se a um diagnóstico definitivo, a cura é temporária na maioria dos casos. Pacientes que tiveram seu problema resolvido com a cirurgia devem permanecer persistentemente com glicemias superiores a 70 mg/dL. A fructosamina sérica é outra ferramenta útil para o controle do sucesso do tratamento. Contudo, cerca de 10 a 15 % dos casos sofrem eutanásia ou morrem dentro de um mês da cirurgia em decorrência de severa doença metastática, 20 a 25 % dos casos morrem ou sofrem eutanásia em até 6 meses pelos mesmos motivos. O percentual restante (60 a 70 % dos casos) vive sem sinais clínicos por mais de 6 meses, às vezes mais de um ano, antes da recidiva dos sinais clínicos. A sobrevivência média pós-cirurgia varia de 6 a 18 meses de acordo com o estado do tumor e a detecção de metástases durante a cirurgia.

## Síndrome da vaca caída

Este transtorno, também denominado de paresia idiopática da vaca parida, está caracterizado porque o animal no fim da gestação ou logo após o parto é incapaz de levantar-se espontaneamente.

### Etiologia

Não se conhece a etiologia deste padecimento, embora seja predisponente em animais com deficiência de energia, com gestações gemelares, em idade avançada, em animais de alta produção, em vacas com exagerado intervalo entre partos ou com excessiva condição corporal ao parto (> 4,0), em casos de lesões traumáticas peripélvicas no parto, em lesões dos nervos isquiático e obturador e em necrose isquêmica de grandes massas musculares por traumatismos.

Uma hipótese assinala que estados de hipocalcemia aumentam a permeabilidade da membrana celular das fibras musculares, permitindo a perda de potássio da célula e causando miotonia, base celular da síndrome da “vaca caída”. Essa opinião é respaldada pelos altos níveis séricos e baixos níveis musculares de potássio observados em animais em decúbito.

### Sinais clínicos

Os animais afetados podem não apresentar sinais clínicos evidentes, como febre, falta de apetite ou perda da consciência e podem conservar os reflexos podal e caudal. Em alguns animais pode haver elevação da frequência cardíaca ou até arritmia e taquicardia. A função renal pode apresentar proteinúria por causa da severa lesão muscular. Em outros animais, os sintomas são mais severos, com decúbito lateral e a cabeça virada

para trás, que com o tempo pode terminar em leve tetania e perda da consciência por dano cerebral.

A sintomatologia clássica da paresia idiopática com atividade sensorial se manifesta por queda intempestiva do animal poucos dias antes do parto ou até 5 dias após. No início, a produção de leite não sofre diminuição considerável. O curso da doença é agudo com o quadro complicando rapidamente, de forma que, se o animal não se levanta nas primeiras 72 horas, é pouco provável que consiga depois, devido à deficiência energética pela falta de consumo de alimento e pelo dano muscular por decúbito. O diagnóstico está baseado pela queda do animal com presença de atividade sensorial e pela apresentação do quadro no periparto, tendo prognóstico desfavorável. Na necropsia, pode ser observada lesão traumática de músculos e nervos das extremidades, miocardite e infiltração e degeneração gordurosa do fígado.

O decúbito, em bovinos, pode ter diversas causas nem sempre passíveis de identificar, podendo agrupar-se, de acordo com a sua natureza, em metabólicas, sépticas, reprodutivas e traumáticas, entre outras. Entre as causas metabólicas, estão hipocalcemia, cetose, hipomagnesemia, hemoglobínúria puerperal, coma hepático e desnutrição. Entre 80 e 90 % das vacas que permanecem em decúbito ao parto, ocorre um quadro de hipocalcemia, sendo que 70 a 80 % delas respondem ao tratamento com soluções de cálcio, e 10 a 20 % não respondem ao primeiro tratamento por complicações secundárias.

O diagnóstico diferencial envolve outras doenças que causam decúbito, tais como leucemia, traumas, tetania, coma hepático, cetose, caquexia e doenças consumptivas (paratuberculose, salmonelose, hemoparasitas).

Na bioquímica sanguínea, observam-se valores normais de cálcio, fósforo, magnésio

e glicose. Os níveis de creatina quinase (CK), aspartato transaminase (AST) e potássio podem estar muito elevados, especialmente nas primeiras 24 horas do decúbito e podem continuar aumentando nos dias seguintes por conta do dano muscular contínuo.

### Tratamento

O tratamento é paliativo, fornecendo quantidades consideráveis de soluções multiminerais, procurando manter altos níveis de cálcio e fósforo. Deve ser administrada uma fonte energética, como o propileno-glicol, e avaliado o prognóstico mediante perfis bioquímicos (enzimas) para justificar ou não a eutanásia.

A detecção e o tratamento oportunos devem reduzir a incidência e gravidade da síndrome. Em condições ideais, as vacas devem ser tratadas durante a primeira etapa da puerperal antes que o decúbito lateral ocorra. Se os animais estão alerta, e o caso tem menos de 24 horas, é urgente o tratamento imediato e procurar deixar o animal em cama ou superfície branda e seca, além de provocar movimento contínuo mediante laços. São frequentes sequelas como mastite e retenção de placenta, com severas consequências sobre a reprodução posterior.

### Laminite

Este transtorno metabólico também é conhecido como pododermatite puerperal tóxica. Até recentemente era considerada uma patologia dos equinos, mas atualmente se considera em bovinos como uma resposta alérgica a situações de acidose metabólica, retenção de placenta ou metrite. A laminite é a inflamação da lâmina própria do córion com curso agudo, a qual ocasiona lesões no casco, dor marcada e lesão podal, deixan-

do o animal em decúbito, inapetente e com febre contínua. A doença é mais frequente ao redor do parto ou até 72 horas depois de indigestão com grãos (acidose). Estas afecções podais estão presentes em todo tipo de produção, seja pastoril ou confinada. Pode afirmar-se que, depois dos problemas reprodutivos, da mastite e dos problemas na qualidade do leite, a laminite é uma das mais importantes causas que afetam a produtividade das vacas leiteiras, provocando importantes perdas econômicas.

Em bovinos, o transtorno é mais comum em animais jovens, mas é observado também em adultos. Ocorre principalmente em animais que passam a receber dietas com grãos sem adaptação prévia a esse tipo de alimento e em vacas leiteiras que ingerem quantidades excessivas de alimentos concentrados. Também ocorre esporadicamente em bovinos de corte que são preparados para exposições e em touros de centrais de reprodução, os quais apresentam a forma crônica da enfermidade, que afeta a marcha e pode causar lesões permanentes nos cascos. A prevalência muitas vezes está associada a surtos de acidose, mas nem sempre são observados sinais clínicos. É uma enfermidade endêmica em alguns rebanhos leiteiros de alta produção e em animais de engorda, associada a acidose ruminal clínica ou subclínica.

Casos de laminite subclínica, os quais predispoem ao desenvolvimento de outras enfermidades do casco, ocorrem também em bezerras e novilhas de primeira cria. A ocorrência de laminite condicionada pela hereditariedade de um gene recessivo autossômico em novilhas da raça Jersey é citada na bibliografia, mas na rotina clínica o diagnóstico é difícil de se realizar. Por outro lado, a conformação corporal dos indivíduos pode ter ligação com a genética: dígitos pequenos em relação ao peso corporal, pouca angulação do casco, além do sobrepeso podem favorecer a ocorrência de laminite.

Em geral, entre os bovinos leiteiros, as novilhas são as mais acometidas e a doença apresenta-se comumente logo após a parição (até os três primeiros meses pós-parto), ocorrendo em mais de 50 % dos casos nos primeiros trinta dias após o parto. Pode haver relação com a introdução de um animal novo no rebanho, frequentemente incomodado por vacas dominantes. Os sistemas tipo *free-stall* ou *tie-stall* em piso de concreto, principalmente se for abrasivo ou deteriorado, bem como a falta de exercício da vaca submetida ao confinamento nesses sistemas, lotação, cama de má qualidade, acúmulo de umidade, fezes, barro e estresse calórico são condições que podem causar desconforto à vaca, predispondo a quadros clínicos de laminite.

#### Etiologia

A etiologia da laminite é tão variada como incerta: causas infecciosas, causas genéticas, traumáticas, de manejo, topográficas, ambientais, nutricionais (excesso de proteína e de glicídeos), mudanças bruscas da dieta, deficiência de aminoácidos essenciais, deficiência de selênio, cobre e vitamina E, entre outras. Menciona-se que a origem desta doença vascular pode ser por uma coagulação intravascular, produto das toxinas bacterianas quando o caso é infeccioso, ou por acúmulo de lactato e lesão distal nos membros afetados.

As causas nutricionais sobre a patologia podal da vaca leiteira podem ser divididas em dois grandes grupos:

- (a) Erros na alimentação ou contaminação dos alimentos, que produzem distúrbios no metabolismo do tecido podal.
- (b) Deficiências nutricionais específicas que podem diminuir a capacidade de defesa física

ou imunológica dos tecidos podais. Essas causas reconhecem duas origens: (1) substâncias produzidas por alteração na fermentação ruminal (ácido láctico, amônia, histamina, endotoxinas bacterianas), ou (2) substâncias tóxicas presentes em alimentos mal conservados (subprodutos de destilaria, cama de frango e micotoxinas, entre outros).

Os principais fatores de risco que favorecem o desencadeamento da laminite são:

- Consumo exagerado de alimentos concentrados, com altos níveis de carboidratos e proteína acima de 60 % da matéria seca, especialmente quando ocorre mudança brusca da ração de manutenção para ração de produção ou fornecimento de ração de produção para animais não adaptados, como é o caso de novilhas recém-paridas. Estas condições de dieta, que favorecem a alta fermentação no rúmen, podem levar a uma acidose ruminal. Quando a acidose ruminal tem evolução crônica e persistente, ocorre como consequência a laminite com discretos sinais clínicos, devido à produção e absorção de toxinas bacterianas e outras substâncias vasoativas que, agindo na microcirculação podal, causam isquemia nas lâminas dérmicas dos dígitos.
- Grãos da ração muito moídos (partículas < 2,5 cm), condição que reduz a ruminação e, em consequência, a produção da saliva, que é um importante tamponante do conteúdo ruminal, levando a risco de acidose ruminal.
- Reduzido fornecimento de volumoso e de qualidade em relação ao concentrado.
- Presença de micotoxinas na ração.
- Infecções sistêmicas como metrite, retículo-pericardite e inflamação dos estômagos.
- Má formação nos cascos e defeitos de aprumo.

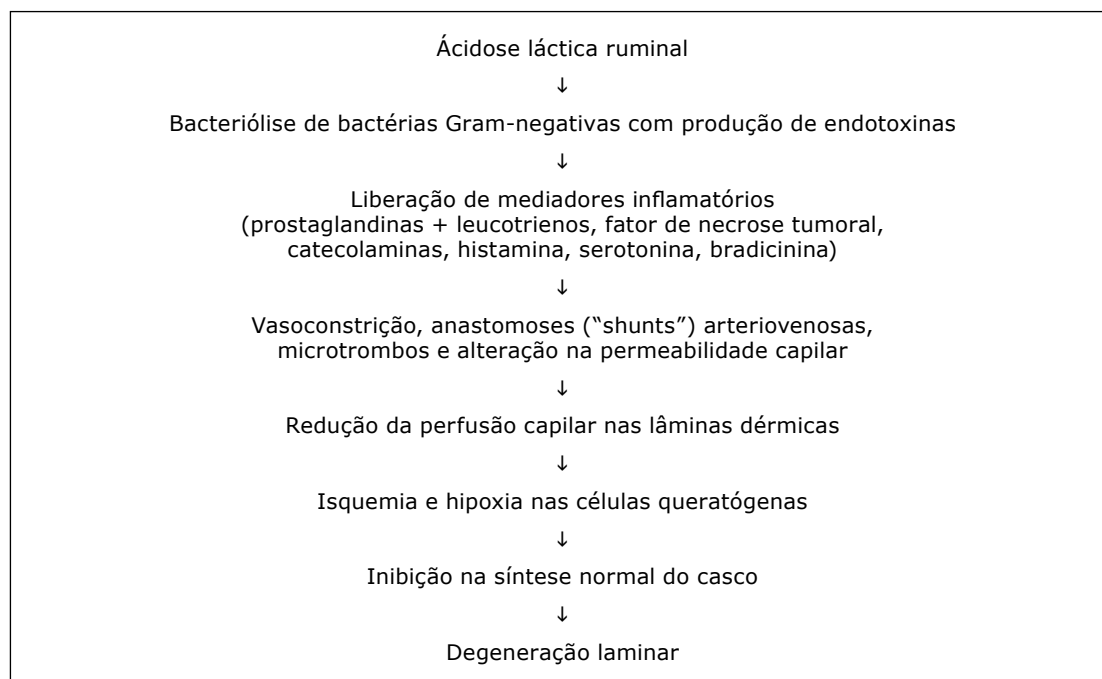
## Sinais clínicos

Os sinais clínicos são característicos e facilitam seu diagnóstico: dor e calor à palpação do casco e aumento das pulsações das artérias digitais. O diagnóstico diferencial deve considerar lesões musculares, reumatismo e paralisia do nervo radial, embora nesses casos não haja dor nem aumento do pulso arterial. No organismo, pode haver indícios de acidose ou de infecção uterina. Uma situação única em casos de laminite é a rotação da terceira falange.

A lesão básica da laminite é a separação das lâminas epidérmicas do casco das lâminas sensitivas (lâminas dérmicas e córion laminar) da 3ª falange. As alterações hemodinâmicas ocorrem nos capilares digitais presentes nas lâminas dérmicas e no córion laminar do casco. Essas estruturas são as últimas a receberem suprimento sanguíneo e têm mínima circulação colateral, sendo as porções mais sensíveis à isquemia, que resul-

ta no aporte insuficiente de nutrientes e na inadequada formação das lâminas epidérmicas. Essas lesões resultam em separação e perda do estojo córneo, especialmente na forma aguda da enfermidade. Abaixo do tecido córneo existe uma completa rede de vasos sanguíneos que podem sofrer danos sérios, incapacitando os tecidos responsáveis por produzir o tecido córneo da unha. Com isso, o tecido córneo se deteriora, tornando-se muito vulnerável. Há extravasamento de líquido dos vasos sanguíneos e a parte mole do casco aumenta de volume, causando muita dor e desconforto para o animal. Na forma crônica ocorre uma resposta proliferativa dos queratinócitos, levando a hiperplasia das lâminas epidérmicas e, em consequência, crescimento anormal e deformação dos cascos.

No Esquema 1 a seguir resume-se a etiopatogenia da laminite relacionada à acidose láctica ruminal:



**Esquema 1** – Etiopatogenia da laminite relacionada à acidose ruminal.

Deve-se suspeitar de laminite subclínica caso:

- a) Mais de 10 % das vacas adultas mostrem claudicação no período de um ano por causas que não sejam flegmão interdigital ou dermatite digital papilomatosa.
- b) Mais de 50 % de todos os casos de claudicação ocorram nos primeiros 60 dias pós-parto.
- c) Mais de 5 % das vacas apresentem úlcera de sola.
- d) Mais de 25 % das vacas em lactação tenham hemorragia de sola.
- e) Haja alta prevalência de erosão dos talões/sola dupla/rachaduras no estojo córneo.

#### Tratamento

O tratamento está baseado na remoção do agente etiológico, geralmente supressão de grãos e uso de anti-histamínicos e/ou corticosteroides por dois a três dias e de antibióticos no caso de infecção. Recomenda-se o uso de metionina, aminoácido essencial para a formação do colágeno, ducha fria nos membros afetados, terapia líquida e analgésicos, laxantes ou diuréticos.

A percentagem de cura e rápida recuperação das lesões pode ser alta desde que se façam intervenções corretas. O tratamento deve ser iniciado o mais rápido possível, buscando remover a causa ou fator predisponente e o alívio da dor. A primeira medida após a constatação do problema é a remoção do animal para um piquete com forragem e água de boa qualidade, sem oferta de concentrado. Quando a causa estiver associada a distúrbio do sistema digestivo, deve ser combatida a toxemia, o indivíduo deve ser mantido hidratado e em equilíbrio acidobásico. Portanto, a causa primária

(metrite, acidose ruminal, entre outras) deve ser tratada intensivamente.

O controle da dor deve ser feito à base de analgésico e anti-inflamatórios não esteroides (AINE): ácido acetilsalicílico (15 a 100 mg/kg oral 2 vezes/dia), flunixin meglumine (1,1 a 2,2, mg/kg/dia IV durante 3 dias) ou fenilbutazona (4,5 a 9,0 mg/kg IV ou IM cada 48 horas ou 10 mg/kg/oral cada 48 horas, repetindo 2 ou 3 vezes).

Pode ser utilizada na laminite aguda, nas primeiras 48 horas do quadro clínico, terapia com aplicação de água gelada nos membros afetados. Esse procedimento deve ser instituído, colocando o animal em um local que permita submergir os membros até a altura do carpo/tarso, mantendo 6 horas de tratamento, por uma hora de repouso.

Nos casos mais graves, os procedimentos são cirúrgicos e requerem anestesia local. A técnica anestésica mais utilizada é a injeção endovenosa de um anestésico local (cerca de 10 a 20 mL de lidocaína a 2 %), aplicado na veia digital dorsal plantar/palmar após a colocação de torniquete (manguito de borracha) na região metacarpiana/metatarsiana. Os casos de processos purulentos, independentemente da localização, devem ser tratados por ressecção da lesão e drenagem do exsudato com eliminação dos tecidos necrosados. Quando já existe tecido de granulação, é necessário removê-lo. Muitas vezes é aconselhável o uso de antibioticoterapia parenteral, durante três dias, e amputação da falange, caso o processo seja grave e profundo. O corte da unha lesada é muitas vezes recomendado, já que permite o descanso e o alívio do peso. Sua retirada total deve ser feita sempre com uma rineta afiada, procurando-se provocar o mínimo de hemorragia, mas promovendo uma limpeza profunda dos tecidos necrosados. Só assim poderá se esperar uma cicatrização rápida e adequada. Nos casos de úlceras

da sola, deve-se reduzir ao máximo a pressão, fazendo casqueamento adequado e ressecção do tecido de granulação. Caso o clínico resolva usar bandagens, elas devem ser renovadas periodicamente para se manterem secas, podendo ser um bom recurso terapêutico. A taxa de recuperação com o uso de bandagens é maior, especialmente nas duas primeiras semanas de tratamento. Alguns clínicos, ainda assim, optam por não utilizar bandagens pela pressão sobre a lesão e umidade no local, o que pode propiciar infecção secundária e retardamento da cicatrização.

A erosão do talão deve ser tratada por remoção dos tecidos córneos necrosados, retirada das fissuras (se presentes), aplicação de adstringentes ou antibióticos em *spray* e alojamento do animal em local limpo e seco.

Para as úlceras de pinça não existem referências consistentes de tratamento. Eliminar o apoio do casco doente é muitas vezes a chave do tratamento das lesões podais. A cura pode ser obtida pela colocação de tamancos nas unhas sadias, aliviando assim a dor e a pressão sobre a unha doente. Essa conduta deve ser realizada depois de feito o nivelamento das unhas sadias, para melhorar seu apoio, com grossa manual ou disco de lixa adaptado à furadeira elétrica. O tamanco de 11 a 13 cm de comprimento por 2,5 cm de espessura deve se fixado com cola ou cravos de ferradura.

Na laminite crônica em bovinos, assim como em todos os tipos de laminite em equinos, a recuperação do animal é bastante demorada e de prognóstico, muitas vezes, incerto, dependendo da origem do problema (alimentar ou infeccioso). Em bovinos, o prognóstico é favorável. As claudicações cedem em até 72 horas, a menos que sofram processos necrosantes.

## Controle

O controle da laminite deve levar em consideração os seguintes aspectos: (1) manutenção dos cascos; (2) alimentação com rações adequadas; (3) conteúdo de fibra detergente ácido (FDA) de pelo menos de 21 % da matéria seca, e fibra detergente neutro (FDN) de pelo menos de 28 % da matéria seca; (4) no máximo, 40 % da composição da ração devem ser de glicídeos não-estruturais (grãos).

Para evitar o aparecimento da enfermidade, a alimentação dos animais com grãos deve ser controlada, associando-se forragem verde à dieta. Um dos melhores métodos para prevenção é a adoção de medidas que evitem a acidose láctica ruminal, o que pode ser feito através de um adequado esquema de adaptação para animais que receberão dietas altamente concentradas e do uso de produtos alcalinizantes (bicarbonato ou carbonato de cálcio) na ração.

Evitar o confinamento de animais muito novos também pode ser indicado para diminuir a incidência da doença, em função do efeito deletério sobre a saúde dos cascos para bovinos de corte abaixo dos 14 meses de idade.

Alguma proteção contra a laminite de bovinos sob criação intensiva é obtida adotando medidas de cuidado com os cascos, como casqueamento periódico, assim como pelo planejamento cuidadoso do piso dos estábulos e locais onde os animais são mantidos ou manejados, tornando-os mais confortáveis e menos prejudiciais aos cascos.

A suplementação na dieta com biotina (20 mg/animal/dia) ou com minerais pode diminuir a incidência de alterações de cascos em vacas leiteiras, mas essas alternativas devem ser testadas para cada propriedade e severidade da ocorrência, para avaliação da eficácia como estratégia profilática, bem



como para que a avaliação custo-benefício seja considerada.

### **Deslocamento de abomaso (DA)**

O deslocamento do abomaso consiste em um reposicionamento do quarto estômago dos bovinos com relação à linha média ventral. A situação é derivada da dilatação do abomaso por gás ou por água, que leva a uma migração da sua posição normal. A torção ocorre com maior frequência (90 %) do lado esquerdo (torção esquerda de abomaso) do que do lado direito (10 %). Este transtorno apresenta-se em animais sob estresse ou submetidos a dietas ricas em grãos. É relatada como desordem digestiva em 5 % das vacas que parem. A ocorrência do deslocamento de abomaso para esquerda ou direita é comumente encontrada em animais de grande porte e de alta produção leiteira após o parto. Aproximadamente 90 % dos casos ocorrem até seis semanas após o parto. A prevalência desta doença varia dependendo da localização geográfica, práticas de manejo e clima, entre outros fatores. A perda econômica relacionada à doença inclui queda na produção de leite durante o período de convalescência e o custo da cirurgia.

#### **Etiologia**

A torção de abomaso está associada a problemas no manejo alimentar, tais como excesso de grãos no período de transição (periparto), pobre qualidade do alimento, estresse meio-ambiental ou social, hipocalcemia, retenção de placenta, metrite, cetose, condição corporal acima de 4,5 ao parto e rápida perda de condição corporal após o parto, misturas inadequadas no tamanho físico da partícula na RTM e baixo conteúdo de fibra (<21 % de FDN).

O deslocamento de abomaso é uma síndrome multifatorial em que a atonia abomasal é um pré-requisito absoluto para a sua ocorrência. O gás produzido pela fermentação microbiana distende o abomaso e provoca o deslocamento. Dos muitos fatores associados à torção de abomaso, o tipo de dieta é dos principais. Altos níveis de concentrados ou glicídeos fermentáveis diminuem as contrações do abomaso e aumentam a produção de ácidos graxos voláteis que se acumulam no abomaso, levando à distensão por acúmulo de gás. A patogenia da desordem digestiva associa-se com diminuição da contração do músculo liso, razão pela qual a hipocalcemia pode estar sendo uma das causas.

#### **Fatores predisponentes**

Existe uma relação direta entre o balanço energético negativo no pré-parto, refletindo um aumento na concentração de ácidos graxos não-esterificados, e a ocorrência de deslocamento de abomaso para esquerda. Vacas alimentadas com dietas altamente energéticas (>1,65 Mcal de energia líquida/kg de matéria seca) durante o período seco tornam-se obesas, o que pode resultar em um declínio no consumo de matéria seca no momento do parto. A cetose diagnosticada antes do deslocamento de abomaso também está fortemente associada com a ocorrência do deslocamento de abomaso, uma vez que ocasiona redução no consumo de matéria seca, que reduz o preenchimento ruminal, reduzindo a motilidade dos demais estômagos e, potencialmente, a motilidade do abomaso. Um volume ruminal pequeno oferece menor resistência para o deslocamento de abomaso.

O fornecimento de altos níveis de concentrado (grãos) aumenta a passagem ruminal, o que causa um aumento na concentração de ácidos graxos voláteis, podendo inibir

a motilidade do abomaso. O grande volume de metano e dióxido de carbono encontrado no abomaso após a ingestão de grãos pode ficar preso no abomaso, causando sua distensão e deslocamento. Uma concentração de fibra bruta na dieta menor que 16-17 % é considerado um fator predisponente ao deslocamento de abomaso.

No desenvolvimento da doença está o fato de que, logo após o parto, com a saída do terneiro e os fluídos, existe uma predisposição anatômica para o abomaso deslocar-se para o espaço vazio. Existem doenças associadas que predispoem ao deslocamento de abomaso, resultando em anorexia e inapetência, com diminuição do volume ruminal. Úlceras abomasais, cetose e lipidose hepática são doenças normalmente associadas com deslocamento de abomaso. A cetose é a doença que mais comumente está associada com deslocamento de abomaso.

Fatores estressantes, como altas temperaturas ou umidade, podem predispor ao deslocamento de abomaso, visto que durante os meses de verão a ingestão de matéria seca é comprometida. O estresse também prejudica o sistema imune, diminuindo a resposta contra doenças infecciosas, como a mastite e metrite. A herdabilidade desta patologia foi estimada em aproximadamente 28 %.

#### Sinais clínicos

O deslocamento de abomaso para esquerda ocorre no período de duas a oito semanas pós-parto. Animais com esta patologia apresentam redução de apetite acompanhada por uma diminuição progressiva da produção de leite. Os animais apresentam uma queda brusca no consumo de grãos enquanto ainda continuam consumindo forragens. Cetose pode ocorrer em diversos níveis de gravidade. As fezes apresentam-se moles e reduzidas, com

períodos de diarreia. O abdômen apresenta “colabada” a parede lateral esquerda, pois o rúmen se encontra deslocado medialmente. A temperatura retal e as frequências cardíaca e respiratória encontram-se normais na maioria dos casos. Pode ocorrer uma arritmia cardíaca provocada pela alcalose metabólica, mas assim que a correção do deslocamento é realizada, a frequência cardíaca volta aos parâmetros normais. Os movimentos ruminais apresentam-se diminuídos na sua frequência e intensidade. No exame de palpação retal, uma sensação de esvaziamento da porção superior direita do abdômen pode ser observada. Animais com um quadro agudo de vólvulo ficam deitados 24 horas após o episódio, e a morte ocorre entre 48-96 horas devido ao choque e desidratação. A ruptura do abomaso pode ocorrer e ocasionar morte súbita.

No deslocamento de abomaso para a direita, a sintomatologia é geralmente mais aguda, com alteração grave do estado geral, devido à ocorrência de torção do órgão. As fezes podem estar líquidas ou ausentes. O flanco direito pode se apresentar aumentado de volume, sendo que em alguns casos o abomaso deslocado pode ser palpado através do exame retal. Estes animais encontram-se muito deprimidos, com graves alterações do equilíbrio acidobásico, hipotermia e disfunção cardíaca.

É comum a associação do deslocamento de abomaso com doenças como metrites, mastites, retenção placentária e hipocalcemia. Assim, além da avaliação do sistema digestivo, devem ser diagnosticadas possíveis alterações associadas, as quais podem estar atuando como fator predisponente.

O deslocamento de abomaso para a esquerda, ou para a direita não complicada, não representa geralmente um risco imediato de vida para o animal, exceto quando acompanhada de torção do órgão. A torção do abomaso quando completa provoca uma

supressão da irrigação do órgão, com risco de necrose e produção de toxinas, sendo que geralmente o animal apresenta grave alteração do estado geral.

#### Patologia clínica

No hemograma de animais com deslocamento de abomaso para esquerda, não existe uma alteração drástica nos valores de referência. Pode haver uma leve hemoconcentração com elevação dos valores para hemoglobina e de proteína total. Em animais com deslocamento de abomaso para direita ou vólculo, ocorre uma hemoconcentração, assim como uma alcalose metabólica, com hipocloremia e hipocalemia. No hemograma, podem ser encontradas, no estágio inicial, estruturas compatíveis com estresse na diferenciação de leucócitos. Nos estágios mais prolongados de vólculos, pode haver leucopenia com uma neutropenia devido à necrose isquêmica do abomaso e começo de peritonite. A avaliação da frequência cardíaca, estado de desidratação, período de inapetência e avaliação sérica da fosfatase alcalina são bons indicadores do prognóstico pré-cirúrgico.

Valores de AST acima de 180 U/L e valores de  $\beta$ -hidroxibutirato entre 1,0-1,6 mmol/L podem estar associados com ocorrência de deslocamento de abomaso. A hipocalcemia também é uma patologia predisponente ao deslocamento de abomaso. Os níveis sanguíneos de cálcio afetam diretamente a motilidade do abomaso. A motilidade abomasal pode estar comprometida com níveis sanguíneos de cálcio total inferiores a 1,2 mmol/L (valor de referência: 2,5-3,0 mmol/L).

Uma hiperbilirrubinemia pode ser observada em vacas com deslocamento de abomaso. Em casos de deslocamento para a esquerda, essa alteração parece ocorrer em

razão da mudança na posição anatômica do abomaso e omento, enquanto no deslocamento para a direita, essa parece decorrer do refluxo duodeno-abomasal.

A glicemia pode estar aumentada devido à liberação de glicocorticoides, mas também pode aparecer diminuída ou normal, não apresentando importância para o diagnóstico de deslocamento de abomaso. Se a glicose encontrar-se aumentada, pode-se encontrar glicosúria (que ocorre com alguma frequência no deslocamento à direita).

A acetonúria está presente com relativa frequência, revelando a presença de uma acetonemia. Posteriormente e mantendo-se essa situação, desenvolve-se uma acidose metabólica grave.

#### Diagnóstico

Nos casos de deslocamento de abomaso para esquerda, o diagnóstico pode ser realizado através da auscultação e percussão do flanco esquerdo, localizando-se o som metálico característico de “ping”. A maioria dos deslocamentos pode ser encontrada no meio de uma linha imaginária estabelecida entre a tuberosidade coxal esquerda e o cotovelo esquerdo. O tamanho e a localização do “ping” varia de acordo com a quantidade de gás contido, a pressão exercida sobre o abomaso pelo rúmen e também pelo tamanho do animal. O “ping” pode estar localizado desde a nona costela até a fossa paralombar esquerda. Caso exista dúvida na origem do “ping” entre rúmen, cavidade abdominal ou abomaso, pode-se realizar uma aspiração do líquido presente na região de gás e aferir o pH que deve diferenciar entre rúmen (pH 6-7) e abomaso (pH 2-3).

Nos casos de deslocamento de abomaso para direita, as técnicas de diagnóstico são as mesmas do deslocamento de abomaso para

esquerda. Deve-se ter o cuidado de diferenciar quaisquer outras patologias que possam provocar o “ping” no flanco direito. A mais comum é a dilatação e/ou torção do ceco que, através da palpação retal, pode ser diferenciada.

Como auxiliar no diagnóstico de deslocamento de abomaso, pode ser realizado exame de ultrassom. Na cavidade abdominal direita, observa-se ventralmente o abomaso, numa porção média o intestino delgado e dorsalmente o fígado. Em animais com deslocamento abomasal para a direita, o fígado é deslocado da parede abdominal e não pode ser visualizado devido à presença do abomaso numa posição dorsal. No deslocamento para a esquerda, pode-se perceber um distanciamento entre a parede abdominal e o rúmen devido à localização do abomaso entre essas estruturas, quando realizada ultrassonografia entre os últimos espaços intercostais do lado esquerdo da cavidade abdominal.

#### Tratamento

Os objetivos do tratamento do deslocamento de abomaso são:

1. Devolver o abomaso a sua posição original ou aproximada.
2. Criar uma ligação permanente nesta posição.
3. Corrigir o balanço eletrolítico do animal e desidratação.
4. Providenciar tratamento para doenças associadas.

O método cirúrgico parece ser a metodologia mais benéfica. Na técnica de cirurgia fechada, o animal é colocado em decúbito dorsal, e o abomaso identificado por auscultação e percussão. As suturas são colocadas através da parede abdominal com agulhas curvas em “C”. Nenhuma das técnicas permite a identifi-

cação exata do local de fixação do abomaso, e existe a possibilidade de vazamento de líquido abomasal no abdômen.

Todos os animais com deslocamento de abomaso ou vólculo apresentam algum déficit eletrolítico. Potássio e cálcio são importantes para a manutenção da função muscular e devem ser mantidos em níveis normais. Pode-se prever que algum grau de hipocloremia e alcalose metabólica vai estar presente. A composição do fluido administrado pode ser ajustado conforme o perfil bioquímico desses animais. Soluções isotônicas salinas e Ringer são comumente utilizadas e funcionam muito bem. O volume de líquido a ser administrado vai depender do grau de desidratação do animal. A hidratação oral pode ser utilizada após o procedimento cirúrgico, mas não é substituível à administração endovenosa quando o animal apresenta um grau de desidratação igual ou maior do que 8 %. Combinações de NaCl e KCl podem ser oferecidos em líquidos pela via oral de forma livre.

A utilização de antimicrobiano fica a critério do médico veterinário, que deve levar em consideração o tempo do procedimento, a assepsia do tratamento cirúrgico e a manipulação que foi realizada no procedimento. A técnica da acupuntura também pode ser utilizada na correção do deslocamento de abomaso para a esquerda. A metodologia de eletroacupuntura foi capaz de solucionar dez entre doze casos de deslocamento de abomaso, sendo considerada uma técnica segura, barata e prática para a correção desta patologia em bovinos leiteiros (Kwang-ho, 2003).

#### Controle

Como se trata de uma doença multifatorial, a prevenção deve ser feita através da identificação, quando possível, dos fatores predisponentes. O fator principal a ser con-

siderado é o manejo nutricional do rebanho. Devem-se evitar animais obesos no estágio final de gestação e garantir um manejo efetivo de cocho nesse período. Devem ser evitados os animais em balanço energético negativo, proporcionando-lhes dieta adequada. Garantir aos animais uma fonte de fibra efetiva para que o rúmen possa estar sempre repleto tornando-se, portanto, uma barreira física para o deslocamento de abomaso. A dieta no período final de gestação deve conter no mínimo 17 % de fibra bruta, evitando também uma acidose ruminal pelo incremento na ingestão de grãos nesse período. As dietas de transição devem ser adequadas, reduzindo as chances de indigestão. Entre essas pode ser citado o fornecimento de alimento na forma de ração total (Total Mix Ration), o que gera um aumento de 12 a 24 % na ingestão de matéria seca nas três primeiras semanas de lactação, comparado ao fornecimento de concentrado e forragem separadamente.

Todas as doenças que ocorrem no período pós-parto devem ser imediatamente solucionadas (metrite, mastite, retenção de placenta, cetose). Qualquer fator que esteja levando a problemas de hipocalcemia deve ser corrigido.

## **Diabetes mellitus**

O nome de diabetes foi dado originalmente pelos gregos e significa “passar através de um sifão”, em referência ao sintoma de poliúria. A doença foi descrita por Areteo, que acreditou que o problema radicava nos rins. Os chineses a chamaram “doença da sede”, e os indianos, “urina de mel”. Charaka e Susruta, na Índia, descreveram aspectos da doença, como seu caráter hereditário e sua relação com a obesidade. Cullen, em 1774, propôs o nome de diabetes mellitus para diferenciá-la da diabetes insípida, origina-

da pela deficiência de vasopressina (ADH). Cawley, em 1788, foi o primeiro a sugerir a relação do pâncreas com a diabetes.

Vários eventos no século XIX contribuíram para o avanço do conhecimento da diabetes mellitus. Em 1815, Chevreul identificou a glicose como sendo o açúcar da urina. Em 1836, Ambrosiani descobriu que a glicose sanguínea estava elevada nos pacientes diabéticos. Trommer, em 1841, e Fehling, em 1848, desenvolveram métodos rápidos de análise de glicose no sangue. Em 1851, Peters encontrou acetona na urina de diabéticos, e Pavy, em 1862, estabeleceu a relação entre hiperglicemia e glicosúria. Stadelhman, em 1883, identificou a presença do ácido beta-hidroxibutírico no sangue de diabéticos, o que permitiu a Naunyn estabelecer uma explicação para o quadro de acidose encontrado na diabetes.

A espécie canina teve uma grande importância nos estudos sobre diabetes e na descoberta da insulina. Em 1682, Bruner verificou que a retirada do pâncreas provocava poliúria e polidipsia, mas Von Mering e Minkowski demonstraram que a pancreatectomia provocava diabetes no cão somente em 1869, mesmo ano em que Paul Langerhans descrevia pela primeira vez as ilhotas pancreáticas, porém sem sugerir qualquer função para elas. Durante anos, muitos pesquisadores tentaram desvendar a função das ilhotas e a relação do pâncreas com o diabetes. Nas duas primeiras décadas do século XX, diversos grupos prepararam extratos pancreáticos, que obtiveram sucesso na redução da glicemia e glicosúria de cães tornados diabéticos por pancreatectomia. No entanto, os efeitos colaterais como sepse, febre, abscessos e intensa dor devido a impurezas, reações tóxicas e proteases presentes nos extratos inviabilizaram o uso desses extratos em pacientes humanos.

Baseado na observação de que cães submetidos a pancreatemia desenvolviam diabetes e cães que tinham o ducto pancreático ligado desenvolviam degeneração acinar sem qualquer prejuízo às ilhotas, poliúria, polidipsia ou glicosúria, Banting teve a ideia de ligar o ducto pancreático de cães, para causar degeneração acinar e testar o extrato do pâncreas remanescente no controle da diabetes de cães submetidos a pancreatemia. Em 1921, Banting e seus colaboradores Best e MacLeod obtinham os primeiros resultados em cães diabéticos. O extrato foi batizado de insulina (do latim: *insula* = ilha). Com auxílio do bioquímico Collip, Banting conseguiu a purificação do extrato em 1922, ocorrendo o primeiro sucesso em um teste com um paciente humano diabético, uma criança de 14 anos de idade. Em 1923, a equipe recebia o prêmio Nobel pela descoberta da insulina.

#### Tipos de diabetes mellitus

Sob o nome diabetes mellitus (DM) são agrupadas uma série de transtornos metabólicos caracterizados por hiperglicemia e glicosúria. A diabetes mellitus tem sido observada em quase todos os animais de laboratório, bem como em cavalos, vacas, ovelhas e porcos, mas a incidência é maior em cães e gatos. É estimada uma prevalência de um caso em cada 60 cães e cada 300 gatos. A prevalência nesses animais vem crescendo ano a ano, principalmente nos gatos, provavelmente em consequência dos sistemas de alimentação, que utilizam carboidratos em animais carnívoros, desafiando o pâncreas a produzir mais insulina.

São reconhecidos pelo menos dois tipos de diabetes mellitus em cães e gatos, diferenciados pelo tipo de resposta à insulina diante de uma administração de glicose:

a) Diabetes mellitus insulino-dependente (DMID), equivalente à diabetes mellitus tipo I ou juvenil dos humanos. Neste tipo de diabetes se observam baixos níveis de insulina sanguínea (até 36 pmol/L), com falta de resposta de insulina à administração de glicose. Em animais esta parece ser a forma mais comum, observada em cães velhos, maiores de 7 anos, sendo as fêmeas obesas as mais suscetíveis (aproximadamente o dobro dos casos) para apresentar o problema. Nos gatos é mais comum em machos velhos (> 9 anos) e castrados. A perda de função das células betapancreáticas é irreversível e os animais com DMID necessitam de terapia insulínica para sobreviver. Praticamente todos os cães e a maioria dos gatos estão nesse estágio de diabetes no momento do diagnóstico.

b) Diabetes mellitus não insulino-dependente (DMNID), equivalente à diabetes mellitus tipo II ou adulta dos humanos, em que são observados níveis de insulina normais (36-143 pmol/L), ou até acima do normal, porém sem resposta de insulina à administração de glicose. Em torno de 30 % dos casos de diabetes mellitus felina correspondem a esta forma. Os animais com DMNID podem ser tratados com dietas adequadas ou drogas hipoglicemiantes orais que estimulam as células betapancreáticas. Entretanto, estes animais devem ser mantidos sob observação, pois é provável que a DMNID (deficiência relativa de insulina) preceda à DMID (deficiência absoluta de insulina).

Na DMNID ocorre uma resistência periférica à insulina associada às vezes à disfunção das células  $\beta$ . Acredita-se que esses defeitos sejam de origem genética e são evidentes por até mais de uma década antes do início da doença clínica em humanos. Fatores como a obesidade podem acentuar o problema. A resistência hepática à insulina é potencialmente induzida por aumento nas concentrações séricas de ácidos graxos livres na

circulação portal, resultando em excesso de produção de glicose hepática e hiperglicemia pós-prandial persistente. A resistência muscular à insulina leva à diminuição da captação muscular de glicose após as refeições. Muitas alterações nos receptores à insulina, e nas vias de sinalização pós-receptor, contribuem para a resistência ao hormônio. Além disso, a secreção de insulina é reduzida, a qual é um dos principais pontos da patogênese da intolerância à glicose na DMNID. A terapia com insulina pode tornar-se necessária em face da severa resistência à insulina e da disfunção das células  $\beta$ . Alguns cães e gatos obesos são identificados com resistência à insulina associada à reduzida secreção do hormônio em uma forma semelhante à DM tipo II humana. Humanos com essa forma da doença são idosos e obesos, motivo pelo qual esta apresentação é também reconhecida por diabetes senil. Porém essa nomenclatura tem sido abandonada, uma vez que cerca de 30% dos novos casos em humanos são em crianças ou jovens adultos.

#### Etiopatogenia

Praticamente todos os cães apresentam DMID no momento do diagnóstico. Em cães, esse tipo é caracterizado por hipoinsulinemia acompanhada de falta de resposta de insulina após administração de um secretagogo como a glicose, total falha no controle glicêmico, salvo com dietas apropriadas e agentes hipoglicemiantes orais, e total necessidade de insulina para manutenção da glicemia. Diversos fatores estão envolvidos na etiopatogênese da DM em cães. Entre os fatores etiopatogênicos envolvidos, a predisposição genética tem sido sugerida por associações familiares e análises de pedigree. Algumas raças de cães têm mais predisposição a sofrer o transtorno (Samoyedo, Lhasa Apso, Poodle, Schnauzer miniatura, Pins-

cher) do que outras raças (Pastor Alemão, Pastor Inglês, Pastor Australiano, Pastor Collie, Golden Retriever, Cocker Spaniel, Labrador, Rottweiler).

Outros fatores potencialmente envolvidos são a insulite imunomediada, pancreatite, obesidade, antagonismos hormonais (hiperadrenocorticism, diestro, acromegalia) fármacos (glicocorticoides, estreptozotocina), infecções, doenças intercorrentes (insuficiência renal, doença cardíaca), hiperlipidemia e amiloidose nas ilhotas. A descoberta recente, de que cerca de 50 % dos cães diabéticos apresentam anticorpos contra células  $\beta$ , suporta a existência de uma autoimunidade humoral.

As lesões patológicas mais comuns em cães com DM são uma redução no número e tamanho das ilhotas de Langerhans, um reduzido número de células  $\beta$ , degeneração hidrópica das ilhotas e ausência absoluta congênita de células  $\beta$ ; também aplasia ou hipoplasia de ilhotas pancreáticas já foram descritas em cães com DM. Alterações menos severas nas células  $\beta$  e nas ilhotas podem predispor o cão adulto a DM em exposição a fatores ambientais de risco. Esses fatores podem induzir a degeneração de células  $\beta$  secundariamente à resistência crônica à insulina ou podem causar liberação de proteínas celulares provenientes de células  $\beta$  que se tornam alvos da destruição imunomediada das ilhotas de Langerhans. A infiltração linfocitária é um achado raro em cães, diferentemente do que ocorre na DM tipo I de humanos e em bovídeos. É provável que ocorram infiltrados leucocitários nas ilhotas pancreáticas no início do processo autoimune, e esses não estejam mais presentes no momento da morte da maioria dos cães diabéticos. Após episódios de pancreatite, por exemplo, cerca de 30 % dos casos apresentam destruição de ilhotas, as quais são substituídas por tecido fibroso. Em outros casos ocorre degeneração de ilhotas ou nenhuma ilhota é encontrada.

Existência de intolerância a carboidratos induzida por obesidade e presença de amiloide em ilhotas já foram encontrados em alguns cães diabéticos, embora o reconhecimento clínico de DMNID seja bastante raro em cães. A proteína amiloide presente nas ilhotas é considerada uma importante característica da DM tipo II em humanos. Uma pequena porcentagem de cães diabéticos apresenta aumento dos níveis de peptídeo C em testes de liberação de insulina, o que sugere a presença de algumas células beta funcionais. Esses cães necessitam de terapia com insulina para diminuir a hiperglicemia.

Recentemente foi proposta a classificação da DM canina como a diabetes insulino-deficiente (DID) ou diabetes insulino-resistente (DIR). A DID primária em cães seria caracterizada por uma perda progressiva de células  $\beta$  pancreáticas causada por doenças como hipoplasia/abiotrofia congênita de células  $\beta$ , perda de células  $\beta$  secundária a doença pancreática exócrina, destruição imunomediada de células  $\beta$  ou idiopática. A DIR primária resultaria basicamente de 4 situações distintas: (1) antagonismos à função da insulina por outros hormônios (diestro/diabetes gestacional); (2) secundária a outras doenças endócrinas (hiperadrenocorticismo e acromegalia); (3) iatrogênica (uso de glicocorticoides e progestinas sintéticas); ou (4) intolerância a glicose associada à obesidade, porém não como causa primária da DM em cães. A DIR pode ocasionar um estado diabético reversível, bastante incomum em cães. O reconhecimento precoce da resistência à insulina nestes casos, e /ou tratamento adequado da endocrinopatia concomitante nos estágios iniciais, pode resolver a DIR, retornando o paciente a um estado euglicêmico sem o uso contínuo de insulina.

Na DIR, apesar de haver adequada massa de células  $\beta$  funcionais, essas não conseguem

secretar insulina suficiente para a manutenção da euglicemia na presença de um antagonismo patológico aos efeitos da insulina. Falhas em corrigir rapidamente esses antagonismos resultam em perda de células  $\beta$  e eventual desenvolvimento de DMID secundária. Uma hiperglicemia crônica ( $> 250$  mg/dL) por cerca de duas semanas é suficiente para causar perda de células  $\beta$  e DM permanente devido à resistência periférica à insulina e supressão da secreção desse hormônio (glicotoxicidade). A hiperglicemia persistente após pancreatite é outra forma de DM secundária. A ativação de enzimas pancreáticas dentro dos acinos e ductos pancreáticos inicia a pancreatite, e o envolvimento das ilhotas pode ocorrer por extensão da necrose e inflamação dos tecidos ao redor.

A grande maioria dos cães recentemente diagnosticados com DM apresentam concentrações de insulina menores que  $12 \mu\text{U/mL}$ , muitas vezes indetectáveis. Concentrações maiores que  $18 \mu\text{U/mL}$  sugerem a existência de células  $\beta$  funcionais e a possibilidade de DM secundária com possibilidade de reversão do quadro a um estado não dependente de insulina se os antagonismos hormonais presentes forem eliminados. Ainda assim, a terapia com insulina é recomendada nestas situações para correção da hiperglicemia e redução do estresse às células beta enquanto o antagonismo não é resolvido.

Ainda que a obesidade cause resistência à insulina em cães, não existem trabalhos bem documentados que demonstrem que a DM tipo II é uma doença significativa nessa espécie, diferente do observado em gatos e humanos. Nenhum trabalho epidemiológico foi publicado avaliando a relação entre obesidade e DM em cães desde 1960, quando foi observado por Krook e colaboradores que a prevalência de DM era maior em cães obesos. O estudo clássico de Mattheeuws e colaboradores em 1984, que correlacionou diabetes à



obesidade utilizou fêmeas caninas não castradas, não se podendo descartar a possibilidade de nessas pacientes ter ocorrido resistência à insulina mediada pelo diestro.

Os efeitos da obesidade são particularmente pronunciados quando são resultado de uma dieta rica em gordura saturada. Cães alimentados com uma dieta rica em gordura desenvolvem resistência insulínica não compensada por aumento na secreção de insulina, resultando em intolerância à glicose mais severa, além de sofrerem uma redução no transporte de insulina para o SNC. Um estudo epidemiológico conduzido na região de Porto Alegre (Brasil) evidenciou que 69,2 % dos proprietários de cães diabéticos consideravam seus cães com sobrepeso ou obesos antes do diagnóstico. O mesmo estudo documentou que 50 % dos pacientes com diabetes recebiam comida caseira mais ração a cada refeição, e outros 28,6 % deles recebiam somente comida caseira como dieta no momento do diagnóstico. Dessa população de pacientes diabéticos estudada, 78,6 % recebiam petiscos como pães, biscoitos, doces e chocolates fora dos horários das refeições, o que corrobora a hipótese de obesidade e desequilíbrio nutricional como fatores de risco para o desenvolvimento da DM canina. O mesmo padrão foi observado num estudo de caso-controle conduzido na Suécia, onde se observou uma maior ocorrência de obesidade e alimentação desequilibrada (comida caseira sozinha ou associada à ração e petiscos) nos pacientes diabéticos quando comparados aos controles.

Além disto, evidências em outros modelos apontam para os efeitos deletérios da obesidade sobre a sensibilidade à insulina e predisposição à DM. Além das diversas adipocitocinas liberadas pelos adipócitos, os ácidos graxos livres (AGL) reduzem a captação de glicose muscular e secreção de insulina, ao mesmo tempo que aumentam a

produção hepática de glicose. Os AGL também estão associados à reduzida fosforilação de mensageiros intracelulares, resultando em menor resposta à insulina. A redução na secreção de adiponectina na obesidade (adipocitocina com efeitos pró-insulina) é outro fator importante na interação obesidade – homeostase da glicose.

A DM em fêmeas é frequentemente associada com a fase do ciclo estral onde predomina a progesterona (diestro) e assemelha-se à diabetes mellitus gestacional (DMG) em humanos. Cerca de 70 % das pacientes caninas que desenvolvem diabetes encontram-se no diestro quando começam os sinais clínicos da doença. No Reino Unido, a redução no uso de progestágenos sintéticos e a prática de esterilização das fêmeas não reprodutoras vêm reduzindo a DM decorrente do diestro em fêmeas caninas.

Na espécie canina, a progesterona, assim como os progestágenos sintéticos, pode aumentar a liberação de GH pelo tecido mamário, sendo um importante fator envolvido na resistência à insulina, e também associado a tumores de mama e ao complexo hiperplasia endometrial císticapiometra. Pode ocorrer uma redução na sensibilidade à insulina em cadelas prenhes sadias entre os dias 30 e 35 da gestação, tornando-se mais grave no final da gestação. O diestro na cadela dura aproximadamente o mesmo tempo de uma gestação (cerca de 9 semanas), e consideram-se o perfil hormonal do diestro e o das prenhes praticamente idênticos. Cadelas com DM transitória causada por diestro apresentam grandes chances de desenvolver DMID na próxima fase progesterônica do ciclo estral. Por esse motivo é recomendada a castração logo após o diagnóstico de DM. Cerca de 5 % das pacientes com diagnóstico inicial de DM durante o diestro podem reverter a um estado euglicêmico se são submetidas à castração. A ovariectomia

mia promove um aumento significativo na resposta insulínica ante a administração de glicose, sendo possível inclusive observar hipertrofia de ilhotas de Langerhans e maior degranulação das células  $\beta$ . Se a DM persistir após o fim do diestro, deve-se reclassificar com a DMID, e não mais com a DMG.

O aumento na concentração sérica de progesterona durante o diestro pode causar diabetes em cães por promover um efeito antagonico à insulina, diretamente por reduzir a ligação de insulina e transporte de glicose nos tecidos alvos, e secundariamente por promover a liberação de hormônio do crescimento (GH) pela glândula mamária. O GH exerce um efeito antagonico à insulina por reduzir a concentração de receptores à insulina, reduzindo a captação de glicose. Contudo, considera-se a redução na concentração de receptores de insulina na membrana celular das células-alvo como uma *down-regulation* (contrarregulação) decorrente da hiperinsulinemia promovida pela resistência insulínica gerada pelo GH. Os efeitos lipolíticos do GH também são antagonicos aos efeitos da insulina.

Os hormônios FSH e LH também já foram associados à resistência tecidual aos efeitos hipoglicemiantes, lipogênicos e antilipolíticos da insulina em cães. O reconhecimento da contrarregulação do GH sobre os efeitos da insulina data de quase sete décadas, no entanto somente há pouco tempo os mecanismos moleculares envolvidos na resistência insulínica promovida pelo GH tornaram-se conhecidos. Evidências acumuladas sugerem que o GH module a sensibilidade à insulina por múltiplos mecanismos. Isto ocorre em decorrência de ambas vias de sinalização intracelular do GH e de seu principal efector, o IGF-I (fator de crescimento semelhante à insulina I) convergirem com as vias de sinalização intracelulares da insulina.

Foi verificada também uma menor fosforilação do receptor de insulina em cadelas durante o estro e diestro, bem como uma menor afinidade dos receptores de insulina pelo hormônio durante estas fases do ciclo estral. Este ambiente hormonal do estro e do diestro pode modular negativamente a sensibilidade à insulina, e predispor as pacientes ao desenvolvimento de diabetes, especialmente quando outros fatores de risco estiverem presentes, como autoimunidade contra células beta, obesidade, alimentação desequilibrada ou uso de drogas diabetogênicas.

#### Implicações metabólicas

Os principais efeitos metabólicos que acontecem na diabetes podem ser resumidos nos seguintes pontos:

- a) Diminuição/inibição do ingresso e da utilização de glicose pelos tecidos periféricos, resultando em hiperglicemia.
- b) Aumento da degradação de proteínas musculares e de lipídeos no tecido adiposo, com consequente aumento da concentração sanguínea de aminoácidos e ácidos graxos livres.
- c) Incremento na síntese hepática de ureia, que leva a uremia, em decorrência do aumento do catabolismo dos aminoácidos.
- d) Aumento da gliconeogênese, pelo aumento da atividade das enzimas piruvato carboxilase, fosfoenolpiruvato carboxiquinase, fructose-1,6-difosfatase e glicose-6-fosfatase, aumentando ainda mais o teor de glicose no sangue.
- e) Inibição da lipogênese e estímulo da lipólise.
- f) Aumento da produção de acetil-CoA com o consequente aumento na produção e na

concentração sanguínea de corpos cetônicos e de colesterol.

g) Cetoacidose.

A falta absoluta ou relativa de insulina na diabetes mellitus é a causa primária da hiperglicemia, devido ao bloqueio da entrada e da utilização de glicose nas células dependentes de insulina para o transporte de glicose.

No caso da DMID (Figura 15A), a diminuição na utilização de glicose por parte das células provoca aumento do catabolismo dos lipídeos de reserva como fonte de energia, sendo observado uma hiperlipidemia. Além disso, ocorre aumento da glicogenólise e da gliconeogênese, o que exacerba a hiperglicemia.

A degradação de triglicerídeos aumenta progressivamente na medida em que a insulina se torna mais deficiente, devido ao aumento da atividade da lipase hormônio-sensível. A elevada liberação de ácidos graxos, como consequência da lipólise, e sua posterior beta-oxidação no fígado, leva ao aumento de acetil-CoA, aumento este agravado por dois fatores:

- a) ação inibitória dos ácidos graxos sobre a citrato sintetase, primeira enzima do ciclo de Krebs, a qual é fundamental para a completa oxidação do acetil-CoA;
- b) pouca disponibilidade de oxaloacetato, o qual é proveniente da glicose.

Assim, o acetil-CoA deve seguir outras rotas metabólicas, quais sejam, síntese de colesterol e/ou de corpos cetônicos. O acúmulo de acetil-CoA provoca um aumento na formação de corpos cetônicos (cetose). Os corpos cetônicos (acetoacetato, beta-hidroxibutirato e acetona) se acumulam no sangue, provocando uma acidose de tipo metabólica. Estes corpos cetônicos, especialmente o acetoacetato e a acetona, são excretados pela

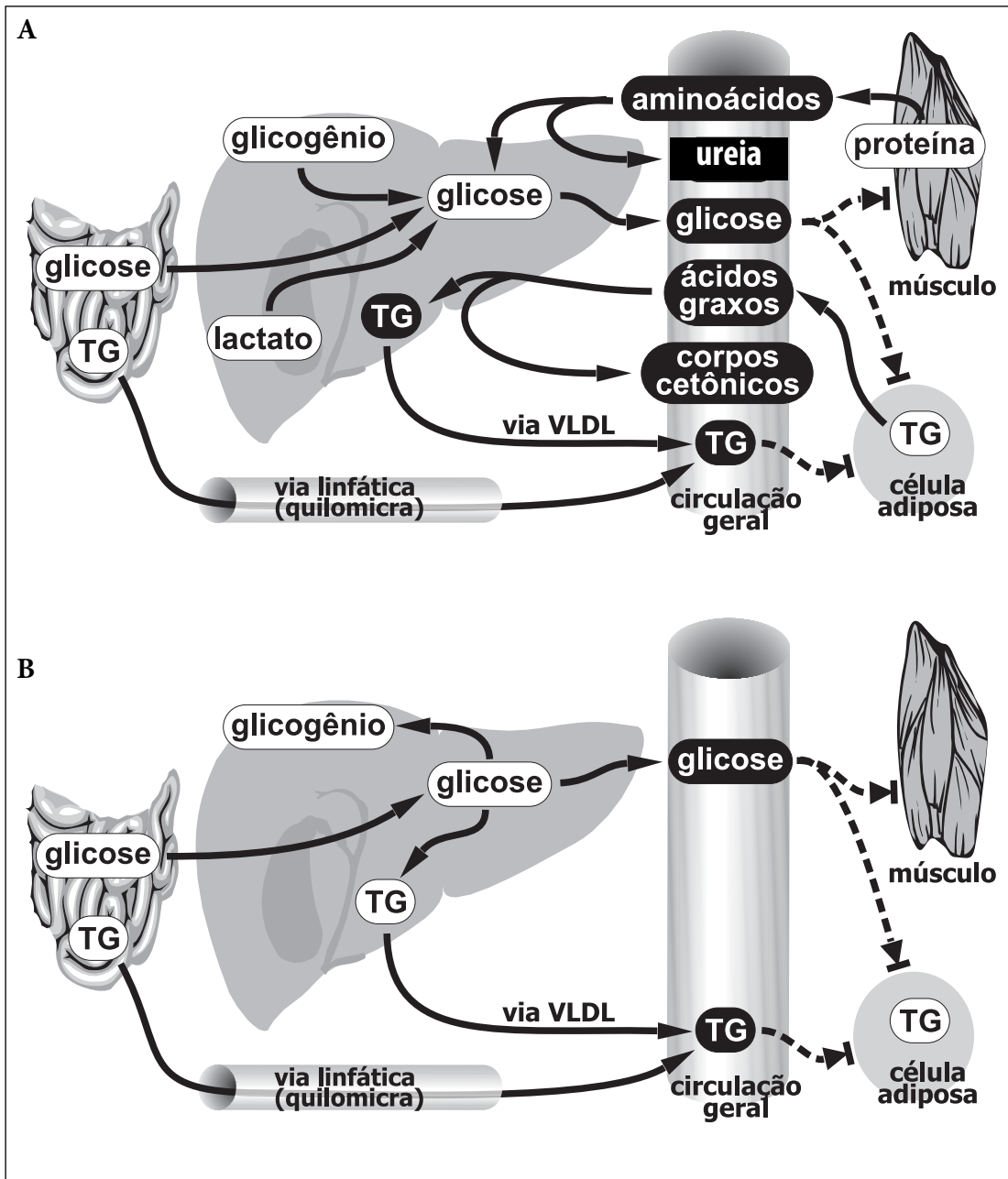
urina e pelos pulmões, conferindo um odor característico à urina e ao hálito do animal diabético, uma vez que a acetona é volátil na temperatura corporal.

A exagerada mobilização de gordura periférica com liberação de ácidos graxos em circulação, provoca o acúmulo de gorduras no fígado, produzindo hepatomegalia e lesão hepática (lipidose), principalmente em gatos. A hiperlipidemia provocada pelo aumento dos triglicerídeos é exacerbada pelo seu impedimento de entrar na célula adiposa.

Uma vez que os ácidos graxos não são precursores diretos para a gliconeogênese, são utilizadas as proteínas de reserva (músculo) como precursores para esta rota. Assim, simultaneamente com o aumento do catabolismo de gorduras, ocorre aumento do catabolismo proteico. Como consequência, ocorre perda de peso e aumento de ureia no sangue e na urina. A concentração relativamente elevada de glucagon, cortisol e GH na diabetes mellitus contribui ao aumento do catabolismo proteico e da gliconeogênese.

No caso da DMNID (Figura 15B) o conjunto de efeitos metabólicos é menos dramático. Em comum com a DMID, ocorre uma hiperglicemia, porém sem a concomitante cetose e uremia. Isto ocorre porque a relação insulina/glucagon não está tão diminuída, não havendo, portanto, o acentuado estímulo à lipólise visto na DMID. Também não há catabolismo proteico para gliconeogênese. A hiperlipidemia associada à DMNID é basicamente decorrente do aumento de triglicerídeos, sem aumento de ácidos graxos livres.

Outro efeito causado pela diabetes mellitus compromete o processo de cicatrização. A hiperglicemia aumenta o gradiente de concentração necessário para desviar a glicose do plasma aos tecidos lesados e frequentemente mal vascularizados. As células



**Figura 15** – Efeitos metabólicos na diabetes mellitus. Em A, são mostrados os efeitos da diabetes mellitus tipo I. Em B, efeito do diabetes mellitus tipo II. Setas contínuas representam as rotas ou fluxos de metabólitos, e as tracejadas indicam bloqueio desses. Os nomes dos metabólitos cujas concentrações estão aumentadas em destaque com fundo preto.

na lesão podem metabolizar a glicose em lactato por glicólise anaeróbica, rota que fornece energia aos tecidos com suprimento baixo de oxigênio. A falta de glicose no tecido promove grandes perdas de proteína tecidual, catabolizada para fornecer precursores gliconeogênicos, inibindo a cicatrização.

### Sinais clínicos

O animal diabético apresenta uma média de idade de 7-9 anos no momento do diagnóstico. Em geral, há histórico de polidipsia, poliúria, polifagia e perda de peso. Clinicamente se observa enfraquecimento, hiperglicemia, glicosúria e, em casos avançados, cetonemia e cetonúria, com hálito cetônico. Os gatos apresentam postura plantígrada (apoiam as patas traseiras no jarrete) e outros sinais neurológicos, como debilidade do trem posterior, ataxia e dificuldade para pular ou interagir com seu dono.

Uma anamnese minuciosa deve sempre ser realizada à procura de doenças concomitantes que estão presentes na grande maioria dos casos de DM. Em muitos cães, o antagonismo aos efeitos da insulina causado por outras doenças, como pancreatite, infecções, insuficiência cardíaca congestiva, hiperadrenocorticismos ou até um estro recente, é o evento que desencadeia o início da doença. A identificação e o tratamento dessas desordens são fundamentais para o sucesso da manutenção do paciente diabético. Outras informações, referentes a tratamentos anteriores com drogas diabetogênicas, como glicocorticoides e progestágenos, devem ser questionadas à busca de possíveis fatores envolvidos. Deve-se questionar também que tipo de alimentação é fornecido ao animal e a quantidade de guloseimas que recebe. Sabe-se que dietas ricas em carboidratos predispoem à obesidade, assim como dietas

ricas em gordura, que também podem causar pancreatite, fatores intimamente ligados à DM em cães. Em fêmeas, histórico de cio recente em relação ao diagnóstico (menos de dois meses) é um achado comum.

Na diabetes mellitus, a glicemia está elevada acima de seu valor de referência e quando é atingido o limiar renal (em cães 280 mg/dL, em gatos 320 mg/dL), a glicose passa a ser detectável na urina (glicosúria). Quando isto ocorre, os túbulos renais não são capazes de reabsorver completamente a quantidade de glicose filtrada no néfron. É comum, na diabetes não tratada, observar níveis sanguíneos de glicose da ordem de 300-400 mg/dL, tendo sido relatados casos de até 1.250 mg/dL, em cães. A perda de glicose na urina exerce uma ação osmótica, retendo água nos túbulos renais e causando poliúria e desidratação, com a consequente polidipsia.

Os níveis sanguíneos de triglicerídeos, colesterol, ácidos graxos e lipoproteínas tornam-se muito elevados, podendo o colesterol chegar a 700 mg/dL. A hiperlipidemia na diabetes é causada pela mobilização e degradação de triglicerídeos e pela diminuição da lipólise dos quilomícrons e lipoproteínas (VLDL), esta última secundária a uma deficiência da enzima lipoproteína lipase. Na diabetes mellitus cetoadicótica ocorre um acúmulo de corpos cetônicos em decorrência da alta lipomobilização, o que também pode ser causa de aumentos de enzimas hepáticas (ALT, FA, GGT) pela deposição de gordura no fígado.

Os corpos cetônicos induzem cetoadicose e perda de ácidos na urina, provocando perda simultânea de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ , uma vez que os ácidos são eliminados como sais. A acidose, a desidratação grave e a perda de eletrólitos são os responsáveis pelo coma e morte na DM não tratada. A acidose causada pelos corpos cetônicos é exacerbada pela drástica

redução do ânion bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) dificultando o processo compensatório. Por outro lado, a utilização dos corpos cetônicos pelos tecidos periféricos está diminuída, aumentando ainda mais seus teores no sangue.

Com a acidose, aumenta a concentração do próton  $\text{H}^+$ , o qual em excesso entra nas células, deslocando o  $\text{K}^+$  intracelular para o meio extracelular. Associada à saída de  $\text{K}^+$  há uma entrada de  $\text{Na}^+$  nas células. Com o aumento da desidratação e da acidose, a concentração plasmática de  $\text{K}^+$  pode ficar bastante aumentada (hipercalemia), apesar de haver um déficit global de potássio. Contudo, quando uma terapia de fluidos é aplicada nessa situação, deve ser levado em consideração que o  $\text{K}^+$  extracelular em excesso pode retornar ao interior das células, provocando uma hipocalemia. Portanto, a terapia deve incluir  $\text{K}^+$ , muito embora o quadro mostre uma hipercalemia.

Na urinálise, a presença de glicosúria é sinal indicativo da existência de diabetes. Em ocasiões pode ser encontrada glicosúria aproximadamente 1 hora depois das refeições, quando são muito ricas em glicídeos. Em cães diabéticos é rara a complicação renal crônica que se observa nos humanos. A presença de corpos cetônicos na urina (cetonúria) só é observada na diabetes avançada e no jejum prolongado. Na diabetes leve ou inicial, a cetonúria não é frequente. O pH da urina não é útil para detectar casos de acidoses, pois ele varia somente em casos extremos. Apesar da poliúria, a densidade urinária pode estar acima de 1.025 devido à presença de glicose e pode haver proteinúria e bacteriúria pela predisposição a complicações infecciosas. O Quadro 3 mostra as principais complicações decorrentes da diabetes mellitus e seus sinais clínicos.

QUADRO 3 – COMPLICAÇÕES DA DIABETES MELLITUS E SUA SINTOMATOLOGIA

<b>Complicação</b>	<b>Manifestação clínica</b>
cetoacidose	vômito, depressão, colapso, taquipneia
catarata	cegueira
retinopatia	lesões oftalmoscópicas
neuropatia	fraqueza
pancreatite	vômito, dor abdominal
insuficiência pancreática exócrina	diarreia, perda de peso
lipidose hepática	hepatomegalia
glomerulonefropatia	insuficiência renal oligúrica
infecções bacterianas urinárias	cistite, pielonefrite
infecções bacterianas respiratórias	pneumonia (tosse, dispneia e febre)
infecções bacterianas cutâneas	piodermite

## Complicações crônicas da diabetes mellitus canina

As complicações resultantes da diabetes mellitus ou do tratamento são bastante comuns em cães, sendo a cegueira decorrente de uveíte anterior devido à formação de cataratas a mais comum. Pancreatite crônica, infecções recorrentes no trato urinário, trato respiratório e na pele, hipoglicemia e cetoacidose também são frequentemente observadas.

As devastadoras complicações crônicas da DM em humanos (nefropatia, doença coronariana, vasculopatia) levam décadas para se desenvolver, não sendo comuns em cães diabéticos. Os mecanismos patogênicos envolvidos nestas complicações crônicas são divididos basicamente em três categorias: (1) metabolismo anormal do sorbitol derivado de hiperglicemia e glicosilação excessiva de proteínas circulantes e proteínas ligadoras de membrana; (2) mecanismos vasculares, como anormalidades endoteliais e nas células subjacentes, como os perícitos da retina e células mesangiais do glomérulo, assim como hiperfiltração e hipertensão renal; e (3) outros mecanismos como prejuízos na função plaquetária e fatores de crescimento, assim como influências genéticas.

## Catarata

Dentre as doenças metabólicas e sistêmicas, a DM é a que mais frequentemente leva à formação de catarata. Com ou sem terapia insulínica, a formação de catarata diabética é rápida e bilateral, começando logo após o começo do desequilíbrio metabólico. Esta é considerada a complicação crônica mais comum em cães diabéticos, tendo sido identificada em 66 % dos cães diabéticos, com maior incidência na raças Poodle e Schnauzer. Nos países de primeiro mundo, cerca de 80 % dos cães desenvolvem cataratas até o 16º mês após

o diagnóstico de DM, sendo que a rapidez no surgimento de cataratas está diretamente ligada ao grau de hiperglicemia. Em um estudo realizado no sul do Brasil, cerca de 40 % dos pacientes apresentavam-se com cataratas já no momento do diagnóstico.

O metabolismo normal do cristalino é mantido por transporte facilitado de glicose e outros metabólitos, que penetram livremente na lente a partir do humor aquoso. A concentração normal de glicose no cristalino é de cerca de 10 % daquela concentração no humor aquoso. No cristalino, a glicose é convertida de forma anaeróbica em ácido láctico, liberando ATP. No entanto este sistema é facilmente saturado por altas concentrações de glicose, que passa então a ser metabolizada pela via minimamente utilizada do sorbitol. A alta concentração de glicose no cristalino aumenta a atividade da enzima aldose redutase, que reduz a glicose a sorbitol, que então é convertido a fructose, pela enzima sorbitol desidrogenase. Como o sorbitol e a fructose não são livremente permeáveis na membrana celular e atuam como potentes agentes hidrofílicos, ocorre um aporte de água para dentro do cristalino, causando um inchaço e rompimento das fibras das lentes, formando a catarata típica da diabetes.

A formação de cataratas é um processo irreversível uma vez que tenha iniciado, e isso pode ocorrer de forma muito rápida. Clinicamente os cães podem evoluir de uma visão normal para a cegueira em um período de dias, meses ou anos. Um bom controle glicêmico e flutuações mínimas de glicemia ajudam a evitar e atrasar a ocorrência de cataratas. O processo não ocorre em gatos, possivelmente por diferenças no metabolismo da glicose no cristalino, uma vez que nesses animais a aldose redutase não é tão ativa quanto em cães.

## Uveíte induzida pela catarata

Durante a embriogênese, as lentes são formadas dentro de sua própria cápsula, e suas proteínas estruturais não são expostas ao sistema imune, motivo pelo qual não ocorre tolerância imunológica às proteínas do cristalino. Durante a formação da catarata e posterior reabsorção, as proteínas das lentes são expostas ao sistema imune local ocular, resultando em inflamação e uveíte. O tratamento desta alteração consiste na diminuição da reação inflamatória e prevenção da ocorrência de danos intraoculares.

Os corticosteroides oftálmicos são as drogas mais comumente utilizadas no tratamento de inflamações oculares. No entanto essas preparações podem ser absorvidas de forma sistêmica e causar antagonismo à insulina, o que pode vir a interferir no controle glicêmico, especialmente em cães Toys e miniaturas. Como alternativa menos potente, porém sem interferências no controle glicêmico, pode-se utilizar anti-inflamatórios oftálmicos não esteroidais ou ciclosporina. Contudo, nesses casos, a remoção da catarata pode tornar-se uma solução mais eficaz em longo prazo, mesmo que não seja possível a recuperação da visão. A resolução da uveíte e a prevenção da formação de glaucoma apresentam um grande potencial de conforto ao paciente ao resolver uma causa de dor.

## Retinopatia diabética

A retinopatia diabética é uma complicação clínica bastante incomum em cães. Quando observada, evidenciam-se microaneurismas, hemorragias, varicoses e *shunts* capilares ao exame oftalmoscópico da retina. Também é possível observar a presença de perícitos fantasmas e capilares acelulares. Uma vez que o desenvolvimento rápido da catarata impede a avaliação da retina em cães

com DM, recomenda-se um criterioso exame de fundo de olho em cães diabéticos com diagnóstico recente para verificar a presença de uma retina saudável. Apesar de estudos terem demonstrado que a aspirina e aminoguanidina atuam como inibidores farmacológicos da retinopatia por um período de cinco anos em cães diabéticos, o adequado controle glicêmico é o único tratamento adequado na inibição ou prevenção da progressão da retinopatia diabética.

## Neuropatia diabética

O reconhecimento da neuropatia diabética em cães não é tão frequente como em gatos, e os sinais clínicos consistentes com esta alteração são mais comumente reconhecidos em cães com diabetes por um longo período (5 anos ou mais). Os sinais clínicos observados são fraqueza, andar agachado, marcha anormal, atrofia muscular, depressão dos reflexos lúmbicos (reflexos de membros) e nos testes de reação postural. A neuropatia diabética no cão é primariamente uma polineuropatia distal, caracterizada por desmielinização segmentar, remielinização e degeneração axonal com regeneração, porém por mecanismos não totalmente conhecidos. Não há tratamento para a neuropatia diabética, mas o adequado controle glicêmico pode melhorar os sinais clínicos.

## Nefropatia diabética

A nefropatia diabética em cães é um fenômeno raro, e as anormalidades histológicas encontradas incluem glomerulonefropatia membranosa com fusão dos processos podais, engrossamento de membrana basal de glomérulos e túbulos, aumento no material da matriz mesangial, presença de depósitos subendoteliais, fibrose glomerular e glomeruloesclerose. A anormalidade inicial pode ser a



hipertensão glomerular crônica e a hiperper-  
fusão renal, decorrentes da hiperglicemia crô-  
nica. Assim, o aumento na pressão glomerular  
resulta no depósito de proteínas no mesangio.  
A expansão do mesangio invade o espaço su-  
bendotelial, reduzindo o lúmen dos capilares  
glomerulares, o que leva a um declínio na taxa  
de filtração glomerular, conduzindo a glome-  
ruloesclerose e insuficiência renal. Cães com  
mais de dois anos de doença que tenham uma  
glicemia fracamente controlada podem sofrer  
esclerose glomerular.

A nefropatia diabética apresenta-se  
com alterações tipo proteinúria grave (al-  
buminúria) devido à disfunção glomerular,  
progredindo conforme o dano glomerular  
para ocorrência de azotemia e uremia. No  
ápice de desenvolvimento da fibrose glome-  
rular ocorre insuficiência renal oligúrica e  
anúrica. Não há tratamento específico para  
a nefropatia diabética além de adequado  
controle glicêmico, manejo médico conser-  
vativo da insuficiência renal e controle da  
hipertensão sistêmica.

#### Miocardiopatia diabética

A miocardiopatia diabética é uma en-  
tidade bem estudada e frequente em hu-  
manos, porém não se encontram relatos de  
miocardiopatia diabética em cães. Trabalhos  
demonstraram, em cães com DM induzida  
por aloxano, a diminuição dos volumes dias-  
tólicos finais e de enchimento ventricular, ao  
serem comparados ao grupo controle, assim  
como maior concentração de colágeno nes-  
tes corações, rigidez miocárdica, aumento na  
pressão diastólica final do ventrículo esquer-  
do e redução do débito cardíaco. Algumas  
dessas alterações são passíveis de controle  
com insulino-terapia.

Morfologicamente, o coração destes  
pacientes apresenta acúmulo de material

PAS positivo, provavelmente glicoproteínas.  
Alterações celulares, incluindo defeitos no  
transporte de cálcio e metabolismo de ácidos  
graxos, podem levar à hipertrofia dos mió-  
citos e fibrose do miocárdio, levando inicial-  
mente à disfunção diastólica que pode evo-  
luir para uma disfunção sistólica.

#### Hipertensão sistêmica / Aterosclerose

Em humanos diabéticos a ocorrência  
de DM associada à hipertensão pode pôr em  
risco até a vida do paciente. Em cães, a hiper-  
tensão sistêmica é um achado comum em cães  
obesos, com pressão arterial sistólica maior  
que 180 mm Hg, assim como observado em  
quase 50 % dos cães diabéticos. Observa-se  
uma associação entre a hipertensão, a duração  
da diabetes e o aumento na relação albumina-  
-creatinina na urina, sendo que a pressão  
diastólica e a pressão sanguínea média costumam  
ser maiores em cães com maior duração  
da doença. Possíveis mecanismos envolvidos  
no desenvolvimento de hipertensão em cães  
diabéticos incluem distúrbios no metaboli-  
smo de lipídeos, levando à redução na compla-  
cência vascular e à hiperfiltração glomerular  
generalizada. Uma microangiopatia imuno-  
mediada afetando as membranas basais de  
vasos também é suspeitada.

Aterosclerose pode estar presente em pa-  
cientes com DM, representando um fator adi-  
cional na etiopatogênese da hipertensão sis-  
têmica, apesar de a espécie canina apresentar  
uma proteção ao desenvolvimento de ateros-  
clerose. Essa proteção decorre de o HDL ser a  
principal lipoproteína no soro canino.

#### Diagnóstico

No diagnóstico da diabetes mellitus de-  
vem estar presentes os sinais típicos (poli-  
úria, polidipsia, polifagia e perda de peso)

além de hiperglicemia persistente e glicosúria. Para confirmar a hiperglicemia persistente convém dosar a fructosamina ou a hemoglobina glicosilada, que são proteínas glicosiladas do sangue, que fornecem informação da glicemia nas últimas 3 a 6 semanas, respectivamente.

A ultrassonografia abdominal representa uma boa ferramenta para verificar pancreatite, adrenomegalia, piometrites em fêmeas inteiras, alterações hepáticas e do trato urinário (cistites, pielonefrite). Devido ao alto índice de pancreatite em cães diabéticos, deve-se realizar a mensuração da atividade das enzimas lipase sérica ou tripsina sérica imunorreativa.

Em cães diabéticos não complicados, é comum um hemograma sem alterações. Policitemia leve pode ocorrer nos casos de desidratação. Anemia não é um achado relacionado diretamente à diabetes. Aumento na leucometria total pode ser causado por processos infecciosos ou inflamatórios. Desvio à esquerda e presença de neutrófilos degenerados ou tóxicos suportam o envolvimento de infecção na leucocitose.

Na bioquímica sanguínea, a prevalência e severidade das alterações variam conforme a duração da DM sem tratamento e a ocorrência de doenças intercorrentes, principalmente a pancreatite e a lipidose hepática. Nos cães com DM não complicada, o painel seria considerado normal exceto pela hiperglicemia e hiperlipidemia. Hiperlipidemia é comum em pacientes diabéticos não tratados e é responsável pela lipemia em amostras de sangue periférico. A DM descontrolada é acompanhada de aumento nas concentrações de triglicerídeos, colesterol, lipoproteínas e ácidos graxos livres devido à deficiência de insulina e à redução da atividade da lipoproteína lipase (enzima responsável pela retirada dos triglicerídeos da circulação). Apesar da hipercolesterolemia presente em

cães diabéticos, essa é menos severa que a hipertrigliceridemia. A hiperlipidemia é um importante fator envolvido na resistência à insulina. Aumentos de amilase e lipase também podem estar presentes quando há pancreatite aguda intercorrente.

Uma adequada avaliação de função hepática em pacientes diabéticos deve envolver testes para avaliar lesão aos hepatócitos (mensuração da atividade das enzimas ALT e AST), capacidade de síntese (albumina e fibrinogênio), bem como avaliar o sistema biliar (mensuração da atividade das enzimas FA e GGT e bilirrubinemia). As alterações mais comuns são aumento nas atividades da ALT e FA juntamente com altos níveis de colesterol. Os altos níveis de ALT, juntamente com reduzidos níveis de ureia, hipoalbuminemia e altos níveis de ácidos biliares podem indicar outra hepatopatia além da lipidose, morbidade comum em pacientes diabéticos. Hiperbilirrubinemia é indicativo de obstrução extra-hepática, provavelmente, por pancreatite. Valores muito elevados de atividade de FA podem indicar hiperadrenocorticismismo concomitante. Pacientes diabéticos apresentam atividade de FA na ordem de 500 U/L no máximo, sendo que pacientes com hiperadrenocorticismismo apresentam atividade de FA superiores a 1.000 U/L.

A creatinina e ureia estão dentro dos valores de referência em cães diabéticos bem controlados. Porém valores discretamente elevados de ureia podem indicar catabolismo proteico elevado. O aumento desses parâmetros também é indicativo de insuficiência renal primária ou uremia pré-renal secundária à desidratação. A verificação da densidade urinária auxilia na diferenciação entre uremia de origem pré-renal e renal. A mensuração do  $\beta$ -OH-butilato como indicador de cetoacidose diabética

também pode ser útil, apesar de que a detecção de cetonas na urina de um diabético com sinais clínicos de cetoacidose seja suficiente para fechar este diagnóstico.

A fructosamina é sintetizada quando moléculas de glicose combinam-se de forma não enzimática e reversível um grupamento amino de resíduos de lisina nas proteínas plasmáticas. Este composto (aldimina ou base de Schiff) vai transformando-se lenta e irreversivelmente, através do rearranjo de Amadori, em um estável composto cetoamina. Esse processo ocorre em praticamente todas as proteínas corpóreas, como as proteínas plasmáticas, colágeno e elastinas. A concentração de fructosamina é uma mensuração de todas as proteínas glicosiladas séricas, mas como a albumina responde por cerca de 80 % das proteínas séricas, ela é muito mais sensível a essa glicosilação. Desta forma, como a meia vida da albumina é de cerca de 20 dias, a concentração sérica da fructosamina oferece um indicador da glicemia nas últimas duas semanas antes da coleta. Recomenda-se que cada laboratório tenha seus próprios valores de referência para cães saudáveis e cães diabéticos devido à grande variabilidade de resultados encontrados na literatura. Pacientes diabéticos apresentam fructosaminemia da ordem de 450  $\mu\text{mol/L}$  ou mais.

Pelo mesmo princípio ocorre a glicosilação da hemoglobina, principalmente da fração  $\text{HbA}_1$ , uma vez que o eritrócito é livremente permeável à glicose, sendo então denominada  $\text{HbA}_{1c}$ . A glicosilação da hemoglobina é diretamente proporcional à concentração de glicose sanguínea, tornando a mensuração da hemoglobina glicosilada uma importante ferramenta na verificação de hiperglicemia crônica. Como a meia vida dos eritrócitos caninos fica em torno de 110 a 120 dias, a mensuração desse analito permite obter uma verificação da glicemia nos

últimos dois meses antes da coleta. Como a mensuração de  $\text{HbA}_{1c}$  ainda não está difundida nas rotinas clínicas, e sua determinação é mais complicada e onerosa (cromatografia e eletroforese) quando comparada à mensuração da fructosamina (método espectrofotométrico), a determinação de fructosamina, associada aos sinais clínicos, dados de anamnese e registros do peso corporal do paciente, oferece embasamento para realização de ajustes na terapia insulínica. Além disto, em 2-3 meses pode acontecer muita coisa na vida de um paciente diabético.

Glicosúria, cetonúria, proteinúria e bacteriúria com ou sem a presença de piúria e hematúria são achados consistentes com DM na urinálise. Se grandes quantidades de cetonas forem detectadas no exame químico da urina, especialmente em um animal com sinais sistêmicos de doença (letargia, vômitos, diarreia ou desidratação), deve-se realizar o diagnóstico de cetoacidose diabética e estabelecer terapia apropriada. A presença de corpos cetônicos na urina é considerada como diagnóstico de cetoacidose, mas não necessariamente de diabetes. A cetonúria pode ocorrer em indivíduos saudáveis em jejum. Pode haver maior bacteriúria em cães com DM devido a infecções ocultas. A lipúria, observada em até 40 % dos casos de cães diabéticos, ocorre em doenças degenerativas dos túbulos, como acontece na DM canina, e é caracterizada pela presença de gotículas de gordura na análise do sedimento urinário.

A densidade da urina de cães diabéticos fica acima de 1.025 a 1.035. A presença e a severidade da glicosúria devem sempre ser consideradas na avaliação da densidade específica da urina. Identificação de densidades urinárias menores que 1.020 combinadas com duas cruces de glicosúria sugerem doença concomitante com poliúria e polidipsia, frequentemente hiperadrenocorticismismo ou insuficiência renal. Proteinúria é resultado de infecções do tra-

to urinário ou dano glomerular com ruptura de membrana basal. A presença de nefropatia diabética é um achado pouco comum em cães. O sedimento urinário de pacientes com infecções urinárias deve ser examinado à procura de eritrócitos, leucócitos e bactérias. As cistocentese utilizando técnicas assépticas para urocultura e testes de sensibilidade são indicadas devido à elevada incidência de infecções do trato urinário em cães com DM.

Quanto a dosagens hormonais, pode-se suspeitar de hipotireoidismo após revisão da história, sinais clínicos e achados nos exames físicos e laboratoriais. Cães com DM controlada apresentam valores normais de tiroxina. Contudo, cães com DM severa e sem controle, associada a outras doenças concomitantes, podem reduzir os níveis de  $T_4$ , levando à ocorrência de uma síndrome do eutireoideo enfermo, e não a um hipotireoidismo verdadeiro, apesar de DM poder ocorrer paralelamente ao hipotireoidismo. A dosagem de progesterona sérica é importante em cadelas intactas independentemente da história cíclica da paciente. Esfregaços vaginais indicam a fase do ciclo estral em que as cadelas se encontram. Verificação da insulinemia basal e testes com secretagogos de insulina não são procedimentos realizados rotineiramente para cães com DM recém diagnosticada. Concentrações de insulina endógena superiores a  $18 \mu\text{U/mL}$  em cães com diagnóstico recente da doença podem sugerir estágios iniciais de DM, especialmente se existe um antagonismo à insulina que possa ser identificado e tratado. Contudo, o efeito supressivo da hiperglicemia sobre a função das células  $\beta$  (toxicidade por glicose) pode interferir na acurácia da interpretação dos resultados dos níveis de insulina. Como a maioria das diabetes nos cães apresentam-se como DMID e as concentrações de insulina são muito baixas, frequentemente indetectáveis, este não é um

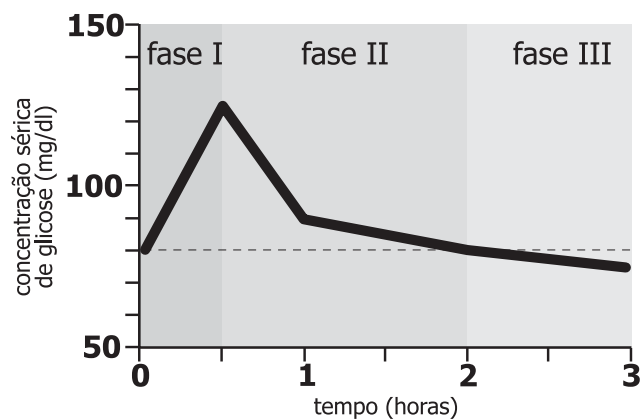
exame diagnóstico efetivo. A exceção são os cães com suspeita de estarem nos estágios iniciais de DM, como cadelas no diestro. Devido à semelhança entre as moléculas de insulina humana e canina, é possível realizar esse teste utilizando radioimunoensaio validado para humanos.

#### Teste de tolerância à glicose

O teste de tolerância à glicose (TTG) é um exame laboratorial utilizado para determinar a capacidade de um indivíduo em manter a glicemia em homeostase. Este teste baseia-se em fornecer uma sobrecarga de glicose em um curto espaço de tempo, seja pela via oral (75 ou 100 g) ou endovenosa (0,5 g/kg), quantificando o tempo necessário para que a glicemia retome seus níveis basais estabelecidos em uma coleta que antecede o fornecimento da glicose. Desta forma é possível estabelecer de forma indireta o desaparecimento (*clearance*) da glicose do plasma, que é dependente de três processos: I. resposta secretória de insulina; II. capacidade da glicose em induzir seu próprio metabolismo, em termos de sua captação pelos tecidos; III. capacidade da glicose em induzir sua metabolização e inibir a liberação de mais glicose pelo fígado.

Em monogástricos, ao ser administrada uma solução de glicose por via oral, os níveis sanguíneos deste carboidrato sofrem alterações que ocorrem de forma trifásica ao longo do tempo (Figura 16):

1. Na *fase I*, a taxa de absorção intestinal de glicose é maior que sua taxa de captação pelas células dos diferentes tecidos. Consequentemente, os níveis glicêmicos se elevam, atingindo um pico em 30 a 60 minutos após a administração da glicose. Nesta fase, a hiperglicemia, assim como o estímulo de hormônios gastrointestinais (gastrina, secretina,



**Figura 16** – Curva de tolerância à glicose. Variações da glicemia após administração oral de glicose (no tempo 0). A linha tracejada corresponde ao nível médio de glicemia.

colecistoquinina) e do glucagon desencadeiam a liberação de insulina.

2. Na *fase II*, os níveis glicêmicos começam a diminuir em consequência do aumento da liberação da insulina pelo pâncreas. Nesta fase a taxa de remoção de glicose do sangue é maior que a taxa de absorção intestinal deste carboidrato.

3. Na *fase III*, os níveis glicêmicos continuam caindo, até atingir uma condição de hipoglicemia temporária, retornando aos seus valores originais em seguida.

Quanto maior for a hiperglicemia durante a *fase I*, maior será a hipoglicemia observada na *fase III*.

No TTG para caninos e felinos é utilizada uma dose de glicose via oral de 4 g/kg de peso do animal, geralmente misturada à carne. Uma primeira amostra de sangue é retirada para análise antes da administração de glicose e uma segunda amostra é retirada e analisada

duas horas depois. Para maior exatidão podem ser tomadas três amostras pós-prandiais, com intervalos de uma hora entre elas.

Para determinar a meia-vida da glicose ( $T_{1/2}$ ), calcula-se a diferença dos valores glicêmicos ajustados pelo intervalo de tempo, que irá gerar um coeficiente relativo ao tempo transcorrido para que a glicemia caia pela metade. Com o valor de  $T_{1/2}$  é possível então calcular a taxa de depuração de glicose ( $k$ ) mediante a seguinte fórmula:

$$k (\%/min) = \frac{0,693}{T_{1/2}} \times 100$$

Os valores de referência de  $T_{1/2}$  e de  $k$ , em cães, são de  $25 \pm 8$  minutos e  $2,76 \pm 0,91$  %/min, respectivamente. Os cães diabéticos têm maiores valores de  $T_{1/2}$  e menores de  $k$ . Nos ruminantes, os valores de referência de  $T_{1/2}$  são de 35 minutos e os de  $k$ , 1,98 %/min.

Em pequenos animais o valor máximo de glicemia (140 mg/dL) é observado em 30

a 60 minutos após a administração de glicose, retornando aos patamares normais em 2 ou 3 horas. Valores de glicemia persistentemente altos após 2 horas da administração de glicose podem ser indicativos de diabetes. Na diabetes mellitus não insulino dependente, também há intolerância à glicose, embora apresentando valores normais ou elevados de insulina. Isso significa que o hormônio está inativo devido a alguns fatores, tais como: deficiência ou bloqueio dos receptores de insulina, redução na sua atividade devido a causas não estabelecidas ou alterações estruturais em sua molécula.

Em ruminantes, o TTG é realizado pela administração endovenosa de uma dose de 0,5 g de glicose/kg, sendo esta solução preparada de maneira estéril na concentração de 50 g/100 mL. A administração deve ser realizada em menos de 30 segundos, para evitar o risco de diurese osmótica e, assim como em pequenos animais, é necessário estabelecer o nível basal de glicose (glicemia de jejum), antes de injetar a solução (geralmente identificado como coleta -15). Em seguida, são realizadas análises no tempo 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Os resultados são esboçados em um gráfico semilogarítmico onde o eixo y corresponde ao logaritmo da concentração sérica da glicose e o eixo x corresponde ao tempo decorrido desde a administração, em minutos (Figura 17).

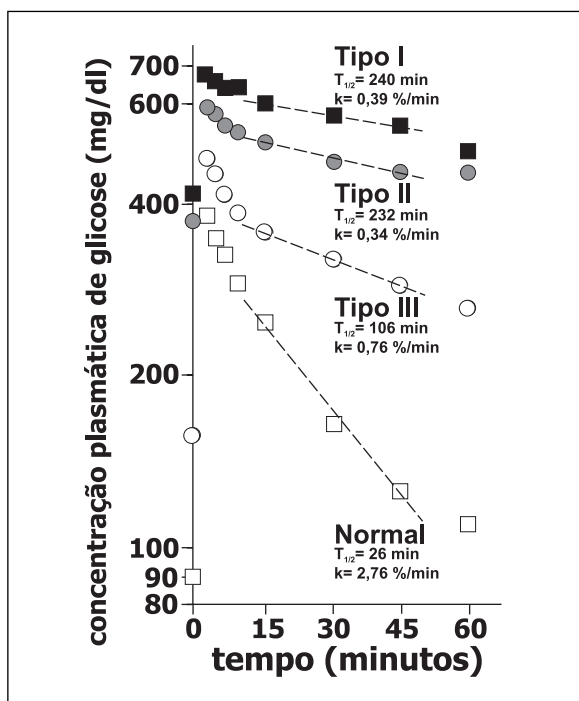
Estas análises dos níveis glicêmicos após a administração oral ou intravenosa de glicose constitui a fundamentação da prova de tolerância à glicose existente atualmente tanto para humanos quanto para animais. Em casos de hiperglicemia leve, a utilização desses testes é fundamental no estabelecimento do diagnóstico de uma determinada patologia associada ao metabolismo de glicídeos. A *tolerância normal* implica que o

aumento dos níveis séricos de glicose é pouco elevado e o retorno aos níveis normais ocorre em cerca de duas horas. *Tolerância diminuída* ou *intolerância*, como ocorre em indivíduos diabéticos, é evidenciada pela elevação excessiva de glicose sérica, com retorno demorado aos níveis normais.

Alguns cuidados com os pacientes devem ser destacados, procurando evitar a realização do teste em indivíduos com a saúde comprometida, uma vez que os resultados podem não refletir o real metabolismo da glicose do paciente quando saudável. Deve-se ter uma atenção especial também no cálculo da dose de glicose a ser administrada, pois doses exageradas podem resultar em falsos positivos.

## Tratamento

Os objetivos principais da terapia inicial na diabetes mellitus são proporcionar uma quantidade adequada de insulina para normalizar o metabolismo intermediário, restaurar as perdas hídricas e eletrolíticas, corrigir a acidose e identificar os fatores precipitantes. Não se deve forçar o retorno a valores glicêmicos normais, processo que pode levar de 36 a 48 horas. A meta primária do tratamento da DM é a eliminação dos sinais clínicos secundários à hiperglicemia e à glicosúria. Limitar as flutuações na glicemia, mantendo-a perto dos valores de referência, auxilia a minimizar a severidade dos sinais clínicos e a prevenir as complicações associadas à DM não controlada. Também é objetivo do tratamento a recuperação do estilo de vida do animal e a fuga de episódios de hipoglicemia. No cão diabético, isto pode ser obtido por uso de terapia insulínica apropriada, dieta, exercício e controle de distúrbios infecciosos, inflamatórios, neoplásicos e hormonais concomitantes. Apesar de o objetivo da terapia ser normalizar a glicemia, o clíni-



**Figura 17** – Prova endovenosa de tolerância à glicose em cães normais e com diabetes. Variações da glicemia após administração endovenosa de glicose (no tempo 0). Os valores de meia-vida ( $T_{1/2}$ ) e da taxa de desaparecimento de glicose ( $k$ ) estão indicados junto às respectivas curvas dos diferentes tipos de diabetes. Modificado de Kaneko, Harvey e Bruss (1997).

co deve sempre evitar a hipoglicemia, complicação terapêutica séria e potencialmente fatal, decorrente de uma overdose de insulina. Os pacientes com sobrepeso e obesos que apresentam intolerância à glicose podem beneficiar-se da prescrição de um programa de perda de peso aliado a um programa de condicionamento físico. As morbidades relacionadas ao excesso de peso corporal aconselham que não é necessária a demonstração de intolerância à glicose em um cão com sobrepeso para que manejo alimentar e atividade física sejam implementados.

O efeito do tratamento com insulina em animais diabéticos, principalmente na DMID recém diagnosticada, é rápido e efetivo nos primeiros dias de terapia, o que pos-

sivelmente se explica pela presença de células beta residuais no pâncreas, que são logo destruídas. Entretanto, após 3-6 meses a terapia se complica requerendo doses de insulina cada vez maiores. Na terapia insulínica deve evitar-se a dosagem excessiva que pode levar a uma hipoglicemia grave, seguida por hiperglicemia (efeito Somogyi). Este efeito parece ser devido a um aumento excessivo e temporário dos hormônios antagonísticos da insulina (GH, adrenocorticoides e adrenalina) como resposta à hipoglicemia. Este efeito demonstra que no equilíbrio dos níveis de glicose sanguíneo estão envolvidos outros mecanismos, além da insulina.

A desidratação é corrigida usando preferencialmente solução de NaCl 0,9 %, evi-

tando o uso de solução Ringer lactato, pois o lactato é precursor de glicose. Durante a fluidoterapia a concentração sérica do potássio cairá devido à reidratação (diluição), correção da acidemia, consumo celular de potássio e perdas urinárias contínuas, tornando necessária sua suplementação. A velocidade de administração de potássio não deve exceder 1 mEq/kg de peso corporal/h. A terapia com bicarbonato torna-se geralmente desnecessária quando o bicarbonato plasmático for de 12 mEq/L ou maior, especialmente se o paciente estiver alerta. Deve-se corrigir a acidose metabólica lentamente na circulação periférica para evitar alterações bruscas no pH do fluido cerebrospinal.

#### Tipos de insulina

A insulina usada hoje pode ser de origem bovina, suína ou humana biossintética. De acordo com sua ação, podem ser classificadas em rápida (cristalina), intermediária ou regular, lente e ultralente. A insulina regular caracteriza-se por um começo de ação rápido e curto tempo de duração do efeito, geralmente utilizadas no controle intensivo de pacientes com cetoacidose diabética. A insulina regular cristalina é a única que

pode ser utilizada pelas vias SC, IM e IV. As preparações de longa ação (ultralente, PZI e NPH) são mais utilizadas no manejo em longo prazo do paciente diabético por promoverem uma suplementação contínua por horas após uma simples injeção. O que faz com que estas insulinas apresentem tempos de absorção, início de ação e tempo de efeito máximo diferentes é a quantidade de zinco na composição e o tamanho dos cristais de zinco-insulina na preparação. Quanto maiores os cristais, menor a taxa de absorção do local de aplicação subcutâneo e, conseqüentemente, maior o tempo de ação. Algumas misturas de insulinas de longa e curta ação estão disponíveis no mercado (70 % NPH/30 % regular ou 50 % NPH/50 % regular). No entanto, estas apresentações são utilizadas somente quando preparações mais convencionais de insulina falharam em estabelecer o controle glicêmico. A Tabela 3 mostra os diferentes tipos de insulina e suas características.

Existe uma relação inversa entre a potência da insulina e a duração do seu efeito. De menos potente para mais potente as insulinas disponíveis comercialmente estão na seguinte seqüência:

TABELA 3 - CARACTERÍSTICAS DOS DIFERENTES TIPOS DE INSULINA

<b>Tipo de insulina</b>	<b>Via de administração</b>	<b>Duração da ação</b>	<b>Início</b>	<b>Tempo de efeito máximo (h)</b>	<b>Duração do efeito (h)</b>
Cristalina	subcutânea	rápida	10-30 min	1-5	4-10
Lente	subcutânea	intermediária	0,5-2 h	2-10	6-20
NPH <sup>1</sup>	subcutânea	intermediária	0,5-2 h	2-10	4-18
PZI <sup>2</sup>	subcutânea	longa	1-4 h	3-12	6-24
Ultralente	subcutânea	longa	0,5-8 h	4-16	6-24

<sup>1</sup> Neutral Protamine Hagedorn. <sup>2</sup> Protamine Zinc Insulin.



*insulina glargina* → *ultralente* → *PZI* → *lente* →  
*NPH* → *cristalina* → *insulina lyspro*

Recentemente, com uso de tecnologia de DNA recombinante, foram produzidos novos análogos da insulina humana, com ação mais rápida ou mais lenta. Os análogos de insulina de ação rápida sofreram pequenas alterações estruturais na molécula e são a insulina lyspro e insulina aspart. A insulina glardine (Lanthus) é um análogo da insulina, que por formar precipitados no local de aplicação apresenta um efeito prolongado. Esse análogo não é considerado uma primeira opção para o tratamento de cães diabéticos. As insulinas de ação intermediária (lente, NPH) são as insulinas de eleição para estabelecer controle da glicemia em cães diabéticos.

A terapia insulínica deve ser iniciada com 0,5 U/kg de peso corporal de insulina recombinante humana lente ou NPH, a cada 12 horas. As insulinas recombinantes humanas são comercializadas atualmente na concentração de 100 U/mL. O uso de insulina duas vezes por dia diminui as chances de ocorrência de problemas como hipoglicemia e efeito Somogyi, além de facilitar o controle glicêmico. As insulinas de longa ação como a PZI e a ultralente são menos úteis no tratamento, porque seus picos de ação são muito variáveis.

A via de administração é sempre subcutânea, exceto no caso da insulina cristalina que pode ser administrada por via intravenosa ou intramuscular. O objetivo da insulino-terapia inicial, utilizando somente insulina regular de ação rápida ou semilenta, é reduzir lentamente a concentração sanguínea de glicose para em torno de 200-250 mg/dL por um período de tempo de 8 horas. É ideal um declínio horário de aproximadamente 75 mg/dL.

A insulina inicial de escolha para o cão diabético é a insulina lente ou a NPH administrada duas vezes ao dia. No caso de cães

pequenos (< 15 kg) administra-se aproximadamente 1 U/kg de peso corporal e no caso de cães grandes (> 25 kg), 0,5 U/kg. A insulina inicial de escolha para o gato diabético é a insulina lente ou a ultralente, administrando-se de 1 a 3 U total em duas vezes diárias.

O exercício é importante no animal diabético para diminuir o peso corporal e a resistência à insulina presente na obesidade. O exercício também tem efeito normoglicemiante por aumentar a mobilização de insulina do local de injeção. Preferivelmente, o exercício deve ser moderado e no mesmo horário.

#### Monitoramento da terapia insulínica

No início da terapia insulínica convém medir a glicemia a cada 2-3 h (curvas seriadas de glicemia) após a injeção de insulina e a alimentação matinal do animal para evitar a hipoglicemia (considerada como < 80 mg/dL) e poder determinar a dosagem mais adequada de insulina. A meta é obter uma glicemia entre 120 a 250 mg/dL e eliminar a sintomatologia diabética. Se o nadir (ponto mais baixo) de glicose for > 150 mg/dL, deve incrementar-se a dose de insulina. Se o nadir for < 80 mg/dL a dose de insulina deve diminuir. A curva seriada de glicemia serve também para determinar a duração do efeito da insulina, que no caso da lente ou a NPH deve ser de 10-14 h, precisando, portanto, duas injeções diárias. O comportamento da curva seriada pode estar afetado por fatores como dieta, exercício físico e estresse.

Abaixo seguem algumas diretrizes para ajustes da dose de insulina, baseadas nos valores de nadir e glicemias pré-insulina:

- Redução na dose de insulina em 50 % se o nadir for < 55 mg/dL, ou caso o paciente apresente sinais de hipoglicemia.
- Redução na dose de insulina em 20 % se o nadir estiver entre 55 e 90 mg/dL, ou se a glicemia pré-insulina estiver menor que 180 mg/dL.

– Não aplicar insulina se a glicemia pré-insulina estiver < 90 mg/dL, mandar o animal para casa alimentando-se normalmente e no outro dia pela manhã reiniciar insulino-terapia com uma dose 20 % menor.

– Excelente controle glicêmico com nadir entre 90 e 145 mg/dL e glicemia pré-insulina > 180 mg/dL.

– Aumentar a dose de insulina em 20 % se o nadir for > 145 mg/dL e a glicemia pré-insulina for > 180 mg/dL.

– Em animais não letárgicos, com peso estável, não cetônicos e ingerindo menos de 60 mL/kg/dia de água, onde houver indicação de alteração na dose de insulina, esta deve ser de apenas 1 unidade, independentemente da dose atual.

A resistência à insulina é caracterizada por valores glicêmicos extremamente aumentados (> 500 mg/dL), sendo causada por doenças intercorrentes ou medicamentos. Doses de insulina entre 1 e 1,5 U/kg ineficazes em promover redução da glicemia também devem ser consideradas casos de resistência.

A dosagem de fructosamina ajuda na detecção de eventuais situações de hipoglicemia, principalmente em casos de animais estressados, agressivos e nervosos, para adequar a dose de insulina. Uma terapia insulínica inadequada se reflete por sinais típicos de diabetes (poliúria, polidipsia, letargia, emagrecimento, pelo opaco) e por glicemia matinal acima de 300 mg/dL. Os níveis de potássio plasmático também ajudam na detecção de doses inadequadas de insulina, pois o excesso causa hipocalemia. Um adequado tratamento de insulina não deve provocar glicosúria persistente, mas deve advertir-se o dono do animal, para não ajustar por conta a dose de insulina baseado em achados de glicosúria ou cetonúria.

Se a resposta inicial à terapia não é satisfatória, não é aconselhável aumentar a dose

inicial de insulina imediatamente, deixando o cão ajustar-se àquela dose durante alguns dias. A responsividade à insulina melhora com o tratamento uma vez que a hiperglicemia crônica está resolvida. Uma nítida melhora clínica, com redução da letargia, polidipsia, poliúria e perda de peso, pode ser observada após alcance de um bom controle glicêmico. Além do efeito direto sobre a captação de glicose no tecido muscular e adiposo, a insulina exógena ainda promove uma inibição da produção hepática de glicose em cães diabéticos.

Diversos métodos podem ser utilizados para monitorar o controle glicêmico em cães diabéticos. Para o controle da glicemia dos pacientes em casa, recomenda-se que todo proprietário mantenha um diário contendo informações acerca do apetite do cão, comportamento geral, especialmente apatia, assim como semanalmente pesar e registrar o peso do animal, e verificar a presença de glicosúria e cetonúria na urina por meio de tiras reagentes. Observação de aumentos na ingestão de água e na produção de urina, associados à letargia e perda de peso, indica a necessidade de ajustes na terapia insulínica. A opinião subjetiva do proprietário sobre o estado geral do animal e resolução dos sinais clínicos é a informação mais importante na avaliação inicial do controle glicêmico.

O monitoramento ocasional da urina à procura de glicosúria e cetonúria é útil naqueles pacientes que apresentam facilidade em desenvolver cetonúria ou hipoglicemia, uma vez que a presença de cetonúria é indicativa de desbalanço no controle glicêmico. A ausência persistente de glicosúria é um indicativo de hipoglicemia. Esse procedimento pode ser facilmente realizado com uso de fitas reagentes. Da mesma forma, é interessante que o proprietário de um paciente diabético tenha em casa um glucômetro portátil para realizar mensurações de glicemia antes da aplicação de insulina, quando suspeitar de

episódios hipoglicêmicos, ou até mesmo realizar curvas glicêmicas seriadas em casa.

Diversos autores relatam que as medições de glucômetros portáteis diferem de medições realizadas em laboratórios, havendo uma tendência em subestimar a glicemia, especialmente com valores abaixo de 60 mg/dL. No entanto, esses equipamentos apresentam boa acuidade e são úteis no manejo do paciente diabético. Estas diferenças de medição comparando os glucômetros portáteis a métodos padrão não afetam a conduta terapêutica. Alguns locais para obtenção de uma gota de sangue são orelhas, coxins, ponta da cauda, ou mucosa labial interna.

#### Terapia dietética

Independentemente da terapia utilizada, deve-se instituir uma terapia dietética, tendo como objetivo reduzir o peso, manter uma regularidade e minimizar as flutuações pós-prandiais. Na composição da dieta é importante que a quantidade de energia não seja muito baixa ao ponto de não fornecer suficiente para o metabolismo, nem muito alta para que o animal não ganhe muito peso. Devem-se incluir fibras solúveis e insolúveis, que promovem perda de peso, absorção intestinal lenta de glicose e redução das flutuações de glicose sanguínea pós-prandiais. Para caninos é importante o uso de glicídeos complexos e a alta quantidade de fibras, principalmente solúveis (pectina), enquanto para os felinos é importante baixa quantidade de glicídeos e alta quantidade de proteínas.

É necessário levar em conta o pico pós-prandial de glicemia, que ocorre em torno de 1 a 2 horas, e o tempo que a insulina levará para iniciar seu efeito. Deve-se disponibilizar  $\frac{1}{2}$  da quantidade total de alimento diário no momento da injeção de insulina tentando aproximar o pico de glicemia com o pico de início de funcionamento da insulina. Dentro da estrutura horária da ação da insulina,

deve servir-se o restante do alimento em pequenas e múltiplas porções para minimizar o efeito hiperglicêmico de cada refeição. Para os felinos, pode-se deixar o alimento à vontade, devido aos seus hábitos alimentares. As dietas comerciais para gatos com diabetes contêm cada vez menos glicídeos (seja por pouco conteúdo deles ou por alto conteúdo de fibra) e alta proteína, o que tem demonstrado ser efetivo para controlar a glicemia.

Existem no mercado diversas marcas de rações que atendem às exigências de fibras em cães diabéticos (Tabela 4) e em gatos diabéticos (Tabela 5), e a quantidade de fibra nesses produtos varia de 3 a 25 % sobre a matéria seca (rações normais contem menos de 2 % de fibras). No geral, dietas que contêm pelo menos 12 % de fibra insolúvel ou pelo menos 8 % de uma mistura de fibras solúveis e insolúveis são efetivas em melhorar o controle glicêmico de cães diabéticos.

As complicações clínicas mais comuns em cães que estão comendo dietas ricas em fibras insolúveis são: excessiva frequência de defecação, constipação e obstipação, hipoglicemia 1 a 2 semanas após início da dieta e relutância em comer o alimento. Nos casos em que fezes firmes tornam-se um problema devido ao teor de fibras insolúveis na dieta, uma mistura de fibras insolúveis e solúveis pode ser fornecida ao animal, ou simplesmente fibra solúvel (Metamucil). De forma contrária, as complicações mais relevantes em cães comendo dietas ricas em fibras solúveis incluem fezes moles a pastosas, flatulência excessiva, hipoglicemia após 1 a 2 semanas do início da dieta e recusa em comer o alimento. Caso diarreia e flatulência se tornem um problema decorrente da ingestão de alto teor de fibras solúveis, deve-se reduzir a quantidade de fibra solúvel e incorporar fibras insolúveis à dieta. Para estimular o consumo nos casos onde o paciente se recusa a comer a ração após algum tempo, pode-se trocar regularmente a fonte e o tipo de fibra para atenuar

TABELA 4 – RAÇÕES COMERCIAIS PARA CÃES DIABÉTICOS E VALORES APROXIMADOS DE SUA CONSTITUIÇÃO

<b>Produto (fábrica)</b>	<b>Tipo</b>	<b>Energia (Kcal)</b>	<b>Gordura<sup>1</sup></b>	<b>Proteína<sup>1</sup></b>	<b>Fibra bruta<sup>1</sup></b>	<b>Tipo de fibra</b>
Hill's (pet nutrition)	seca	223	6,9	16,7	16,8	insolúvel <sup>2</sup>
	úmida	347	12,0	16,5	13,5	insolúvel <sup>2</sup>
Purina (canine diet)	seca	276	6,0	22,8	15,2	mista <sup>4</sup>
	úmida	204	8,4	44,1	19,2	mista <sup>4</sup>
Eukanuba (glucose control)	seca	253	8,0	29,0	2,9	solúvel <sup>3</sup>
Waltham (veterinary diet)	seca	223	7,5	20,0	4,5	mista <sup>4</sup>

<sup>1</sup> % em base seca. <sup>2</sup> Celulose e lignina. <sup>3</sup> Pectina. <sup>4</sup> Mistura de fibra solúvel e insolúvel.

TABELA 5 – RAÇÕES COMERCIAIS PARA GATOS DIABÉTICOS E VALORES APROXIMADOS DE SUA CONSTITUIÇÃO

<b>Produto (fábrica)</b>	<b>Tipo</b>	<b>Fibra bruta<sup>1</sup></b>	<b>Glicídeos<sup>2</sup></b>	<b>Gordura<sup>2</sup></b>	<b>Proteína<sup>1</sup></b>	<b>Kcal</b>
Hill's (science diet)	seca	1	21	50	29	510
	úmida	1	7	60	33	230
Purina (DM)	seca	1	11	37	52	592
	úmida	4	7	44	49	194

<sup>1</sup> % em base seca. <sup>2</sup> Como % de energia metabolizável.

o problema. No entanto, é muito importante prever uma resposta glicêmica ao alimento ingerido, uma vez que o regime terapêutico com a insulina é fixo. Desta maneira, as refeições devem preferencialmente conter os mesmos ingredientes e calorias.

A quantidade da proteína da dieta é um ponto controverso em humanos, pois apesar de proteína ser um secretagogo de insulina muito menos potente que a glicose, variações na quantidade de proteína na dieta podem influenciar o controle metabólico da DM por alterar a disponibilidade de substratos para a gliconeogênese, bem como as secreções hormonais contrarregulatórias. Como o consumo prolongado de quantidades excessivas de proteína, especialmente em conjunto com altos teores de fósforo e sódio, pode contribuir para progressão da nefropatia diabética em humanos, e o consumo de dietas com baixo teor proteico reduz a velocidade de desenvolvimento dessa complicação, parece prudente recomendar uma ingestão proteica reduzida para cães diabéticos, atendendo às necessidades diárias, porém sem exageros (menos de 30 % de proteína em uma base de energia metabolizável). Também é recomendada a ingestão reduzida de proteínas quando já existe evidência de insuficiência renal, apesar de a nefropatia diabética ser um fenômeno raro em cães. Cães com DMID, mesmo mantidos euglicêmicos, apresentam um aumento significativo no catabolismo de aminoácidos com terapia insulínica por via subcutânea, e esse aumento é mais pronunciado em cães alimentados com dietas ricas em proteínas.

Desarranjos no metabolismo das gorduras são comuns em pacientes diabéticos e incluem concentrações séricas elevadas de colesterol, triglicerídeos, lipoproteínas e ácidos graxos livres, além de lipidose hepática, aterosclerose e a predisposição para desenvolvimento de pancreatite. A ingestão de dietas ricas em gordura também leva à re-

sistência insulínica, estimula a produção de glicose hepática e suprime a função das células  $\beta$ . Desta forma é aconselhável alimentar cães diabéticos com dietas com baixo teor de gordura (menos de 30 % de gordura em uma base de energia metabolizável). Esse tipo de dieta também ajuda a reduzir o risco de pancreatite, controla a hiperlipidemia e reduz o incremento calórico da refeição, favorecendo a redução ou manutenção de peso corporal. Contudo, uma alimentação rica em gorduras pode ser necessária para promover ganho de peso em cães diabéticos muito magros ou emaciados, uma vez que dietas ricas em fibras são contraindicadas nesses pacientes devido ao seu baixo teor calórico.

A obesidade causa uma redução na tolerância à glicose em cães e pode ser um importante fator envolvido nas variações na resposta à insulina em cães diabéticos. A redução do peso melhora o controle glicêmico em cães, provavelmente via reversão da resistência à insulina induzida pela obesidade. O sucesso na redução do peso requer uma combinação de restrição calórica, alimentação com dietas com baixo teor de gordura e aumento do gasto calórico-energético via exercícios. É importante começar um regime alimentar que permita ao cão reduzir seu peso gradualmente até um peso corporal ideal. A insulina é um hormônio anabolizante, e cães recebendo altas doses podem estar predispostos à obesidade.

É importante estabelecer metas realistas para perda de peso. Para alcançar uma perda de peso da ordem de 15 %, os cães podem comer  $55 \times [\text{peso inicial (kg)}^{0,75}]$  kcal por dia durante 12 semanas. Apesar de existir diversas rações específicas para perda de peso, é recomendado o uso de rações que utilizem boa quantidade de fibras em cães diabéticos obesos. A quantidade de alimento por refeição e o horário das refeições serão determinados de acordo com o regime terapêutico

com a insulina. Além da redução da ingestão calórica, deve-se incentivar a perda de calorias através da prática de exercícios.

Uma vez atingido o peso ideal do paciente diabético, deve-se substituir a alimentação por uma ração específica para manutenção. A escala de alimentação deve ser realizada de modo a favorecer o efeito da insulina e minimizar a hiperglicemia pós-prandial. A ingestão calórica diária deve ocorrer quando a insulina ainda está presente na circulação e é capaz de promover a absorção da glicose absorvida da refeição. Tipicamente cães diabéticos recebem insulina duas vezes por dia e recebem duas refeições de tamanhos iguais no horário de cada aplicação de insulina. Esse regime é prático por simplificar o regime terapêutico em casa, além de oferecer maiores chances de um bom controle glicêmico. Se o paciente está recebendo somente uma dose de insulina por dia ele deve receber uma refeição no momento da aplicação e outra de igual tamanho cerca de 8 a 10 horas depois. Esse esquema funciona bem para cães glutões. No entanto, cães enjoados que comem várias vezes por dia devem ficar com a ração disponível durante todo o dia, mantendo-se o comportamento alimentar do cão e permitindo-lhe que escolha quando e quanto comer. Contudo, melhores resultados são observados com aplicação de insulina duas vezes por dia, associada a duas refeições no momento de cada aplicação. Quando se aplica a insulina e o paciente não come, cria-se uma situação de risco para ocorrência de hipoglicemia, e, de uma forma geral, deve-se evitar que o paciente coma quando bem entender. Isto cria a necessidade de estratégias para estimular a ingestão de todo alimento na hora da aplicação da insulina. A adição de mínimas quantidades de peito de frango cozido, ou ricota, triturado e misturado à ração, pode facilitar a ingestão da refeição, uma vez que é conhecida a menor palatabilidade das rações ricas em fibras.

Frequentemente a DM é acompanhada por outras doenças que também apresentam dietas terapêuticas como forma de tratamento, como é o caso da insuficiência renal crônica, insuficiência cardíaca, moléstias hepáticas ou pancreatite recorrente, por exemplo. No caso de uma dessas enfermidades estarem ocorrendo concomitantemente, deve-se utilizar uma ração específica para controle de tal enfermidade, uma vez que a dieta na DM é uma terapia adjunta, e o controle glicêmico pode ser obtido por uso da insulina.

#### Terapia de exercícios

O exercício apresenta um importante papel na manutenção do controle glicêmico em cães diabéticos, por auxiliar na redução de peso e por eliminar a resistência insulínica induzida pela obesidade. Além disto, os exercícios aumentam a mobilização de insulina do local de aplicação (presumivelmente via aumento na circulação sanguínea e linfática) e também aumentam o fluxo sanguíneo muscular, o que leva a uma maior disponibilidade de insulina nesse tecido. Adicionalmente, o exercício promove e estimula a translocação de transportadores GLUT-4 para a membrana celular, aumentando a captação de glicose no músculo esquelético. O exercício também melhora a distribuição de glicose em pacientes hiperglicêmicos na presença de concentrações basais de insulina.

A rotina diária de um paciente diabético deve incluir exercícios preferencialmente na mesma hora do dia. Exercícios esporádicos e extenuantes podem causar hipoglicemia e devem ser evitados. Recomenda-se que a dose de insulina seja reduzida à metade em dias em que o animal seja submetido a exercícios prolongados e cansativos. É difícil acertar a dose de redução para cada animal, por isso recomenda-se fazer eventuais ajustes observando-se os sinais de hipoglicemia ou

poliúria e polidipsia presentes nas próximas 24 a 48 horas. Os proprietários devem estar cientes dos riscos e dos sinais de hipoglicemia e ter à disposição uma fonte de glicose em caso de emergência (açúcar, comida).

A recomendação da prática de exercícios para um paciente diabético que não esteja recebendo terapia insulínica pode ser uma atitude desastrosa. Na ausência de insulina, a prática de exercícios induz uma resposta contrarregulatória exagerada de cortisol, catecolaminas, glucagon e hormônio do crescimento. O resultado é um marcante aumento da glicemia, ácidos graxos livres circulantes, lactato e outros metabólitos, predispondo o paciente ao desenvolvimento de severa crise cetoacidótica.

Dentro de um regime de aplicação de insulina a cada 12 horas, deve-se evitar a realização de exercícios no período de pico de ação de insulina, período onde serão observados os menores valores de glicemia. Essa prática pode causar crise hipoglicêmica durante a prática do exercício. Apesar de as glicemias serem flutuantes de um dia para outro, pode-se estimar o horário de pico para determinado paciente através da realização de uma curva glicêmica seriada. Neste sentido, é mais interessante a realização de exercícios após o período de pico de ação da insulina, quando a glicemia deverá começar a subir novamente e então um efeito hipoglicemiante do exercício poderia ser mais interessante no sentido de limitar este aumento da glicemia. No entanto, cada paciente apresentará uma resposta distinta à prática de atividade física, sendo difícil a recomendação de um protocolo específico.

## Drogas hipoglicemiantes

Diversos agentes hipoglicemiantes de uso oral estão à disposição de humanos com DM tipo II, e muitos deles apresentam um bom efeito sobre o controle glicêmico de gatos diabéticos, mas não de cães, motivo pelo qual não se recomenda o tratamento de cães diabéticos com estas drogas. As drogas da família das sulfonilureias (glipizide, glyburide, glibenclamide e tolbutamide) agem amplificando a secreção de insulina das células  $\beta$ . Como cães diabéticos não apresentam função suficiente de células  $\beta$ , estas drogas não causam nenhuma melhora no controle glicêmico, além de causarem exaustão terminal das células  $\beta$  naqueles casos de diabetes com possibilidade de remissão do estado diabético (diabetes mellitus transitória).

Outros grupos de fármacos melhoram o efeito da insulina por promoverem um aumento na sensibilidade periférica ao hormônio, sendo muito utilizados em humanos com DM tipo II, mas não em pacientes com DM tipo I. Estes grupos são as biguanidas (biguanida metformina que inibe a liberação hepática de glicose) e as tiazolidinedionas (troglitazona, pioglitazona e rosiglitazona que facilitam a distribuição de glicose dependente de insulina e inibem a secreção hepática de glicose por atenuar a gliconeogênese e a glicogenólise). Devido à falta de estudos controlados e informações acerca do uso por longos períodos destas drogas em cães diabéticos, seu uso deve ser restringido a casos de DM mal controlada em que o motivo do fraco controle não pôde ser identificado. Um simples ajuste na dose de insulina é suficiente para vencer a resistência insulínica.

Acarbose e miglitol são oligossacarídeos complexos de origem microbiana que inibem competitivamente as  $\alpha$ -glicosidasas (glicoamilase, sacarase, maltase e isomalta-

se) nas microvilosidades da mucosa intestinal. A inibição dessas enzimas retarda a digestão de carboidratos complexos e dissacarídeos em monossacarídeos. Desta forma, aumenta a digestão de carboidratos no íleo e no cólon, reduzindo a absorção de glicose a partir do trato intestinal, reduzindo-se também a hiperglicemia pós-prandial. Apesar de haver a possibilidade de a acarbose auxiliar positivamente o tratamento de cães diabéticos, seu uso como único método de controle glicêmico não é efetivo no controle da DM. Além disto, a diarreia e a perda de peso por consequência da má assimilação de carboidratos são importantes efeitos adversos. Como também é uma droga de custo elevado, preconiza-se que seja utilizada somente nos casos em que o motivo do controle glicêmico deficiente não foi identificado e a terapia insulínica sozinha não conseguiu evitar os sinais clínicos de DM.

Suplementos alimentares para humanos diabéticos como ervas, vitaminas e outros, utilizados com o objetivo de reduzir a glicemia e a hiperlipidemia e assim evitar o aparecimento de complicações crônicas da DM (aterosclerose, retinopatia), não devem apresentar grande impacto em cães com DM, uma vez que são terapias utilizadas em pacientes com DM tipo II e visam retardar as complicações crônicas da DM, que são pouco comuns em cães. Se a terapia insulínica falhar em manter um controle adequado dos sinais clínicos, deve-se realizar uma cuidadosa avaliação à procura da causa do pobre controle da glicemia. Se a razão não puder ser encontrada e corrigida, a terapia adjunta com acarbose deve reduzir a glicemia.

Algumas plantas são utilizadas para diminuir a glicemia, entre as quais estão *Cissus sicyoides*, *Syzygium cumini* e *Arcticum* sp. Minerais como o vanádio e o cromo possuem efeitos hipoglicemiantes por mecanismos desconhecidos até agora.

## Complicações da terapia insulínica

### Hipoglicemia

A severa hipoglicemia resultante de uma overdose de insulina pode causar danos cerebrais irreversíveis e morte. Os sinais clínicos de neuroglicopenia incluem fraqueza, agitação, andar acelerado, anorexia e diarreia. Casos mais graves evoluem para ataxia, cegueira, tremores, taquicardia, desmaios e coma, ocasionalmente associado a áreas multifocais de necrose.

A hipoglicemia inconsciente, na qual o paciente não demonstra sinais de hipoglicemia, é uma consequência de alterações no transporte cerebral de glicose e nos mecanismos de resposta contrarregulatórios mediados por catecolaminas. Este fenômeno é comum em humanos diabéticos e também observado em animais. A hipoglicemia acelera a entrada de glicose no cérebro, e então, durante um evento hipoglicêmico subsequente, o cérebro é menos afetado que o normal, e assim não desencadeia uma resposta contrarreguladora e os sinais de alerta comumente desencadeados. Recentemente foi demonstrada se-creção reduzida de glucagon em resposta à hipoglicemia em cães diabéticos.

Episódios graves de hipoglicemia podem ocorrer em cães diabéticos que recebem mínimo controle de glicemia durante meses, por apresentarem sinais de bom controle glicêmico. O risco de hipoglicemia é maior quando: (1) os cães recebem insulina uma vez por dia, em vez de duas; (2) os cães apresentam um bom controle glicêmico, resultando em baixos valores de glicemia na hora da aplicação de uma nova dose de insulina. Também existe uma variedade de fatores médicos e de manejo que podem resultar em overdose, incluindo incompleta mistura da suspensão de insulina, administração de in-



sulina em intervalos irregulares, inapetência, exercício excessivo e melhora na sensibilidade à insulina associada ao fim do diestro ou tratamento de doenças concomitantes como o hiperadrenocorticismo.

Outras causas de hipoglicemia em pacientes diabéticos incluem hipoadrenocorticismo, terapia com hormônio tireoideo como tratamento para hipotireoidismo concomitante a DM e hiperatividade após facoemulsificação. Contudo, a maior e principal causa de hipoglicemia é a overdose de insulina. Episódios recorrentes de hipoglicemia induzem uma *down-regulation* do SNC, de forma que quanto maior a frequência de episódios hipoglicêmicos, mais fraca é a resposta contrarreguladora e maior a chance de ocorrer uma hipoglicemia inconsciente.

Se sinais leves de hipoglicemia forem perceptíveis, o proprietário deve servir uma refeição da comida usual do cão. Se o cão estiver sem vontade de comer ou incapaz de alimentar-se, deve-se administrar um xarope por via oral com alta concentração de glicose ou então açúcar espalhado na mucosa oral. Usualmente, recomenda-se então uma redução de 50 % na dose de insulina.

#### Persistência ou recorrência dos sinais clínicos

A persistência ou recorrência dos sinais clínicos de DM, como poliúria, polidipsia, polifagia e perda de peso, são consideradas as complicações mais comuns do tratamento com insulina e são decorrentes de problemas na técnica de administração, ou são problemas inerentes ao tipo de insulina (curta duração do efeito), dose insuficiente, espécie da qual provém a insulina, frequência de admi-

nistração, ou ainda estão relacionadas à efetividade do hormônio. Todas essas causas devem ser investigadas antes de se tomar qualquer decisão a respeito da terapia insulínica.

A ocorrência de reações alérgicas no local da injeção é rara em cães, mas quando ocorre, a inflamação e o edema local prejudicam a absorção de insulina, sendo então indicado variar o local das aplicações, trocar a espécie de insulina por uma mais homóloga e também por uma preparação mais purificada, como a insulina cristalina regular.

#### Efeito Somogyi

O efeito Somogyi, ou rebote hiperglicêmico, é um fenômeno decorrente de uma overdose de insulina com conseqüente hipoglicemia e acentuada elevação secundária da glicemia. Este efeito caracteriza-se por um fenômeno fisiológico em resposta a uma redução muito rápida da glicemia, ou então em resposta a uma glicemia menor que 65 mg/dL. Nestas situações são estimulados diversos mecanismos fisiológicos que interferem com o efeito da insulina e estimulam a produção de glicose hepática, principalmente a liberação de adrenalina e glucagon, os quais não só estimulam a produção de glicose como também diminuem a sua utilização periférica. Desta maneira, observa-se após o episódio hipoglicêmico, eventualmente na manhã seguinte, uma marcada hiperglicemia (400 a 800 mg/dL) com glicosúria.

A terapia para o fenômeno Somogyi envolve a redução na dose de insulina em 10 a 25 %, ou, em alguns casos, deve-se reiniciar a terapia insulínica com 0,25 U/kg BID. A reavaliação do paciente é recomendada para ser feita após 5 ou 7 dias, uma vez que este fe-

nômeno pode induzir resistência à insulina por um período de 24 a 72 horas. A duração prolongada do efeito da insulina, com sobreposição de efeito entre uma dose e outra, assim como ajustes na dose de insulina baseado na glicosúria matinal pelos proprietários são fatores frequentemente envolvidos na ocorrência do fenômeno Somogyi, o qual deve ser suspeitado em qualquer animal demonstrando deficiente controle glicêmico e/ou com elevadas concentrações séricas de fructosamina.

#### Anticorpos anti-insulina

A produção de anticorpos anti-insulina em cães diabéticos apresenta um impacto deletério na efetividade da insulina, prejudica o controle glicêmico e em casos extremos provoca severa resistência à insulina, apesar de alguns animais com anticorpos anti-insulina manterem-se estáveis. A presença destes anticorpos também apresenta a capacidade de causar flutuações erráticas e imprevisíveis na glicemia. Anticorpos contra insulina podem afetar a farmacocinética da insulina exógena administrada por diversos mecanismos, como, por exemplo, prejudicando a farmacodinâmica como um carreador ou inibindo seu efeito por neutralização.

Estes anticorpos desenvolvem-se em alguns animais após início da terapia insulínica em resposta a aplicações repetidas do hormônio para promover o controle glicêmico. No entanto, alguns animais não desenvolvem estes anticorpos, provavelmente devido à indução de tolerância do sistema imune à proteína exógena que esta sendo administrada diariamente. Estes anticorpos presentes também em humanos diferem daqueles encontrados

em pacientes que desenvolveram autoimunidade contra a insulina endógena e outros componentes das ilhotas pancreáticas.

Existe uma grande variação no tempo de insulino terapia necessário para indução de anticorpos, sendo que alguns animais desenvolveram anticorpos após um mês de tratamento e outros recebendo insulina por anos não desenvolveram. Estudos sugeriram que é necessário um adjuvante para indução da formação de anticorpos contra insulina, e impurezas e substâncias utilizadas para aumentar o efeito da insulina, como a protamina, poderiam atuar como tal. A estrutura e a sequência de aminoácidos da insulina injetada relativa à insulina endógena influenciam a formação de anticorpos, embora a conformação estrutural dos epítomos da molécula pareça ser mais importante do que a simples sequência de aminoácidos. Em cães a insulina suína é a menos antigênica por apresentar uma sequência de aminoácidos idêntica a da insulina canina. A insulina humana difere em apenas um aminoácido, enquanto a bovina difere em dois, sendo a mais imunogênica e menos indicada para uso em cães diabéticos. Apesar de incomum, anticorpos anti-insulina devem ser suspeitados em cães com pobre controle glicêmico, quando a causa para tal não é identificada.

#### Resistência insulínica

A resistência insulínica é uma condição na qual uma quantidade normal de insulina produz uma resposta biológica subnormal, e pode ser decorrente de problemas antes da interação da insulina com seu receptor, problemas no receptor, ou ainda problemas nas cas-

catas fosforilativas pós-receptor. Os defeitos pré-receptor são decorrentes de redução na quantidade de insulina metabolicamente ativa, incluindo aumento na degradação da insulina e anticorpos anti-insulina. Os defeitos de receptor incluem decréscimo na concentração de receptores de insulina na membrana plasmática, com redução na atividade tirosina quinase do receptor. Os defeitos pós-receptor incluem reduzida concentração e fosforilação de IRS-1 e IRS-2, fosfatidilinositol 3-OH quinase, mutações nos transportadores de glicose, alterações tecido-específicas na produção de GLUT-4, defeitos na translocação intracelular de GLUT-4 ou ainda defeitos nas vias de sinalização e enzimas intracelulares.

Diversos fatores circulantes podem estar envolvidos na modulação da ação da insulina e da resistência insulínica, como, por exemplo, a insulina *per se*, o fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), interleucinas, ácidos graxos e produtos derivados da glicosilação de proteínas que influenciam a ação da insulina através de interferências com as vias de sinalização da insulina. O tecido adiposo apresenta um papel especial na resistência à insulina. Os ácidos graxos livres derivados dos adipócitos são os responsáveis pelos distúrbios pós-receptor que resultam na resistência, assim como outras substâncias secretadas por estas células, como as adipocitocinas leptina e TNF- $\alpha$ .

Os problemas nos receptores e pós-receptor são de difícil diferenciação clínica e geralmente acontecem juntos, sendo atribuídos à obesidade e desregulação no metabolismo de ácidos graxos ou a distúrbios intercorrentes que causem aumento na secreção de hormônios antagônicos à insulina, como o cortisol, glucagon, adrenalina, hormônio do crescimento, progesterona e hormônios tireóideos. Os mecanismos de resistência à insulina em cães experimentalmente hiperinsulinêmicos envolvem uma redução na

captação de glicose induzida pela insulina, assim como prejuízo na cinética de captação de glicose, em parte devido à redução na atividade tirosina quinase do receptor de insulina, demonstrando que a hiperinsulinemia leva à resistência periférica à insulina.

A ocorrência de resistência insulínica, quando ocorrem altas glicemias com pouca redução após administração de insulina, pode estar sendo causada por doença intercorrente ou medicações. A resistência à insulina também pode ser suspeitada quando não se consegue reduzir a glicemia a valores abaixo de 300 mg/dL, mesmo com doses de insulina superiores a 1,5 U/kg em uma curva glicêmica seriada, assim como quando o controle glicêmico é errático e há necessidade de constantes alterações na dose de insulina dentro de semanas na tentativa de manter o adequado controle. Hiperglicemia por estresse, fenômeno Somogyi, problemas com a terapia insulínica e doenças intercorrentes também podem levar à resistência insulínica.

### Prognóstico

Os avanços nas tecnologias disponíveis, estudos de manutenção nutricional do paciente diabético, associados à maior consciência dos proprietários com relação à posse responsável, e ao maior cuidado dos veterinários com doenças concomitantes como as infecções do trato urinário e doenças periodontais, vêm contribuindo para maior sucesso da terapia em longo prazo dos animais diabéticos e conseqüente redução da mortalidade.

Em geral, o prognóstico para cães diabéticos depende em parte do compromisso do proprietário em tratar a doença, da facilidade de controlar a glicemia e da presença e reversibilidade de doenças intercorrentes, assim como de evitar as complicações crônicas associadas à doença. Pacientes com dia-

betes vivem em média três anos após o diagnóstico, apesar de que cães diabéticos que sobrevivem os primeiros seis meses podem facilmente viver mais que cinco anos com a doença se houver adequado cuidado dos proprietários e avaliações frequentes pelo veterinário, além de uma boa comunicação entre os proprietários e o clínico.

### Distúrbios de estocagem de glicogênio

Caracterizam-se pelo acúmulo exagerado de glicogênio no fígado e no músculo, devido a falhas enzimáticas no metabolismo do glicogênio, sendo particularmente importantes em humanos. Em geral, são transtornos hereditários ligados a genes recessivos.

São conhecidos 8 tipos diferentes desses distúrbios, dos quais 4 têm sido relatados em

animais. O Quadro 4 mostra os tipos de distúrbios de estocagem de glicogênio, as enzimas envolvidas, os principais sintomas e as espécies em que têm sido relatados.

### Transtornos congênitos em enzimas do metabolismo dos glicídeos

#### Anemia hemolítica congênita

A anemia hemolítica congênita, uma doença rara em animais e humanos, deve-se a um gene homozigótico recessivo que afeta a síntese da enzima piruvato quinase (PK, enzima da glicólise) nos reticulócitos, diminuindo a quantidade da enzima nos eritrócitos. Ao contrário dos animais homozigóticos, os heterozigóticos não apresentam

QUADRO 4 – TIPOS DE DISTÚRBIOS DE ESTOCAGEM DE GLICOGÊNIO

Tipo	Enzima deficitária	Sintomas	Espécie <sup>1</sup>
I (von Gierke)	glicose-6-fosforilase	hepatomegalia, hipoglicemia, baixa resposta a adrenalina/glucagon	cães
II (Pompe)	α-glicosidase	hepatomegalia, cardiomegalia, morte precoce	bovinos, cães, codornas
III (Cori)	enzima desramificante	hipoglicemia, hepatomegalia, falta de resposta a adrenalina/glucagon, morte precoce	cão Pastor Alemão
IV (Andersen)	enzima desramificante	similar a de tipo III	só humano
V (McArdel)	fosforilase muscular	acúmulo de glicogênio no músculo	só humano
VI	fosforilase hepática	acúmulo de glicogênio no fígado	só humano
VII (Tarui)	fosfofrutoquinase muscular	acúmulo de glicogênio no músculo	só humano
VIII	fosforilase quinase	hepatomegalia, hipoglicemia	rato, camundongo

<sup>1</sup> Todos os tipos têm sido relatados em humanos.

sinais clínicos. Os níveis da enzima nos eritrócitos dos animais afetados são da ordem de 5 a 25 % dos níveis normais. Como resultado, ocorre uma acumulação de intermediários da via glicolítica, com diminuição da produção de piruvato e lactato e severa redução da produção de ATP. A falta de ATP no eritrócito afeta a atividade da bomba Na-K ATPase, necessária para a manutenção do equilíbrio eletrolítico e a forma bicôncava da célula sanguínea, a qual é essencial para o deslocamento fácil dos eritrócitos através dos capilares e o intercâmbio de oxigênio com os tecidos. O metabolismo energético é marcadamente prejudicado em animais com deficiência de PK, resultando em diminuição da meia-vida eritrocitária com conseqüente hemólise e anemia. Ocorre um efeito compensatório, em que se observa hiperplasia eritroide na medula óssea seguida de reticulocitose marcante no sangue periférico. A falha é evidenciada apenas nos eritrócitos, os quais dependem da via glicolítica para obter ATP. Nos reticulócitos são observados níveis adequados de ATP, pois essas células podem produzir ATP via fosforilação oxidativa nas mitocôndrias.

A anemia hemolítica prolongada resulta em absorção excessiva de ferro intestinal. Hemosiderose, hemocromatose e fibrose se desenvolvem no fígado secundariamente à sobrecarga de ferro. Os cães deficientes de PK evoluem a progressivas mielofibrose e osteosclerose, o que não é observado em outras espécies. A osteosclerose pode ser observada através de radiografia de ossos longos em animais com um ano de vida, e em três anos pode obstruir completamente as cavidades medulares. Animais afetados morrem entre 1 e 5 anos de idade devido à falência hepática e medular.

A doença é reconhecida entre os 4 meses e o primeiro ano de vida. Os animais afetados têm poucos sinais clínicos no primeiro ano de vida, mesmo com anemia severa. Os

sinais clínicos são variáveis e inespecíficos, podendo incluir letargia, depressão e diminuição do apetite. A característica clínica mais observada é uma anemia hemolítica severa, altamente regenerativa, intolerância ao exercício e palidez de mucosas. Os animais podem apresentar taquicardia, sopro sistólico, hepatoesplenomegalia e raramente icterícia. Felinos também apresentam anemia hemolítica crônica e esplenomegalia, porém, diferentemente dos cães, não evoluem para osteosclerose. Uma forma de identificar o transtorno de forma precoce é comparar o comportamento entre os filhotes irmãos. Muitos animais acabam sendo tratados para outras doenças como hemoparasitose ou anemia hemolítica imunomediada.

O diagnóstico deve ser feito com base nos sinais clínicos, levando em conta nutrição, infecções e crescimento, e outros fatores que podem influenciar nas vias metabólicas. Depois de excluídas as causas comuns de anemia hemolítica como imunomediada, tóxica ou infecciosa, deve ser considerada a deficiência de PK. No hemograma se observa uma anemia hemolítica regenerativa severa, com o hematócrito variando de 17 a 28 %. A anemia geralmente é macrocítica hipocrômica, o VCM varia entre 86 a 105 fL e a CHCM varia de 25 a 32 g/dL. A contagem de reticulócitos não corregida varia de 12 a 66 %, e a corregida, de 0,5 a 1,5 x 10<sup>6</sup>/μL. Os valores de hematócrito e reticulócitos diminuem à medida que a mielofibrose e a osteosclerose se tornam mais severas. A contagem de leucócitos pode estar normal ou aumentada com neutrofilia madura. A contagem de plaquetas pode estar normal ou discretamente aumentada. Também pode observar-se policromasia e anisocitose de moderada a intensa, e presença de eritrócitos imaturos. Equinócitos podem ser observados, bem como esquistócitos e acantócitos em animais sometidos a esplenectomia. Na medula óssea se observa hiperplasia eritroide refletindo a

intensa eritrogênese. A bioquímica sérica mostra poucas alterações, sendo mais relatada uma hiperbilirrubinemia não conjugada e diminuição de haptoglobina. Na avaliação radiográfica há aumento da densidade óssea, principalmente em animais mais velhos.

O tratamento é basicamente sintomático. O uso de corticoterapia e a esplenectomia parecem minimizar os sinais clínicos de anemia intermitente. Entretanto, alguns autores citam que a esplenectomia não tem se mostrado efetiva para diminuir o grau de hemólise, sendo indicada em animais que têm crises frequentes a fim de remover o maior sítio de hemólise extravascular. Transfusões sanguíneas com doadores compatíveis são necessárias em casos de hematócrito menor de 10 %. O uso de imunoglobulina humana intravenosa pode ajudar a estabilizar a anemia hemolítica, pois bloqueia os receptores Fc dos macrófagos e liga os anticorpos circulantes, diminuindo os distúrbios imuno-hematológicos. Porém, não promove sobrevivência a longo prazo, e tratamentos repetidos podem ser perigosos, além de ser o custo elevado.

A fim de limitar a propagação desses transtornos hereditários, é fundamental reconhecer não somente os animais afetados, mas também os portadores que podem transmitir o gene mutante. Testes bioquímicos e moleculares têm sido desenvolvidos para a sua detecção.

#### Síndrome de estresse em suínos

Ocorre em porcos particularmente suscetíveis ao estresse, especialmente por ocasião do transporte ao frigorífico. Os animais apresentam febre, e sua carne apresenta palidez, retenção de água e pH ácido. O músculo é o órgão afetado, tornando-se rígido e gerando calor e ácido láctico. O problema parece residir na falha do controle alostérico das enzimas 6-fosfofructoquinase e/ou fructose-

1,6-difosfatase, acelerando o ciclo fútil que hidrolisa ATP com produção de calor:



Em humanos, um efeito similar é produzido por certos anestésicos, como o halotano, causando “hipertermia maligna”, com dramático aumento da temperatura corporal, acidose metabólica e respiratória, hipercalemia e rigidez muscular.

#### Fructosúria e intolerância à fructose

A fructose pode suprir 30 a 60 % da necessidade de glicídeos dos animais. Entretanto, algumas deficiências genéticas de enzimas responsáveis pela metabolização da fructose podem causar transtornos metabólicos. A deficiência de fructoquinase, primeira enzima da via da fructólise, produz fructosúria, sem aparecimento de outro sintoma específico, além dos altos níveis de fructose no sangue e na urina após o consumo deste monossacárideo. Nesse caso, porém, 90 % da fructose pode ser metabolizada por outras vias.

A intolerância à fructose, por falta de fructose-1-fosfato aldolase, causa acúmulo intracelular de fructose-1P, caracterizando-se por uma severa hipoglicemia após ingestão de fructose.

#### Galactosemia

Em humanos, podem ser encontrados defeitos congênitos que levam à galactosemia hereditária, por incapacidade de metabolizar galactose. A falha pode estar na enzima galactose quinase ou na galactose-1P-uridiltransferase. No caso da primeira enzima, a doença é leve, caracterizada pela tendência à formação de catarata. A falha na segunda enzima causa um problema mais grave, provocando crescimento deficiente, retardo mental e falha hepática fatal.

## REFERÊNCIAS

- APPLETON D. J.; RAND J. S.; SUNVOLD G. D. Insulin sensitivity decreases with obesity, and lean cats with low insulin sensitivity are at great risk of glucose intolerance with weight gain. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 3, p. 211-228, 2001.
- BAGLEY, L. H.; LAVACH, J. D. Comparison of postoperative phacoemulsification resultus in dogs with and without diabetes mellitus: 153 cases (1991-1992). *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 205, p. 1165-1169, 1994.
- BAILHACHE, E. et al. Lipoproteins abnormalities in obese insulin-resistant dogs. *Metabolismo*, v. 52, p. 559-564, 2003.
- BEAM, S.; CORREA, M. T.; DAVIDSON, M. G. A retrospective-cohort study on the development of cataracts in dogs with diabetes mellitus: 200 cases. *Veterinary Ophthalmology*, v. 2, p. 169-172, 1999.
- BEHREBD E. N.; GRECO D. S. Feline diabetes mellitus: evaluation of treatment. *Compendium*, v. 22, p. 440-450, 2000.
- BEHREBD E. N.; GRECO D. S. Treatment of feline diabetes mellitus: overview and therapy. *Compendium*, v. 22, p. 423-427, 2000.
- BEHREND, E. N. Diabetes mellitus: an update on oral hypoglycemic agents and monitoring options. *Veterinary Medicine October*, p. 743-751, 2002.
- BELL, G. I. et al. Structure and function of mammalian facilitative sugar transporters. *J. Biol. Chem*, v. 268, p. 19161-19164, 1993.
- BRENNAN C. L.; HOENIG M.; FERGUSON D. C. GLUT4 but not GLUT1 expression decreases early in the development of feline obesity. *Domestic Animal Endocrinol*, v. 26, p. 291-301, 2004.
- BREUKINK H. J. Abomasal displacement: Etiology, pathogenesis, treatment and prevention. *Bovine Pract.*, v. 26, p. 148-153, 1991.
- CASELLA, M. et al. Home monitoring of blood glucose concentration by owners of diabetic dogs. *Journal of Small Animal Practice*. v. 44, p. 298-305, 2003.
- CATCHPOLE, B. et al. Canine diabetes mellitus: can old dogs teach us new tricks? *Diabetologia*, v. 48, p. 1948-1956, 2005.
- COPPOCK, C. E. et al. Effect of forage-concentrate ration in complete feeds fed ad libitum on feed intake prepartum and occurrence os abomasal displacement in dairy cows. *J. Dairy Sci*, v. 55, p. 783-789, 1972.
- COX D. Pancreatic insulin-secreting neoplasm (insulinoma) in a West Highland White Terrier. *The Canadian Veterinary Journal*, v. 40, p. 343-345, 1999.
- DAVISON, L. J. et al. Anti-insulin antibodies in dogs with naturally occurring diabetes mellittus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 91, p. 53-60, 2003.
- DUARTE, R. et al. Accuracy of serum beta-hydroxybutyrate measurement for diagnosis of diabetic ketoacidosis in 116 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 16, p. 411-417, 2002.
- ETTINGER, S. J. Distúrbios do Pâncreas Endócrino. In: *Manual de Medicina Interna Veterinária*, São Paulo: Manole, 1996, p. 621-630.
- FERREIRA, P. M. et al. Custo e resultados do tratamento de sequelas de laminite bovina:relato de 112 casos em vacas em lactação no sistema free-stall. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 56, p. 589-594, 2004.
- FISCHER, S. J. et al. Insulin-independent acute restoration of euglycemia normalizes the impaired glucose clearance during exercise in diabetic dogs. *Diabetes*, v. 46, p. 1805-1812, 1997.
- FLEEMAN, L. M.; RAND, J. S. Evaluation of day-to-day variability of serial blood glucose concentration curves in diabetic dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 222, p. 317-321, 2003.

- FLEEMAN, L. M.; RAND, J. S. Management of canine diabetes. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 31, p. 855-879, 2001.
- FOSTER, D. W.; MCGARRY, J. D. The metabolic dearrangements and treatment of diabetic ketoacidose. *N. Engl. J. Med.*, v. 309, p. 159-169, 1983.
- GOMES, C. et al. Tratamento cirúrgico de insulinoma em um cão. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 35 (supl. 2), p. s370-s371, 2007.
- GOOD, K. L. et al. Corneal sensitivity in dogs with diabetes mellitus. *American Journal of Veterinary Research*, v. 64, n. 1, p. 7-11, 2003.
- GRAHAM, P. A. et al. Influence of a high fibre diet on glycaemic control and quality of life in dogs with diabetes mellitus. *Journal of Small Animal Practice*, v. 43, p. 67-73, 2002.
- GRECO, D. S. Diagnosis and treatment of juvenile endocrine disorders in puppies and kittens. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 31, p. 401-407, 2001.
- GRECO, D. S. Diagnosis of diabetes mellitus in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 31, p. 844-853, 2001.
- GUPTILL, L.; GLICKMAN, L.; GLICKMAN, N. Time trends and risk factors for diabetes mellitus in dogs: analysis of veterinary medical data base records. *The Veterinary Journal*, v. 165, p. 240-247, 2003.
- HABEL, R. E. et al.: Volvulus of the bovine abomasums and omasum. *J. Am. Vet. Assoc.*, v. 179, p. 447-455, 1981.
- HERS, H. G.; HUE, L. Gliconeogenesis and related aspects of glycolysis. *Ann. Rev. Biochem*, v. 52, p. 617, 1983.
- HESS, R. B.; KASS, P. H.; WARD, C. R. Breed distribution of dogs with diabetes mellitus admitted to a tertiary care facility. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 216, p. 1414-1417, 2000.
- HESS, R. B. et al. Concurrent disorders in dogs with diabetes mellitus: 221 cases (1993-1998). *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 216, p. 1166-1173, 2000.
- HESS, R. B.; WARD, C. R. Effect of insulin dosage on glycemic response in dogs with diabetes mellitus: 221 cases (1993-1998). *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 216, p. 217-221, 2000.
- HESS, R. S.; KASS, P. H.; Van WINKLE, T. J. Association between diabetes mellitus, hypothyroidism or hyperadrenocorticism, and atherosclerosis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 17, p. 489-494, 2003.
- HOENIG, M. Comparative aspects of diabetes mellitus in dogs and cats. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 197, p. 221-229, 2002.
- HOENIG, M.; FERGUSON, D. C. Diagnostic utility of glycosylated hemoglobin concentration in the cat. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 16, p. 11-17, 1999.
- HORN, B.; MITTEN, R. W. Evaluation of an insulin zinc suspension for control of naturally occurring diabetes mellitus in dogs. *Australian Veterinary Journal*, v. 78, p. 831-834, 2000.
- JEFFERS, J. G.; SHANLEY, K. J.; SCHICK, R. O. Diabetes mellitus induced in a dog after administration of corticosteroids and methylprednisolone pulse therapy. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 199, p. 77-80, 1991.
- JENSEN, A. L. Glycated blood proteins in canine diabetes mellitus. *Veterinary Record*, v. 137, p. 401-405, 1995.
- KAIYALA, K. J. et al. Obesity induced by a high-fat diet is associated with reduced brain insulin transport in dogs. *Diabetes*, v. 49, p. 1525-1533, 2000.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. L. (Ed.). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5 ed. San Diego: Academia Press, 1997.



- KATZ, J.; MCGARRY, J. D. The glucose paradox. Is glucose a substrate for liver metabolism? *J. Clin. Invest.*, v. 74, p. 1901, 1984.
- KIMMEL, S. E. et al. Effects of insoluble and soluble dietary fiber on glycaemic control in dogs with naturally occurring insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 216, p. 1076-1081, 2000.
- KLINKENBERG, H.; SALLANDER, M. H.; HEDHAMMAR, A. Feeding, exercise and weight identified as risk factors in canine diabetes mellitus. *The Journal of Nutrition*, v. 136, p. 1985S-1987S, 2006.
- KREBS, H. A. The history of the tricarboxylic acid cycle. *Perspect. Biol. Med.*, v. 14, p. 154, 1970.
- KWANG-HO J. Electroacupuncture and moxibustion for correction of abomasal displacement in dairy-cattle. *J. Vet. Sci.*, v. 4, p. 93-95, 2003.
- LARSEN, T.; MØLLER, G.; BELLIO, R. Evaluation of clinical and clinical chemical parameters in periparturient cows. *Journal of Dairy Science*, v. 84, p. 1749-1758, 2001.
- LATIMER, K. S.; MAHAFFEY, E. A. Neutrophil adherence and movement in poorly and well-controlled diabetic dogs. *American Journal of Veterinary Research*, v. 45, p. 1498-1500, 1984.
- LEIFER, C. E.; PETERSON, M. E.; MATUS, R. E. Insulin-secreting tumor: Diagnosis and medical and surgical management in 55 dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 188, p. 60-64, 1986.
- LIENHARD, F. E. et al. How cells absorb glucose. *Sci. Am.*, v. 266, p. 86-91, 1992.
- LOSTE, A.; MARCA, M. C. Fructosamine and glycated hemoglobin in the assesment of glycaemic control in dogs. *Veterinary Research*, v. 32, p. 55-62, 2001.
- LOSTE, A.; MARCA, M. C. Study of the effect of total serum protein and albumin concentrations on canine fructosamine concentration. *Canadian Veterinary Journal*, v. 63, p. 138-141, 1999.
- MARTIN G.; RAND J. Current understanding of feline diabetes: part 2. Treatment. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 2, p. 3-17, 2000.
- MARTIN, G. J.; RAND, J. S. Pharmacology of a 40 IU/ml porcine lente insulin preparation in diabetic cats: findings during the first week and after 5 or 9 weekss therapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 3, p. 23-30, 2001.
- MATTHEEUWS, D. et al. Diabetes mellitus in dogs: relationship of obesity to glucose tolerance and insulin response. *American Journal of Veterinary Research*, v. 45, p. 98-103, Jan. 1984.
- MAZZAFERRO, E. M. et al. Treatment of feline diabetes mellitus using an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor and a low-carbohydrate diet. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 5, p. 183-189, 2003.
- McGUIRE, M. C. et al. Detection of occult urinary tract infections in dogs with diabetes mellitus. *Journal American Animal Hospital Association*, v. 38, p. 541-544, 2002.
- MITCHELL, P. Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. *Science*, v. 206, p. 1148-1159, 1979.
- NELSON, R. W. et al. Effect of dietary insoluble fiber on control of glycemia in dogs with naturally acquired diabetes mellitus. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 212, p. 380-386, 1998.
- NEUVIANS, T.P.; BERGER, M. Diabetes care in cats and dogs. *Diabetic Medicine*, v. 19, p. 77-79, 2002.
- NUTTALL, F. Q. et al. Regulation of glycogen synthesis in the liver. *Am. J. Med.*, v. 85, supplement 5A, p. 77-85, 1988.
- O'BRIEN, T. D. Pathogenesis of feline diabetes mellitus. *Molecular and cellular Endocrinol*, v. 197, p. 213-219, 2002.
- PAULSON, J. C. Glycoproteins: what are the sugar chains for? *Trends Biochem. Sci.*, v. 14, p. 272-276, 1989.

- PEIKES, H.; MORRIS, D. A.; HESS, R. S. Dermatologic disorders in dogs with diabetes mellitus: 45 cases (1986-2000). *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v. 219, p. 203-208, 2001.
- PILKIS, S. J.; EL-MAGHRABI, M. R.; CLAUS, T. H. Hormonal regulation of hepatic gliconeogenesis and glycolysis. *Ann. Rev. Biochem.*, v. 57, p. 755-783, 1988.
- PÖPPL, A. G.; GONZÁLEZ, F. H. D. Aspectos epidemiológicos e clínico-laboratoriais da diabetes mellitus em cães. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 33, p. 33-40, 2005.
- PÖPPL, A. G.; GONZÁLEZ, F. H. D. Avaliação clínico-laboratorial de uma preparação de insulina suína lenta no controle de cães diabéticos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 34, p. 125-135, 2006.
- RAND, J. S. et al. Canine and feline diabetes mellitus: nature or nurture? *The Journal of Nutrition*, v. 134, p. 2072S-2080S, 2004.
- RAND, J. S.; MARTIN, G. J. Management of feline diabetes mellitus. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, v. 31, p. 881-914, 2001.
- REMILLARD R. L. Nutritional management of diabetic dogs. *Compendium*, v. 21, p. 699-713, 1999.
- TOTH, B.; BOLLEN, M.; STALMANS, W. Acute regulation of hepatic phosphatases by glucagon, insulin, and glucose. *J. Biol. Chem.*, v. 263, p. 14061, 1988.
- WINDEN S. C. et al. Left displacement of the abomasums in dairy cattle: recent developments in epidemiological and etiological aspects. *Vet. Res.* v. 34, p. 47-56, 2003.



### INTRODUÇÃO

Além das biomoléculas orgânicas, os tecidos animais também possuem elementos inorgânicos que fazem parte dos tecidos e se encontram em uma proporção de 2 a 5 % do peso total dos animais. Entre esses elementos, os minerais têm funções essenciais tanto na estrutura de tecidos e biomoléculas, como no próprio metabolismo animal, participando como cofatores enzimáticos, ativadores da ação hormonal, e como responsáveis pela pressão osmótica e pelo equilíbrio acidobásico.

Os minerais podem ser divididos em:

(a) Macrominerais, aqueles que estão em maior concentração no organismo animal e cujos requerimentos são expressados em porcentagem, quais sejam: cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), sódio (Na), cloro (Cl), potássio (K) e enxofre (S). As principais funções dos macrominerais são indicadas na Tabela 1.

(b) Microminerais ou oligoelementos, aqueles que estão em concentrações bem menores, cujos requerimentos são expressados em partes por milhão e entre os quais estão: cobre (Cu), zinco (Zn), iodo (I), selênio (Se), ferro (Fe), cobalto (Co), manganês (Mn), molibdênio (Mo) e flúor (F). As principais funções dos microminerais são indicadas na Tabela 2.

São considerados como minerais essenciais para os animais Ca, P, Mg, K, Na, Cl, S, I, Fe, Cu, Co, Mn, Zn, Se, Mo, Cr, Sr, V, Ni e Si. Desses elementos, não são essenciais para as plantas Ca, I, Co, Se e Cr, havendo, com

frequência, deficiências deles na alimentação baseada em pastagens. Os requerimentos médios na alimentação, a concentração plasmática e as principais fontes dos principais minerais são mostrados na Tabela 3.

As deficiências mais frequentes de macrominerais nos animais são as de fósforo e as de sódio, principalmente nos animais mantidos a pastejo. A deficiência de cálcio, embora menos frequente, cobra importância nos bovinos de leite e, em menor escala, em suínos, aves e cães. Quanto aos oligoelementos, as deficiências mais comumente observadas são as de cobre, cobalto e zinco, seguidas de ferro, selênio e iodo. Os graus de deficiência, porém, variam bastante, desde estados carenciais leves ou subclínicos que afetam principalmente a produtividade e a fertilidade até estados graves com sintomatologia específica.

A deficiência de fósforo é o distúrbio mineral mais comum e economicamente o mais importante em bovinos mantidos em regime de campo, devido às múltiplas funções que o fósforo desempenha no organismo e à deficiência generalizada em solos e forrageiras, além do elevado custo de sua suplementação.

Animais herbívoros encontram nas plantas um fator limitante para o surgimento de carências, pois a composição mineral dos vegetais é influenciada pelo clima, sendo necessária a avaliação dos seus teores em diferentes estações do ano, para ter uma estimativa da real composição. Características próprias das regiões tropicais, como as chu-

TABELA 1 – FUNÇÕES METABÓLICAS MAIS IMPORTANTES DOS MACROMINERAIS

<b>Mineral</b>	<b>Composição no organismo (%)</b>	<b>Função</b>
Cálcio (Ca)	1-2	mineralização óssea, regulação metabólica, coagulação sanguínea, contração muscular, transmissão de impulsos nervosos
Fósforo (P)	0,7-1,2	mineralização óssea, componente de DNA e RNA, parte de compostos de alta energia (ATP), regulação de enzimas alostéricas, componente dos fosfolipídeos
Potássio (K)	0,3	regulação da pressão osmótica, transmissão do impulso nervoso, regulação do equilíbrio acidobásico, contração muscular, controle do equilíbrio hídrico
Enxofre (S)	0,25	componente de aminoácidos sulfurados, componente de biotina e tiamina, componente de mucopolissacarídeos, reações de desintoxicação
Sódio (Na)	0,15	regulação da pressão osmótica, condução nervosa, transporte ativo de nutrientes, regulação do equilíbrio acidobásico, contração muscular, controle do equilíbrio hídrico
Cloro (Cl)	0,15	regulação da pressão osmótica, regulação do equilíbrio acidobásico, controle do equilíbrio hídrico, formação do HCl no suco gástrico
Magnésio (Mg)	0,045	cofator de mais de 300 enzimas, componente dos ossos, atividade neuromuscular

Adaptado de Spears (1999).

TABELA 2 – FUNÇÕES METABÓLICAS MAIS IMPORTANTES DOS MICROMINERAIS

<b>Mineral</b>	<b>Composição no organismo (ppm)</b>	<b>Função</b>
Ferro (Fe)	80	transporte e armazenamento de oxigênio (hemoglobina, mioglobina), transporte de elétrons, componente de enzimas (catalase, triptofano 5-monooxigenase, fenilalanina 4-monooxigenase, aconitase)
Zinco (Zn)	30	componente de mais de 70 enzimas (álcool desidrogenase, DNA polimerase, RNA polimerase, anidrase carbônica, carboxipeptidase, piruvato desidrogenase), expressão gênica, estabilidade das membranas
Cobre (Cu)	3	componente de muitas enzimas (lisil oxidase, tirosinase, citocromo oxidase, superóxido dismutase)
Iodo (I)	0,4	componente dos hormônios tireoidianos
Manganês (Mn)	0,3	componente de enzimas (piruvato carboxilase, arginase, superóxido dismutase mitocondrial), ativador enzimático (glicosil transferases)
Cobalto (Co)	0,2	componente da vitamina B <sub>12</sub>
Molibdênio (Mo)	1-4	componente de enzimas (xantina oxidase, sulfito oxidase, aldeído oxidase)
Selênio (Se)	0,02	componente de enzimas (glutation peroxidase, iodotironina deiodase tipo I)

Adaptado de Spears (1999).

TABELA 3 – CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA MÉDIA, REQUERIMENTOS MÉDIOS NA ALIMENTAÇÃO E FONTES DE MACRO E MICROMINERAIS

Mineral	Concentração plasmática	Requerimentos (na matéria seca)	Fontes
Ca	7,4-13 mg/dL	0,4-0,9 %	leite, leguminosas, farinhas de peixe, carne e osso, fosfato bicálcico
P	2,0-9,6 mg/dL	0,4-0,7 %	leite, cereais, farinhas de peixe, carne e osso, fosfato monossódico
Mg	1,8-3,0 mg/dL	0,03-0,04 %	trigo, leveduras, farelos de algodão e linhaça, trevo, farinha de ossos, óxido de Mg
Na (NaCl)	312-363 meq/L	0,6-1 %	produtos de origem animal, principalmente marinhos, sal comum
K	9-28 meq/L	0,5-0,8 %	cloreto de K, bicarbonato de K, iodeto de K
Cl	406-437	0,1 %	farinhas de peixe e carne, sal comum
Fe	meq/L	150-200 ppm	leguminosas, sementes, farinhas de sangue e fígado
Cu	57-233 µg/dL	15-30 ppm	sementes, pastagens, farinhas de sangue e fígado
Zn	10-200 µg/dL	10-20 ppm	leveduras, cereais, farinhas de soja e algodão
Co	75-83 µg/dL	0,2-0,3 ppm	pastagens, sulfato de Co, cloreto de Co, carbonato de Co
Mn	0,5-0,7 µg/dL	5-10 ppm	pastagens, trigo, farinha de carne, sulfato de Mn
Se	5-20 µg/dL	0,05 ppm	selenito e selenato de Na, selenato de Ba
I		0,03-0,05 ppm	iodeto de K (no sal)
Mo		1-4 ppm	soja

Fonte: NRC (1996).

vas fortes e as altas temperaturas, prejudicam a absorção mineral por parte dos vegetais. Os animais criados em regiões assim, tornam-se susceptíveis às deficiências minerais, comprometendo o seu desenvolvimento e a sua *performance*. Deficiências severas, acompanhadas por altas taxas de mortalidade, bem como as carências subclínicas, podem levar a perdas relevantes na produtividade.

No Brasil, análises de solos e de tecidos animais têm revelado ampla variedade de carências e algumas toxicidades de minerais. Estes baixos níveis nas pastagens nem sempre são refletidos nos animais, porém o que se observa são deficiências marginais, com sinais subclínicos, difíceis de serem identificadas.

A água também apresenta muitos elementos essenciais em quantidades bastante variadas, de forma que o conhecimento do seu teor mineral também se torna importante.

Na maioria dos estados brasileiros, a pecuária bovina é sustentada basicamente por sistemas a pasto e, pela expansão dos cultivos agrícolas, têm sido destinados à pecuária solos de menor fertilidade e, conseqüentemente, pastagens de pior qualidade. Em face das poucas informações disponíveis sobre a composição mineral das forrageiras, são necessários estudos para avaliar os teores desses elementos nas pastagens regionais, em diferentes épocas do ano, e relacionar o perfil mineral das plantas com as necessidades nu-

tricionais recomendadas para as diferentes categorias animais, a fim de estabelecer a necessidade de suplementação mineral.

## MACROELEMENTOS

### Cálcio

A maioria do Ca (88 %) é componente principal dos ossos. A composição mineral dos ossos é de 75 % de fosfato tricálcico (hidroxiapatita), 10 % de carbonato de cálcio e os 15 % restantes contêm citrato de cálcio, pirofosfato de cálcio, carbonato de magnésio, fosfato de magnésio, fosfato dissódico, cloreto de potássio, fluoretos e traços de estrôncio, bário e chumbo.

Embora quase 90 % do cálcio do organismo esteja no esqueleto como depósito na forma de fosfato de cálcio, o restante tem muitas funções vitais, encontrando-se nos fluidos corporais na forma ionizada ( $\text{Ca}^{2+}$ ).

Aproximadamente metade do cálcio plasmático está na forma ionizada, fisiologicamente ativa, enquanto a outra metade está em forma não ionizada unida a proteínas, principalmente à albumina. Uma diminuição na concentração de proteínas plasmáticas leva à diminuição aparente do nível de cálcio no sangue. Uma parte do cálcio sanguíneo encontra-se também unida a ânions, como fosfato e citrato.

O nível de referência de cálcio no sangue é de 2,2 a 2,6 mmol/L (8,8 a 10,4 mg/dL), sendo a sua homeostase controlada endocrinamente. Participam o hormônio da paratireoide (PTH), a calcitonina (CT) da tireoide e o 1,25-di-hidroxicolecalciferol (DHC), produto do metabolismo da vitamina D. De modo geral, enquanto PTH e DHC aumentam os níveis de cálcio sanguíneo, CT os reduz.

### Funções do cálcio

(a) O cálcio forma parte da matriz óssea do esqueleto, onde se encontra em duas formas: cristalina, como fosfato de cálcio, similar à hidroxiapatita e não-cristalina, amorfa, importante durante o crescimento do osso. O cálcio do osso está em condição dinâmica, sendo permanentemente reciclado e servindo como depósito, a partir do qual pode ser extraído para manter a homeostase do cálcio. Cerca de 15 % da proteína não colagenosa do osso é osteocalcina, proteína ligadora de cálcio, que contém resíduos de  $\gamma$ -carboxiglutamato e que está aparentemente envolvida nos processos de calcificação do osso.

(b) O cálcio é fator essencial no processo da coagulação sanguínea, ativando algumas proteases ou zimogênios. Os zimogênios da coagulação sanguínea (fatores II, VII, IX e X) têm como característica importante a presença de resíduos de  $\gamma$ -carboxiglutamato, os quais contêm dois grupos carboxilas ( $\text{COO}^-$ ) que servem para que o  $\text{Ca}^{2+}$  se ligue a eles no processo da ativação enzimática. Esses zimogênios formam o  $\gamma$ -carboxiglutamato a partir de resíduos de glutamato contidos na sua estrutura. Neste processo, é necessária a vitamina K, que atua como cofator da enzima carboxilase. O cálcio pode também atuar diretamente como fator para ativar os fatores V e XI, que também são proteases do processo da coagulação.

(c) O cálcio participa no processo da contração muscular, sendo seu papel básico ligar-se com a troponina c. O cálcio é liberado ao citosol da célula muscular a partir do retículo sarcoplasmático, como consequência de uma onda estimulatória nervosa causadora da despolarização da fibra muscular. A ligação do cálcio à troponina c induz uma mudança conformacional nesta proteína, permitindo a saída da tropomiosina, proteína que na ausência de cálcio bloqueia a forma-

ção de uma ponte entre a miosina e a actina, necessária para a contração. A energia para a contração muscular é fornecida pela ação ATPase da miosina, a qual é regulada pelo próprio cálcio e pela actina. No músculo liso, o cálcio atua mediante outro mecanismo, pois neste tipo de músculo a troponina está ausente. A contração nesse tecido se inicia da mesma forma com um aumento da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, mas é regulada em dois níveis: um nível envolve a quinase da cadeia leve da miosina (MLCK), cuja atividade está modulada pelo nível de  $\text{Ca}^{2+}$ ; esta enzima fosforila a subunidade leve da miosina para provocar a interação miosina-actina e, portanto, a contração muscular. Outro nível de controle envolve a adrenalina, que induz a fosforilação da MLCK, inativando esta enzima e inibindo, portanto, a fosforilação da miosina e a contração muscular.

(d) O cálcio atua na transmissão do impulso nervoso. Quando ocorre o potencial de ação, ou seja, a variação na condutividade elétrica devido à despolarização da membrana, há entrada de  $\text{Na}^+$  no interior da célula. O cálcio extracelular favorece a passagem dos íons de  $\text{Na}^+$  mediante a regulação do limiar com o qual se obtém um aumento da condutividade do íon  $\text{Na}^+$ . A condução nervosa também requer uma concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular da ordem de 0,3 M. O  $\text{Ca}^{2+}$  entra provavelmente aproveitando os canais para  $\text{Na}^+$ , sendo depois expulso em troca do mesmo  $\text{Na}^+$ .

(e) O cálcio regula a ação de algumas enzimas, usando a calmodulina como mediador. A calmodulina é uma proteína ubíqua de 148 aminoácidos rica em resíduos de glutamato e aspartato, cujos grupos  $\text{COO}^-$  servem para unir-se ao  $\text{Ca}^{2+}$  em 4 sítios. A concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular é  $10^3$  a  $10^4$  vezes menor do que a concentração extracelular; desse modo, qualquer aumento nos níveis intracelulares de

cálcio torna-se um sinal para modificar a ação de algumas enzimas. O mecanismo de ação do cálcio sobre a regulação de enzimas cálcio-dependentes compreende duas ativações sucessivas. Primeiro, quando a concentração de cálcio intracelular atinge determinado limiar, o cálcio se une à calmodulina, modificando sua estrutura e tornando-a ativa. Depois, o complexo cálcio-calmodulina interatua com a enzima para ativá-la. As duas reações de ativação são reversíveis. Dessa forma, quando a estimulação termina, os níveis de cálcio caem para seu nível basal, separando-se da calmodulina e causando a inibição da enzima. Entre as enzimas cálcio-dependentes mais conhecidas estão fosfodiesterase, adenilciclase, fosforilase-quinase, glicogênio-sintetase quinase, fosfolipase  $A_2$  e ATPase.

(f) O cálcio serve de segundo mensageiro na ação de vários hormônios, entre eles, catecolaminas, vasopressina, angiotensina, GnRH, glucagon e prostaglandinas. Esses hormônios causam elevação da concentração de cálcio intracelular, o qual atua como sinal iniciador de algumas reações enzimáticas. Na maioria dos casos, o aumento da concentração de cálcio intracelular está associado com a hidrólise do fosfatidil-inositol, lipídeo componente da membrana plasmática, que gera diacilglicerol (DAG) e inositol-trifosfato (ITP), os quais contribuem para a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  do retículo endoplasmático para o citosol.

#### Controle hormonal da homeostase do cálcio

O cálcio, principalmente, e, em menor grau, o fósforo possuem um rígido controle endócrino que permite a homeostase diante dos desequilíbrios entre a ingestão e a demanda desses minerais. As ações dos hormônios envolvidos no processo são mostradas no Quadro 1 e nas Figuras 1 e 2.



QUADRO 1 – AÇÕES BIOLÓGICAS DOS HORMÔNIOS REGULADORES DA HOMEOSTASE DO CÁLCIO E DO FÓSFORO

Hormônio	Sobre o cálcio sanguíneo	Sobre o fósforo sanguíneo	No rim	No osso	No trato gastrointestinal
PTH	↑ concentração	↓ concentração	↑ reabsorção Ca ↑ excreção Pi ↑ atividade 1 $\alpha$ hidroxilase	↑ desmineralização	↑ absorção Ca e Pi, indiretamente por aumento de 1,25 DHC
Calcitonina	↓ concentração	↓ concentração	↓ reabsorção Ca ↓ reabsorção Pi	↓ desmineralização	não tem efeito
1,25-DHC	↑ concentração	↑ concentração	↑ reabsorção Ca ↑ reabsorção Pi	↑ desmineralização	↑ absorção Ca e Pi

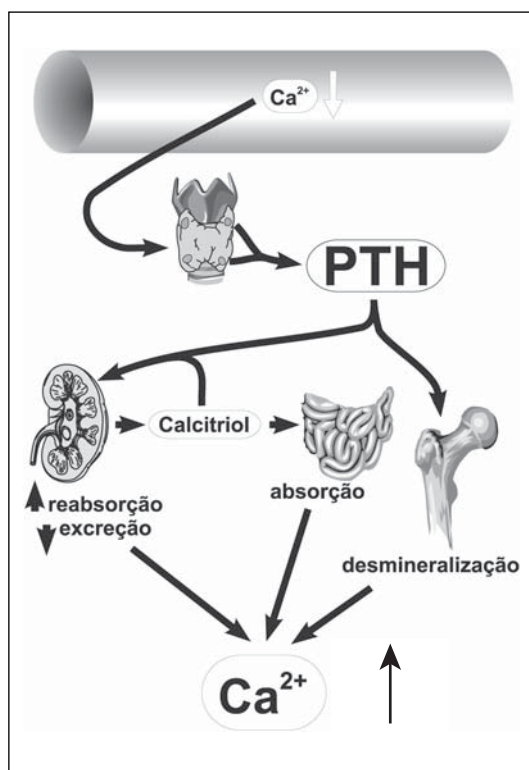


Figura 1 – Controle endócrino na hipocalcemia.

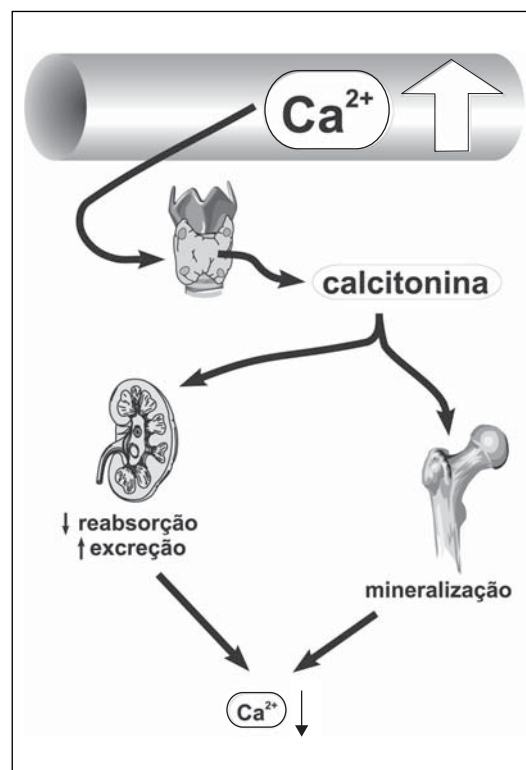


Figura 2 – Controle endócrino na hipercalcemia.

## Hormônio da paratireoide (PTH)

As glândulas paratireoides não foram descritas nos primeiros atlas de anatomia devido a seu tamanho e localização. Somente em 1839 Albers as desenha e, em 1855, Remak as descreve no gato. Em 1863, Virchow faz o próprio no homem. Entretanto, considera-se como seu descobridor Sandströen, que, em 1880, fez uma meticulosa análise delas e as chamou de paratireoide, ou seja, “relacionadas com a tireoide”. Os trabalhos de Vassale, apresentados em 1901, levaram a concluir que as paratireoides não tinham relação funcional com a tireoide. Em 1906, Erdheim confirmou a importância das paratireoides na etiologia da tetania. Em 1908, McCallum e Voetlin mostraram a ocorrência de hipocalcemia depois de paratireoidectomia, a qual podia ser prevenida com administração de cálcio.

Quando foram possíveis métodos de análise confiável de cálcio sanguíneo, depois de 1907, Salveson relacionou a aparição da tetania com a queda de cálcio sanguíneo abaixo de 7 mg/dL. Collip, no Canadá, em 1925, obteve extratos de paratireoide com atividade biológica e chamou o composto de paratormônio (PTH). Collip e seu grupo pensavam que a ação primária do PTH era sobre o osso, ao passo que Albright, em Boston, considerava que a ação era sobre os rins, aumentando a excreção de fosfato. Barnicot, em 1948, comprovou que o PTH atuava causando desmineralização óssea aumentando o número de osteoclastos, o que foi comprovado por Chang em 1951. Os estudos foram mais aprimorados depois da purificação do PTH, por Rasmussen e Craig, em 1959, e mediante o uso de <sup>45</sup>Ca.

As glândulas paratireoides, em número de 4, estão localizadas anteriormente à tireoide, duas de cada lado, e estão associadas ao timo. Possuem dois tipos de células: as células principais que secretam o hormônio da parati-

reioide (PTH), e as células oxifílicas, de maior tamanho que as células principais e com maior capacidade oxidativa e hidrolítica, que parecem derivar de células principais velhas.

O PTH é um polipeptídeo de cadeia simples com peso molecular de 9,5 kDa. Tem 84 aminoácidos, estando sua atividade biológica limitada aos últimos 34 aminoácidos aminoterminais. O PTH é secretado como um precursor maior chamado pré-proPTH de 115 aminoácidos, o qual vai ao retículo endoplasmático, onde algumas peptidases o convertem em proPTH, de 90 resíduos, por segmentação proteolítica no extremo aminoterminal. O proPTH viaja pelos canais do retículo endoplasmático, até o complexo de Golgi, onde outra peptidase remove 6 aminoácidos do extremo aminoterminal, e o PTH resultante é incorporado aos grânulos secretores.

Quando há diminuição do cálcio plasmático, os grânulos são transportados até a membrana plasmática, secretando-se PTH. Pelo menos 50 % do hormônio produzido é degradado pelos lisossomos da mesma célula paratireoidiana. A taxa de degradação do PTH, nas células principais, é menor quando o cálcio plasmático diminui.

A meia-vida plasmática do PTH é de 18-20 minutos. As células principais da paratireoide armazenam poucas quantidades de PTH, mas são capazes de responder a variações do cálcio sanguíneo com alteração rápida das taxas de síntese, degradação e secreção.

Os grânulos secretores das células principais da paratireoide contêm, além do PTH, uma proteína paratireoide secretora (PSP) que parece funcionar como proteína de ligação de forma similar às neurofisinas, que ligam a ocitocina e a vasopressina. A PSP é uma proteína de peso molecular 70 kDa com duas subunidades e acompanha a PTH dentro da via de transporte intracelular. Os grâ-

nulos secretores deixam as células principais por excitose.

#### Ações do PTH

O PTH é o principal hormônio que atua na regulação do cálcio sanguíneo. Os órgãos-alvo do PTH são os túbulos renais e o osso. O efeito biológico imediato do PTH é elevar o nível de cálcio e diminuir o nível de fósforo no sangue. No rim, causa incremento da excreção de fósforo devido à diminuição de sua reabsorção nos túbulos proximais. Simultaneamente, aumenta a reabsorção de cálcio nos túbulos distais. O PTH também aumenta a excreção urinária de  $K^+$ ,  $HCO_3^-$ ,  $Na^+$ , cAMP e de aminoácidos, ao tempo que diminui a excreção de  $H^+$ ,  $Mg^+$  e  $NH_3$ .

O PTH também atua aumentando a formação de 1,25-di-hidroxicolecalciferol (DHC) no rim mediante a estimulação da enzima  $1\alpha$ -hidroxilase, localizada nas mitocôndrias das células epiteliais dos túbulos contornados proximais. Esta enzima hidroxila o 25-hidroxi-colecalciferol (25-HCC) para formar o metabólito ativo 1,25-DHC, o qual aumenta a mobilização de cálcio do osso e a absorção de cálcio e fósforo em nível gastrointestinal.

Sobre o osso o PTH exerce 4 ações principais:

- (a) Inibe a síntese de colágeno nos osteoblastos.
- (b) Aumenta a desmineralização óssea pelos osteócitos (osteólise osteocítica).
- (c) Aumenta a osteólise osteoclástica.
- (d) Aumenta a taxa de maturação das células precursoras para dar osteoblastos e osteoclastos.

Como consequência de todos esses efeitos, há uma diminuição na capacidade do osso para captar cálcio e uma desmineralização (erosão, resorção) dos ossos, aumen-

tando a liberação de cálcio do osso com perda dos proteoglicanos da matriz óssea devido a uma alta atividade colagenolítica.

O mecanismo de ação do PTH sobre os túbulos renais e as células ósseas é através do cAMP. O aumento deste nucleotídeo no túbulo renal favorece os mecanismos de reabsorção de cálcio e desfavorece a reabsorção de fósforo. Na célula óssea, o aumento de cAMP causa a síntese e liberação de enzimas lisossomais que levam à desmineralização óssea.

O efeito do PTH sobre o controle do cálcio sanguíneo é exercido em dois níveis:

(a) Um primeiro nível de resposta rápida implica o “bombeamento” de cálcio osteócito-osteoblasto, que resulta no fluxo incrementado de  $Ca^{2+}$  do mais profundo do osso para a superfície óssea, mediante a ação coordenada de osteócitos e osteoblastos inativos; este primeiro nível também inclui a resposta sobre a reabsorção de  $Ca^{2+}$  nos túbulos renais.

(b) No segundo nível, mais lento, porém de maior potencial, ocorre osteólise osteoclástica e indiretamente, através do incremento do 1,25-DHC, aumento da absorção intestinal de cálcio.

Esse duplo controle é equivalente ao que ocorre com o controle da glicemia. O primeiro nível, rápido, representado pela glicogenólise, e o segundo nível, lento, porém a longo prazo, representado pela gliconeogênese.

O controle da secreção do PTH está regulado pelos níveis plasmáticos de cálcio mediante feedback negativo, ou seja, um aumento na concentração de cálcio sanguíneo inibe a adenilciclase na membrana da célula paratireoidiana, o que diminui a secreção de PTH, ao passo que uma diminuição nos níveis de cálcio sanguíneo está associada com elevação da concentração de cAMP nessas células, o que promove a liberação de PTH. Altos níveis de 1,25-DHC também exercem um efeito inibitório sobre a secreção de PTH.

A concentração de fósforo sanguíneo não tem influência reguladora direta sobre a síntese e secreção de PTH. Entretanto, uma hiperfosfatemia pode estimular indiretamente a paratireoide devido a seu efeito redutor do cálcio sanguíneo e da relação Ca/P. O íon  $Mg^{+}$  tem um efeito similar ao do  $Ca^{2+}$  sobre a secreção de PTH, embora de forma muito menos potente, pelo qual se considera que o magnésio tem uma função secundária no controle paratireoidiano.

### Calcitonina (CT)

Em 1962, Copp e Cheney descobriram a presença de uma substância que causava diminuição do cálcio sanguíneo em um perfundido de tireoide e paratireoide. Hirsch e seu grupo, em 1963, assinalaram que tal substância pertencia à tireoide e propuseram o termo tireocalcitonina. Em 1966, o grupo de Foster afirmou que esse hormônio era produzido pelas células parafoliculares da tireoide. Posteriormente Pearse e Carvanleira chamaram de células C às células produtoras do hormônio e constataram que tais células estavam presentes não somente na tireoide, mas também na paratireoide e no timo. Assim, optou-se pela denominação de calcitonina ao hormônio produzido por essas células.

As células C ou parafoliculares estão situadas entre as células foliculares da tireoide, imediatamente abaixo de sua membrana basal ou em pequenos grupos entre os folículos tireoidianos. Estão caracterizadas por possuírem muitos grânulos secretores onde se encontra a calcitonina. A polaridade secretora das células C se dirige aos capilares interfoliculares ao invés do lume do folículo.

A calcitonina é uma cadeia polipeptídica simples de peso molecular de 3,5 kDa com 32 aminoácidos, tendo uma meia-vida de 2 a 15 minutos. É sintetizada como um precursor

glicoproteico que é submetido à ação de sucessivas peptidases até resultar na calcitonina. O produto inicial da tradução é a pré-proCT (peso molecular 17,4 kDa) no retículo endoplasmático rugoso. Dali é transportada para o aparelho de Golgi, onde é convertida em proCT e depois em CT, antes de ser envolvida pelos grânulos de secreção. A estrutura da CT difere consideravelmente entre espécies, embora o extremo amino-terminal seja similar em todas as espécies.

### Ações da calcitonina

A calcitonina diminui os níveis sanguíneos de cálcio e de fosfato inorgânico por ação sobre os ossos fundamentalmente, embora tenha também alguma ação sobre a função renal. No osso, a calcitonina inibe a desmineralização óssea, enquanto que, no rim, diminui a reabsorção de cálcio e fósforo nos túbulos. A calcitonina não tem efeito sobre a absorção de cálcio em relação ao intestino.

A ação da calcitonina é mediada, em parte, pelo cAMP. A CT tem receptores nos osteoclastos, nas células renais e nos linfócitos. Esse hormônio bloqueia a osteólise osteoclástica. É difícil estabelecer de que maneira, tendo o mesmo mecanismo de ação do PTH, possa ter efeitos opostos. A explicação mais possível é de que os dois hormônios interatuem sobre distintas subpopulações de osteoclastos.

Os receptores para CT, no rim, estão localizados na porção ascendente da alça de Henle e no túbulo contornado distal. A CT favorece a excreção não somente de  $Ca^{2+}$  e de  $Pi$ , mas também de  $Na^{+}$  e de  $Cl^{-}$ . Sobre o fosfato inorgânico, a calcitonina tem efeito sinérgico com o PTH, isto é, aumenta sua excreção em nível renal. Sobre a desmineralização óssea, os dois hormônios têm ação antagônica. A ação da CT não depende da vitamina D, já que atua em animais com deficiência desta vitamina.

A CT parece funcionar como um hormônio de emergência para: (a) evitar hipercalcemia durante a rápida absorção pós-prandial de cálcio; e (b) proteger contra a perda excessiva de cálcio e fósforo no esqueleto materno durante a gestação. Alguns hormônios gastrointestinais, como a gastrina, a colecistoquinina (CCK) e o glucagon, estimulam a secreção de calcitonina como mecanismo protetor da hipercalcemia diante de uma alimentação rica em cálcio.

A secreção de calcitonina parece ser contínua a concentrações fisiológicas de cálcio plasmático, porém, diante de uma elevação do cálcio, aumenta sua secreção, e diante de uma diminuição de cálcio, diminui sua secreção, ou seja, o controle secretor é por feedback positivo, oposto ao do PTH.

A somatostatina tem sido encontrada na tireoide, sendo possível que atue como controle parácrino para inibir a secreção de calcitonina.

Apesar das ações biológicas estabelecidas para a calcitonina, a tireoidectomia não provoca maiores anormalidades na homeostase do cálcio, diferentemente do que ocorre com a paratireoidectomia. Em animais tireoidectomizados, pode ser observado hipocalcetonismo. Embora não se observem problemas clínicos definidos nesses animais, eles podem não manejar eficientemente uma alta carga de cálcio e apresentar hipercalcemia.

Os transtornos das células parafoliculares são menos frequentes do que os transtornos da paratireoide. Foi relatada apresentação de hipercalcitonismo em humanos e em touros devido a neoplasias das células parafoliculares, aparentemente por causas hereditárias. As vacas não desenvolvem lesões proliferativas sob condições alimentares altas em cálcio, como os touros, talvez pelo alto gasto de cálcio durante a gestação e a lactação.

### Vitamina D<sub>3</sub> (1,25-DHC)

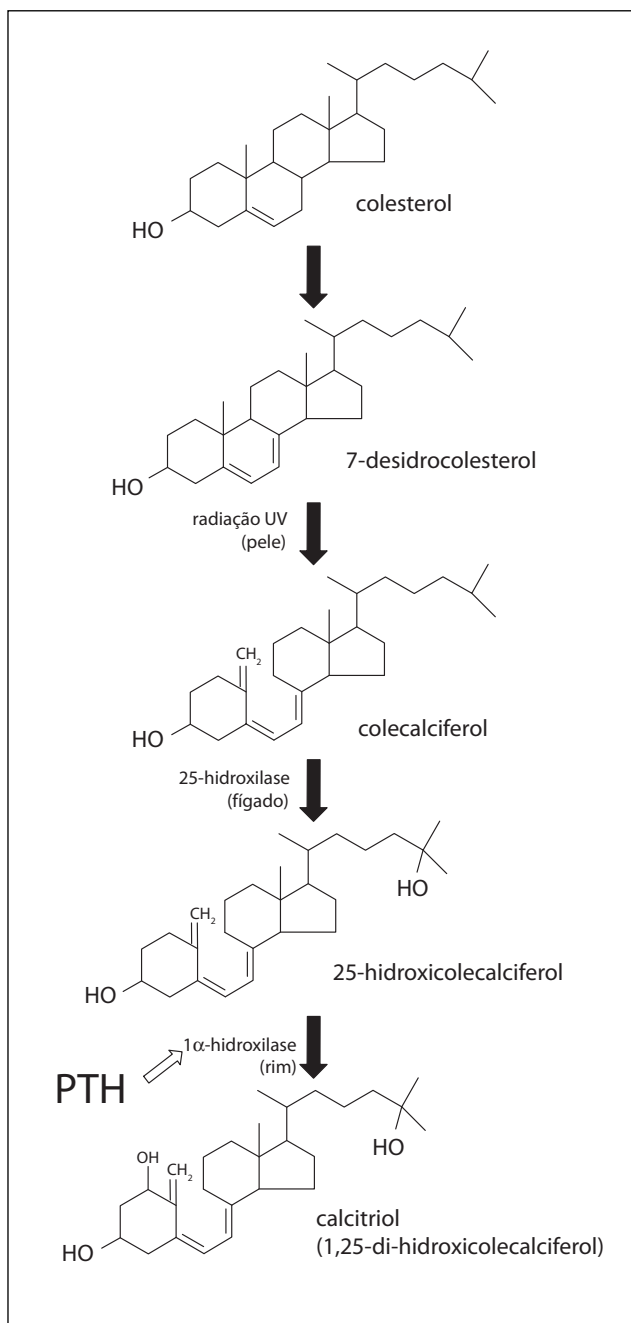
A vitamina D é uma vitamina lipossolúvel quimicamente similar aos esteroides, porém com o anel B aberto entre as posições 9 e 10. A forma natural da vitamina D<sub>3</sub> é o colecalciferol, formado na pele por ação não enzimática a partir do precursor esteroide 7-deidrocolesterol, por ação da luz ultravioleta solar (Figura 3).

Nas plantas, a partir da irradiação solar ( $\lambda = 290-320$  nm) sobre o ergosterol, forma-se ergocalciferol, que somente difere em relação ao colecalciferol em uma dupla ligação no C-21. O ergocalciferol ou vitamina D<sub>2</sub> é também precursor do colecalciferol. As vitaminas D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> não são ativas biologicamente, pois para isso devem sofrer duas hidroxilações sequenciais, primeiro na posição 25 por ação de uma 25-hidroxilase presente no fígado, e depois na posição 1, por uma 1 $\alpha$ -hidroxilase presente no rim (Figura 3). O produto final ativo é o 1,25-di-hidroxicolecalciferol (1,25-DHC).

Uma proteína transportadora da vitamina D (DBP) leva o colecalciferol pelo sangue desde seu lugar de síntese, na pele, até o fígado. A exposição excessiva ao sol provoca a conversão fotoquímica do precursor do colecalciferol em lumisterol e taquisterol, isômeros que não são afins pela DBP e permanecem na pele, perdendo-se depois na metabolização.

O 1,25-DHC pode ser considerado um hormônio pelas seguintes razões:

- (a) sua estrutura química é parecida com os hormônios esteroides;
- (b) é ativo em pequenas quantidades (da ordem de ng);
- (c) é sintetizado por um órgão, a pele, a partir de precursores (colesterol, 7-deidrocolesterol);



**Figura 3** – Biossíntese do calcitriol (vitamina D<sub>3</sub> ativa ou 1,25-di-hidroxicolecalciferol).

(d) é transportado pelo sangue para atuar em órgãos-alvo (intestino, osso, rim);

(e) modifica a ação fisiológica das células-alvo;

(f) seu mecanismo de ação é similar ao dos hormônios esteroides, isto é, tem receptores intranucleares e estimula a transcrição;

(g) é tóxico em quantidades excessivas.

A formação do 1,25-DHC está regulada por mecanismos feedback que envolvem o cálcio, o fósforo inorgânico e o PTH, sendo o principal ponto de controle a 1α-hidroilação do 25-hidroxicolecalciferol (25-HCC) no rim. A 25-hidroilação do colecalciferol é realizada nas células do fígado, no retículo endoplasmático, por uma monooxigenase citocromo P450 chamada colecalciferol 25-hidroxilase, que requer NADPH, O<sub>2</sub> e Mg<sup>2+</sup>. O 25-HCC formado na anterior reação é transportado por uma globulina plasmática até o rim, onde uma enzima mitocondrial dos túbulos contornados proximais, a 25-HCC-1α-hidroxilase, produz o 1,25-DHC, hormônio ativo. Os níveis circulantes de 25-HCC servem como reserva de vitamina D precursora.

A enzima 1α-hidroxilase também é citocromo P450 oxigenase contendo um núcleo ferrosulfurado (ferredoxina) e requer NADPH e O<sub>2</sub>. O substrato desta reação deve estar 25-hidroilado. O 1,25-DHC exerce inibição por feedback sobre a enzima 1α-hidroxilase do rim.

Outra enzima do rim pode hidroxilar o 25-HCC na posição 24, formando o 24, 25-di-hidroxicolecalciferol (24,25-DHC), composto inativo, quando a atividade da 1α-hidroxilase está reduzida, isto é, quando há níveis plasmáticos normais de cálcio e de fósforo.

A meia-vida do 1,25-DHC é de 24 horas, sendo excretado principalmente pela bile. Quando há baixos níveis de cálcio plasmático, o nível do 1,25-DHC aumenta, enquanto o de 24,25-DHC diminui. O oposto acontece com níveis altos de cálcio. Contudo, a estimulação da enzima  $1\alpha$ -hidroxilase é através do PTH, e não diretamente pelos níveis de cálcio sanguíneo. Por sua vez, a diminuição dos níveis de fósforo estimulam diretamente a  $1\alpha$ -hidroxilação, ao passo que um excesso de fósforo causa inibição.

Outros hormônios que podem estimular a  $1\alpha$ -hidroxilase incluem a prolactina, os estrógenos, o cortisol e o GH. Esses controles têm a ver com estados fisiológicos, como lactação, gestação e crescimento.

#### Ações do 1,25-DHC

Após sua síntese nos rins, o 1,25-DHC é transportado por uma proteína específica para as células-alvo. Os níveis circulantes deste hormônio geralmente são muito baixos. O 1,25-DHC mantém normais os níveis sanguíneos de cálcio e fósforo, atuando sobre o intestino e sobre os ossos e possivelmente sobre o rim.

Sobre o intestino, o 1,25-DHC estimula a absorção de cálcio e fósforo ingeridos através das células epiteliais mediante mecanismos de transporte ativo.

Sobre os ossos, seus efeitos são similares ao PTH, mobilizando cálcio e fósforo da matriz óssea e da fração mineral através de um efeito osteolítico. Aparentemente, o hormônio requer a presença do PTH para atuar no osso (efeito permissivo). Como sua ação é bloqueada pela actinomicina D, acredita-se que a transcrição para formar mRNA e sintetizar proteína é um requerimento para poder causar seu efeito.

Sobre o rim, o 1,25-DHC diminui a excreção renal de cálcio e fósforo.

O 1,25-DHC também estimula a mineralização ou calcificação dos ossos em animais jovens por mecanismos ainda não esclarecidos. Os animais jovens com deficiência de vitamina D e/ou mantidos sem irradiação solar, desenvolvem raquitismo devido a não ocorrer a normal mineralização da matriz cartilaginosa, o osso se enfraquece e se deforma pela acumulação de matriz cartilaginosa nas epífises. A administração de colecalciferol, 25-HCC ou 1,25-DHC restabelece a calcificação normal na placa de crescimento.

No raquitismo dependente de vitamina D, doença genética causada pela alteração de um gene autossômico recessivo, observada em porcos e em humanos, ocorre falha na síntese da enzima  $1\alpha$ -hidroxilase, não podendo sintetizar 1,25-DHC, embora o organismo tenha as moléculas precursoras.

O 1,25-DHC atua sobre receptores citosólicos, ativando-os e deslocando-os para o núcleo, onde atuam sobre outro receptor na cromatina para provocar biossíntese de mRNA e de duas proteínas específicas, a ATPase e a proteína transportadora de cálcio (CaBP), esta última associada com a absorção intestinal de cálcio. A CaBP tem sido isolada de intestino delgado, rim, paratireoide, osso, glândula mamária e glândula da casca na galinha.

A hipervitaminose D pode causar calcificação ectópica, como consequência do aumento da desmineralização óssea. Os ossos tornam-se frágeis e suscetíveis de fraturas. São observadas hipercalcemia e hipercalcinúria, porém com concentrações normais de fósforo. Os efeitos da hipervitaminose D são devidos ao 25-HCC, pois o 1,25-DHC está regulado de forma rigorosa, a menos que seja diretamente administrado no organismo via parenteral.

## Transtornos do metabolismo do cálcio

### Transtornos da função da paratireoide

Os transtornos funcionais da paratireoide incluem o hiper e o hipoparatiroidismo, nos quais se secretam quantidades anormais de PTH, causando transtornos na homeostase do cálcio e do fósforo e na mineralização óssea. O hiperparatiroidismo pode ser primário, secundário renal e secundário nutricional.

### Hiperparatiroidismo primário

Em casos de hiperparatiroidismo primário, ocorre uma lesão funcional na glândula paratireoide que causa uma secreção contínua de PTH, apesar do aumento de cálcio sanguíneo. A ação prolongada da PTH sobre o osso causa desmineralização óssea osteocítica e osteoclástica. O cálcio é removido dos ossos e substituído por tecido conectivo fibroso, causando osteodistrofia fibrosa.

A lesão primária sobre a paratireoide pode ser um adenocarcinoma, frequente em cachorros e gatos velhos; também pode ocorrer em razão de uma hiperplasia das células principais ou a um defeito herdado causado por uma mutação genética sobre o gene do receptor de  $Ca^{2+}$  na glândula, como tem sido relatado em cães Pastor Alemão.

Os animais afetados apresentam enfraquecimento ósseo com tendência a fraturas, especialmente dos ossos longos, afrouxamento ou perda dos dentes, disfunção motora por desmineralização das vértebras e fraturas de compressão, rengueira e apatia. A hipercalcemia pode causar enfraquecimento muscular por diminuição da excitabilidade neuromuscular, cálculos renais por mineralização dos túbulos renais, depressão, anore-

xia, vômito e constipação. Valores de cálcio sanguíneo superiores a 14 mg/dL podem ser considerados hipercalcêmicos.

O excesso de PTH também causa hipofosfatemia ( $< 4$  mg/dL) devido à inibição da reabsorção renal de fósforo. Geralmente, a fosfatase alcalina se observa elevada nesses casos devido à atividade compensatória osteoblástica, como resposta à tensão mecânica exercida pelos ossos enfraquecidos pela desmineralização excessiva. O tratamento consiste em extirpar cirurgicamente a neoplasia.

### Hiperparatiroidismo secundário renal

É uma complicação da insuficiência renal crônica, observada em cães e gatos velhos principalmente. Nesse caso, diante de uma insuficiência renal, ocorre retenção excessiva de fósforo e hiperfosfatemia. Com a relação sanguínea Ca/P diminuída em função do alto teor de P, estimula-se a secreção de PTH. Num primeiro estágio, o elevado fósforo sanguíneo deprime a atividade da enzima  $1\alpha$ -hidroxilase do rim, diminuindo assim a produção de 1,25-DHC. Posteriormente, o dano renal também afeta de forma direta a produção desta vitamina.

Sem o 1,25-DHC, ocorrem dois fatos. Um estímulo direto na paratireoide para aumentar a secreção de PTH e uma falha na absorção intestinal de cálcio que leva à hipocalcemia, estimulando ainda mais a resposta da paratireoide para secretar PTH. A situação de hipocalcemia é agravada pelo fato de que a alta concentração de fósforo causa diminuição da quantidade de cálcio sanguíneo.

No hiperparatiroidismo secundário ocorre aumento das paratireoides, e os sintomas clínicos são similares aos do hiperparatiroidismo primário. Os valores de cálcio



no sangue podem estar baixos ou ainda normais, devido à resposta ao PTH.

A administração oral de baixas doses de vitamina D<sub>3</sub> (1,7-3,4 ng/kg) ajuda a normalizar os valores de PTH em cães e gatos, reduzindo a progressão da doença.

#### Hiperparatireoidismo secundário nutricional

É um mecanismo compensatório em resposta a desequilíbrios minerais crônicos causados por dietas que podem ter:

- (a) baixo conteúdo de cálcio,
- (b) excesso de fósforo com cálcio normal ou abaixo do normal,
- (c) deficiência de vitamina D<sub>3</sub>.

O resultado de tais dietas é uma diminuição da relação Ca/P no sangue, que leva a uma estimulação prolongada da paratireoide. Em resposta à hipocalcemia de origem nutricional, ocorre hipertrofia e hiperplasia das células principais da paratireoide.

A hipocalcemia devido a uma dieta baixa em cálcio é fácil de entender, pois os requerimentos não são cobertos. No caso da ingestão excessiva de fósforo, ocorre aumento da absorção intestinal deste mineral e hiperfosfatemia concomitante com uma inibição da absorção intestinal de cálcio, devido à formação de complexos Ca:P. A hiperfosfatemia não estimula a glândula paratireoide diretamente, mas, indiretamente, por seu efeito de diminuir o cálcio sanguíneo mediante aumento da excreção renal de cálcio quando o sangue se satura com esses dois íons.

O efeito da falta de vitamina D envolve a diminuição da absorção intestinal de cálcio e a consequente hipocalcemia.

A doença é frequente em gatos e cachorros jovens alimentados com dieta pre-

dominante de carne ou fígado, tecidos que têm baixo conteúdo de cálcio (8 mg %) e relativamente alto de fósforo (relação Ca:P de 1:20 a 1:50). É frequente também observar o problema em animais de zoológico, especialmente em felinos enjaulados e também em cavalos alimentados com grãos ricos em fósforo (trigo, cevada) e forragem de má qualidade, em ocasiões agravado pelo consumo de pastagens ricos em oxalatos, que formam complexos insolúveis com o cálcio, desfavorecendo a sua absorção intestinal.

Os primeiros sinais clínicos revelam transtornos na locomoção, apatia, reungueira e dor óssea à palpação, causados pela progressiva diminuição do córtex dos ossos longos em função da desmineralização prolongada. Os filhotes de gato são mais suscetíveis ao problema do que os adultos porque o seu metabolismo ósseo é mais rápido. Em casos avançados em cavalos, além de manqueira, pode ser observada osteodistrofia fibrosa ou hiperostose, manifestada por deformação da mandíbula.

#### Hipoparatireoidismo

O hipoparatireoidismo é uma condição rara que se observa em cachorros de raças pequenas (Schnauzer, Terrier) e em gatos. Caracteriza-se pela baixa secreção de PTH ou pela falha deste hormônio para interagir com suas células-alvo. Na etiologia desta doença aparecem causas congênitas (agenesia), idiopáticas (associada com parotidite linfocítica difusa), iatrogênicas (cirurgias da tireoide, irradiação), metabólicas (falha para produzir cAMP nas células-alvo) e neoplasias.

Clinicamente se observa incremento da excitabilidade neuromuscular e tetania. Os níveis de cálcio podem cair para 4-6 mg/dL. Os níveis de fósforo aumentam devido ao aumento da reabsorção tubular.

Embora rara, tem sido relatada uma doença hereditária conhecida como pseudo-hipoparatiroidismo, na qual ocorre hipocalcemia e hiperfosfatemia. Nessa doença, os níveis de PTH são normais ou elevados, porém ocorre uma resistência das células-alvo à ação hormonal, possivelmente por uma falha na adenilciclase e, portanto, na síntese de cAMP, através do qual atua o PTH.

## Hipocalcemia (Febre do leite)

### Definição

A hipocalcemia do pós-parto, também chamada febre do leite, paresia do puerpério, paresia obstétrica ou febre vitular é uma doença metabólica aguda, caracterizada por hipocalcemia e paresia, que se apresenta no período puerperal, mais comumente nos três primeiros dias do pós-parto, em vacas de alta produção de leite. A doença tem maior incidência em bovinos, mas também pode afetar ovinos e equinos. A deficiência de cálcio pode causar progressiva disfunção neuromuscular com paralisia flácida, colapso circulatório e depressão da consciência. Os níveis de Ca podem cair a menos de 5 mg/dL, e a vaca pode apresentar um quadro comatoso com decúbito. A doença é mais comum em vacas mais velhas, e algumas raças, como a Jersey, são mais suscetíveis do que outras. Contudo, a maioria dos casos é observada em vacas de raça Holandesa em função de sua maior produção de leite.

### Etiologia

A causa da hipocalcemia é complexa. De forma básica, parece uma falha da homeostase do Ca no início da lactação. No desencadeamento da doença, estão en-

volvidos o estresse do parto e a ruptura do padrão normal de alimentação, bem como o início da secreção de leite. Para cada 10 kg de colostro que uma vaca produza, perde 23 g de Ca, o que representa 9 vezes a quantidade de cálcio presente no *pool* plasmático, número que pode dobrar em vacas de alta produção. Embora a maioria das vacas se adaptem ao novo desafio metabólico, 5 a 20 % das vacas não se adaptam e podem desenvolver febre do leite. As vacas não podem perder mais que 50 % do Ca sanguíneo antes que uma crise de hipocalcemia se inicie.

Inicialmente foi proposto que a hipocalcemia ocorria por uma resposta inadequada da paratireoide à demanda incrementada de cálcio, representada pela formação dos ossos fetais e pelo início da lactação. No entanto, estudos posteriores revelaram que os níveis de PTH em vacas hipocalcêmicas depois do parto eram normais ou ainda maiores do que nas vacas normocalcêmicas. O problema então parece estar na falta de resposta das células-alvo do osso a altos níveis de PTH, de forma que a desmineralização óssea diminui significativamente em vacas com febre do leite.

A queda intempestiva dos valores séricos de cálcio abaixo de 7,0 mg/dL é o fator responsável da patogenia. A calcemia cai como consequência direta de um desequilíbrio entre a saída de cálcio no leite e os mecanismos que mantêm a calcemia. O mais comum é que o quadro clínico ocorra em vacas de segundo a quinto parto, nas primeiras 72 horas após o parto. A situação pode agravar-se se no período do pré-parto for fornecido cálcio.

Três seriam os fatores desencadeantes da paresia: (a) perda de cálcio no leite maior que a capacidade de absorção no intestino e de mobilização óssea; (b) transtorno intestinal que comprometa a absorção de cálcio; e (c) mobilização de cálcio ósseo não suficientemente rápida para manter a calcemia.

## Fatores de risco

A maior parte dos casos ocorre 48 horas após o parto, sendo que o período de risco se estende até 10 dias pós-parto. Entre os fatores predisponentes estão: idade, nível de produção, raça, estresse do parto, mudanças do meio ambiente, aporte de Ca antes do parto, disfunção paratireoidiana, anorexia e desequilíbrio acidobásico no pré-parto ou no início da lactação. O ajuste do metabolismo ao balanço negativo de cálcio no início da lactação é obtido mediante aumento da absorção intestinal de Ca e da remoção de Ca dos ossos (ressorção óssea). Entretanto, vários fatores podem afetar negativamente a capacidade deste ajuste, entre os quais podem ser citados:

- **Produção de leite:** as vacas de corte ou as vacas de leite com baixa produção raramente sofrem hipocalcemia. Entretanto, a produção não é fator *sine qua non* para a apresentação do problema, pois muitas vacas de alta produção não apresentam sinais da doença.
- **Idade:** com o aumento da idade do animal há um declínio na eficiência da resorção de Ca ósseo e diminuição da absorção em nível intestinal, fazendo com que as vacas mais velhas sejam mais suscetíveis a sofrer o problema. A incidência de febre do leite aumenta com a idade também porque vacas mais velhas têm maior produção leiteira e conseqüentemente maior demanda de Ca. Novilhas quase nunca apresentam hipocalcemia.
- **Consumo de Ca no pré-parto:** as vacas que recebem dietas ricas em Ca no final da gestação têm maior produção de calcitonina, hormônio que mantém alerta os mecanismos para evitar a hipercalcemia, porém inibe os mecanismos que previnem a hipocalcemia. Isto pode ser um fator que contribui à baixa

capacidade dos níveis aumentados de PTH de mobilizar cálcio das reservas ósseas com a rapidez com que se necessita logo após o parto. Considera-se que vacas consumindo mais de 100 g de Ca/dia durante o período seco têm maior incidência de febre do leite (o requerimento de Ca de uma vaca de 500 kg é de menos de 22 g/dia).

- **Estase alimentar devido ao estresse do parto:** uma interrupção do fluxo alimentar, por menor que seja, pode levar à hipocalcemia clínica. A própria hipocalcemia, por sua vez, induz e mantém a estase alimentar, devido à diminuição da motilidade intestinal. A alimentação com silagem ou concentrados predispõe à estase alimentar, enquanto o fornecimento de forragens fibrosas ou feno estimula a motilidade do trato gastrointestinal.
- **Desequilíbrios alimentares:** dietas consideradas alcalinas, isto é, com excesso de cátions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) predispõem à hipocalcemia, pois a alcalose metabólica originada de um desbalanço no fornecimento de ânions para a vaca no final da gestação provoca uma perda da conformação do receptor para o PTH, reduzindo sua atividade nos tecidos-alvo.
- **Fósforo:** dietas ricas em fósforo (> 80 g/dia) inibem a produção da enzima  $1\alpha$ -hidroxilase em nível renal, diminuindo a produção de  $1,25\text{-DHC}$  e, portanto, a absorção de Ca intestinal.
- **Magnésio:** dietas deficientes em Mg causam inibição da mobilização de Ca por efeito direto sobre o metabolismo dos ossos, interferindo com a absorção intestinal de Ca e estimulando a secreção de calcitonina.
- **Raça:** vacas Jersey são mais suscetíveis que vacas de raça Holandesa, provavelmente pela menor concentração de receptores para

1,25-dihidroxitamina D nas células epiteliais do intestino.

- Hereditariedade: apesar de haver reincidência de casos nas lactações subsequentes, a hipocalcemia apresenta uma hereditariedade baixa de 6 a 12 %.

#### Eventos metabólicos

O nível crítico de Ca sanguíneo é de 6,5 mg/dL. Considera-se que esse nível é incompatível com a motilidade normal do trato gastrointestinal, o que pode exacerbar a hipocalcemia ou até causar outros problemas metabólicos. Quando o teor de Ca sanguíneo chega a ser menor de 4,5 mg/dL, os sinais clínicos da febre do leite aparecem.

O tecido ósseo é a maior fonte de Ca em períodos de reduzida ingestão de Ca ou elevada demanda, sendo que uma pequena quantidade desta reserva existe sob forma prontamente disponível no meio extracelular do tecido ósseo. Toda vez que há um declínio nas concentrações sanguíneas de Ca este estoque (que corresponde de 6 a 10 g) é transferido para circulação sob estímulo do PTH. O PTH também estimula a síntese renal da 1,25-dihidroxitamina D, que tem como função mais importante o estímulo da absorção intestinal de cálcio. A 1,25-dihidroxitamina D estimula as proteínas ligantes do cálcio, que transportam cálcio através das células epiteliais intestinais, e a atividade da Ca-ATPase Mg-dependente, que bombeia o cálcio das células intestinais para a circulação.

Em vista disso, no momento do parto a vaca tem capacidade limitada de responder em termos de produção de PTH na quantidade necessária, devido à baixa demanda de Ca no período seco, que é de aproximadamente 10

a 12 g por dia. Portanto, esta mudança brusca na necessidade diária de Ca não é atendida pelos mecanismos hormonais que fazem manutenção do nível de Ca, levando a uma redução do nível sanguíneo de Ca e conseqüentemente perturbando a função neuromuscular, o que evidencia os sinais clínicos da doença.

#### Sinais clínicos

Com baixos níveis séricos de cálcio, o animal exhibe perda do tônus muscular, o que leva a uma paralisia flácida, hipotermia e depressão nervosa. Os sinais clínicos da hipocalcemia são divididos em 3 estágios:

- Estágio 1: a vaca ainda está em estação, há breves estágios de excitação e tetania, hipersensibilidade e tremor muscular da cabeça e membros. A vaca reluta em alimentar-se e tem dificuldade de comer. Neste estágio a temperatura corporal é normal.

- Estágio 2: considerado prodrômico da doença, caracterizado por anorexia, agalactia, estase ruminal, que pode causar timpanismo. A vaca fica em decúbito esternal prolongado, tem aparência sonolenta e a cabeça virada para o flanco. O focinho fica seco, as extremidades frias, a temperatura subnormal e o pulso fraco.

- Estágio 3: a vaca encontra-se em decúbito esternal lateral, por paralisia muscular com temperatura subnormal e pulso débil. Aparece comatosa e com os membros estendidos. A paralisia muscular pode ser explicada porque a hipocalcemia causa aumento da permeabilidade celular a cátions, fazendo com que o  $K^+$  saia e o  $Na^+$  entre na célula, ou seja, afeta a diferença de potencial elétrico das células. Além do mais, há um vazamento de fosfato das células levando à degene-

ração e necrose das fibras musculares, o que explicaria por que há vacas que não respondem ao tratamento com Ca. O quadro pode complicar-se ainda mais quando associado a hipomagnesemia ou fígado gorduroso. Neste estágio as bulhas cardíacas são quase inaudíveis. Sem tratamento a vaca fica progressivamente pior até a morte em poucas horas.

#### Diagnóstico

O diagnóstico da paresia puerperal está baseado nos sinais clínicos, a anamnese de parto, o nível de produção de leite, a idade e a concentração de cálcio no sangue. A hipocalcemia geralmente cursa com hipofosfatemia e hipomagnesemia concomitante. Se o quadro clínico se mantiver por 48 ou mais horas, o prognóstico é desfavorável devido ao maciço dano muscular, produto da necrose. Nesta situação, valores plasmáticos elevados das enzimas creatina quinase (CK) e aspartato transaminase (AST) indicarão que o animal dificilmente se recuperará. A doença é aguda e letal, caso não seja corrigido o déficit de cálcio. Em alguns casos, a hipocalcemia pode vir acompanhada de ruptura de tendões, fraturas pélvicas, hematomas e traumatismos mamários, como consequência das frequentes quedas que sofre o animal.

É necessário o diagnóstico diferencial com cetonemia, desnutrição, osteomalacia, tetanias e eclâmpsias por deficiência de magnésio, paralisias traumáticas ou nervosas, coma hepático, endometrite séptica, linfossarcoma, miopatia degenerativa, mastite aguda ou gangrenosa e tripanosomíase.

#### Tratamento

De 75 a 85 % dos casos de febre do leite respondem ao tratamento tradicional. Porém, 15 a 25 % das vacas podem não respon-

der ou complicar-se com outras condições. O tratamento padrão consiste na injeção parenteral de sais de cálcio, geralmente boro-gluconato de Ca em dose de 400-800 mL de uma solução de 25 %. A dosagem de enzimas sanguíneas, principalmente creatina quinase (CK), é útil para avaliar a extensão da lesão muscular e determinar o prognóstico.

Os preparados comerciais mais comuns contêm entre 8,5 e 11,5 g de Ca por 500 mL. A dose mais efetiva é de 2 g de cálcio/100 kg de peso vivo. Este tratamento recupera o nível sanguíneo de cálcio por aproximadamente 4 horas. Na maioria dos casos o déficit de vacas leiteiras com hipocalcemia é em torno de 6 g, de forma que o fornecimento de 500 mL das soluções comerciais é adequado para a maioria dos casos. Porém, deve-se ter atenção especial para subdosagens, o que pode provocar recidiva ou mesmo ausência de resposta ao tratamento, ou superdosagens, o que aumenta o risco de recidivas.

Os sais de Ca também podem ser administrados por via subcutânea, sendo limitados a uma dose de 1 g de Ca, o que corresponde a cerca de 50-75 mL da maioria dos preparados comerciais, porém sua atuação é mais lenta. Recomenda-se aplicar a solução à temperatura corporal e de forma lenta devido ao risco de choque circulatório por tetanização do músculo cardíaco. A aplicação de 8-12 g de cálcio deve no mínimo transcorrer em 12-15 minutos. Em casos de processos prolongados, devem aplicar-se suplementos energéticos (dextrose) e antioxidantes (vitamina E, selênio) para neutralizar a necrose muscular e compensar as necessidades metabólicas.

O tratamento deve ser iniciado o mais breve possível, pois após 4 horas o peso da vaca em decúbito pode ocasionar a “síndrome do esmagamento no lado oposto”, causando isquemia e necrose de músculos e nervos.

## Prevenção

A prevenção da febre do leite tem sido implementada utilizando dietas baixas em cálcio pelo menos duas semanas antes do parto (< 20 g Ca/dia) e/ou suplementos de vitamina D (600 µg de 1,25-DHC) 24-48 h antes do parto, o que tem diminuído a incidência da doença. As vacas com dietas baixas em cálcio no pré-parto apresentam maiores níveis de PTH, tornando-as menos suscetíveis à diminuição da absorção intestinal de cálcio, resultante da anorexia e da estase intestinal associadas ao parto. Entretanto, na prática, resulta difícil limitar a ingestão de cálcio com os alimentos utilizados normalmente. Uma alternativa tem sido alterar a relação de consumo Ca/P para 1 ou menos, mediante a adição de fosfato de sódio na dieta.

Outra alternativa preventiva são as dietas com alto conteúdo de ânions ou “dietas acídicas”, fornecidas no pré-parto. A redução do teor de cátions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) e o aumento do teor de ânions ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ) no pré-parto, provoca resposta do organismo para neutralizar os ânions, que se manifesta na diminuição da excreção de íons  $\text{H}^+$  no rim, e aumentar seu teor no sangue, o que tende a reduzir o pH sanguíneo e como

resultado aumentar os níveis plasmáticos de 1,25-DHC, ativando a absorção intestinal de Ca e estimulando a desmineralização óssea. A desmineralização óssea é estimulada na acidose devido à tentativa do osso de neutralizar o pH sanguíneo, mediante a saída de carbonato de cálcio.

Para calcular o balanço iônico, considera-se que uma dieta em que a soma de  $[(\text{Na} + \text{K}) - \text{Cl}]$  seja menor do que 100 meq/kg MS, resulta útil para prevenir a febre do leite. Na prática, é difícil encontrar alimentos com essa somatória aniônica, de forma que o melhor é acidificar a dieta mediante a adição de sulfatos e cloretos de amônia, cálcio ou magnésio (Quadro 2). Estudos mostram que diferenças cátion-ânion da dieta (DCAD) da ordem de -100 a -200 meq/kg MS nas últimas 4 semanas de gestação não somente reduzem a incidência de hipocalcemia clínica e subclínica, mas também reduzem problemas de edema de úbere e aumentam a produção de leite em até 8 %.

A integridade da interação entre o PTH e seu receptor é vital para a homeostase do Ca. A hipomagnesemia pode interferir na interação entre o PTH e seu receptor, visto que o Mg atua como cofator de um importante segundo mensageiro intracelular do PTH. Concentra-

QUADRO 2 – SAIS ANIÔNICOS UTILIZADOS NA PREVENÇÃO DA HIPOCALCEMIA PUERPERAL EM VACAS LEITEIRAS

Sal	Fórmula química
Sulfato de amônia	$\text{NH}_4\text{SO}_4$
Sulfato de cálcio	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Sulfato de magnésio	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Cloreto de amônia	$\text{NH}_4\text{Cl}$

ções de Mg menores que 1,5 mg/dL aumentam o risco de hipocalcemia. A manutenção do nível normal de Mg sérico é dependente de um influxo constante de Mg da dieta. Altos níveis de K podem prejudicar a absorção de Mg. Portanto, os níveis de fornecimento de Mg na dieta devem estar entre 3 e 4 g/kg como segurança contra possíveis alterações na absorção normal de Mg. A hipomagnesemia é facilmente controlada com a suplementação de níveis adequados e disponíveis de Mg na dieta.

Um bom indicativo do funcionamento das dietas aniônicas é a aferição do pH urinário 48 h após a troca de suplemento. Se o pH estiver na faixa de 5,5 a 6,5, indica acidificação adequada do pH sanguíneo. No entanto, se estiver maior que 7,0, indica não acidificação e risco de desenvolvimento da doença.

Com exceção do K e Cl, os componentes minerais da dieta são mais ou menos fixos, devido a faixas estritas de requerimento. Portanto, a chave para ajuste do DCAD é manter o nível de K o mais próximo possível do requerimento para vacas secas (10 g/kg) e, para compensar os efeitos do K, que mesmo em baixos níveis pode induzir alcalinização sanguínea. É preciso adicionar em torno de 5 g/kg de Cl a menos do que de K. Exemplificando, se o requerimento da vaca é de 13 g/kg de K o ideal é fornecer 8 g/kg de Cl, para atingir o DCAD ideal para prevenção da hipocalcemia.

### **Eclâmpsia puerperal**

Também conhecida como tetania puerperal, a eclâmpsia, além de ocorrer em cadelas pode ser observada em éguas, porcas e gatas, sendo raras em vacas. O transtorno é encontrado mais frequentemente em cadelas de raças pequenas com grandes ninhadas sendo classificado como toxicose de origem puerperal, embora sua apresentação possa ocorrer desde

alguns dias antes até três semanas antes após o parto. Em cães é mais frequente em raças pequenas e excitáveis, como Chihuahua, Poodle Toy e Terrier, embora também tenha sido relatada em cães de raças maiores e em gatos.

### **Etiologia e patogenia**

É possível que o quadro clínico agrupe mais de um agente etiológico, entre os quais se menciona um desequilíbrio iônico em nível intra e extracelular. A hipomagnesemia e a hipocalcemia são relatadas como causadoras do quadro clínico. Não há evidência certa para considerar a tetania puerperal nas espécies em que ocorre como sendo transtorno relacionado com a secreção de PTH, uma vez que vários trabalhos relatam que os níveis desse hormônio podem estar normais ou até aumentados em resposta à hipocalcemia.

A tetania puerperal reflete depleção de cálcio ionizado no compartimento extracelular. Os fatores predisponentes são nutrição inadequada no período do parto, suplementação de cálcio imprópria e demandas lactacionais intensas. Pequenas cadelas com grandes ninhadas estão sob maior risco. Uma excessiva suplementação pré-natal com cálcio pode levar ao desenvolvimento de tetania puerperal, ao promover a atrofia das glândulas paratireoides e inibir a liberação do paratormônio (PTH) e estimular a liberação de calcitonina, interferindo assim com os mecanismos normais para as mobilizações das reservas adequadas de cálcio, ou com a utilização das fontes de cálcio presentes nos alimentos.

O uso de rações comerciais com fórmulas balanceadas para crescimento, sem suplementação vitamínica ou mineral, é ideal durante a segunda metade da gestação e durante toda a lactação. Condições metabólicas que favorecem a ligação do cálcio sérico a proteínas podem promover hipocalcemia, por

exemplo a alcalose resultante da taquipneia durante o trabalho de parto ou distocia.

Diets ricas em fósforo podem aumentar a incidência de eclâmpsia, uma vez que altas concentrações de fósforo no sangue inibem a ação da 1 $\alpha$ -hidroxilase, enzima renal que torna a vitamina D ativa.

Quando a concentração de íons cálcio do líquido extracelular diminui abaixo do normal em cadelas, o sistema nervoso fica progressivamente mais excitável, pois a redução do cálcio provoca aumento da permeabilidade da membrana neuronal ao íon sódio, permitindo o início fácil dos potenciais de ação. Com concentrações plasmáticas de íons cálcio cerca de 50 % abaixo do normal, as fibras nervosas periféricas ficam tão excitáveis que começam espontaneamente a iniciar impulsos nervosos dirigidos aos músculos esqueléticos periféricos, provocando concentrações musculares tetânicas.

Em geral, ocorre tetania quando a concentração sanguínea de cálcio cai de seu nível normal de 10 mg/dL para cerca de 6,0 mg/dL, sendo uma queda letal quando atinge 4,0 mg/dL.

A hipocalcemia puerperal ou eclâmpsia, na cadela, causa tetania neuromuscular, enquanto na vaca se apresenta paresia. Isso revela diferenças fisiológicas na união neuromuscular nessas duas espécies. A liberação de acetilcolina e a transmissão dos impulsos nervosos são bloqueados pela hipocalcemia nas vacas, produzindo paralisia. Na cadela, pelo contrário, a hipocalcemia mantém por tempo anormal a excitação-secreção na placa motora terminal. A tetania ocorre como resultado de cargas repetitivas espontâneas sobre as fibras nervosas motoras. Devido à hipocalcemia, as membranas nervosas se tornam mais permeáveis a íons (entre eles o Mg<sup>2+</sup>) requerendo um estímulo de menor intensidade para a despolarização.

## Sinais clínicos

A eclâmpsia cursa com tetania e convulsões. A apresentação do evento de tetania pode durar desde poucos minutos até duas horas. Os animais sofrem perda da consciência, exibindo forte contração dos músculos cervicais, da cabeça e das extremidades. Ocorre copiosa salivação e odontocrise, nistagmo contínuo e excitação permanente. O pulso na fase inicial é normal, variando depois para um pulso fraco. Os sinais clínicos, como fraqueza acompanhada de tremores musculares, respiração ofegante e ataxia, rapidamente progredem para tetania com convulsões tônicoclônicas e opistótono.

Na cadela, o curso clínico da eclâmpsia é rápido, com no máximo 12 horas entre o aparecimento dos sinais clínicos iniciais e o desenvolvimento da tetania. Sinais premonitórios incluem inquietude, arquejo excessivo e comportamento excitável. Em poucas horas, os sinais podem progredir para ataxia, tremores, tetania muscular e convulsões. Hipertermia (temperatura até 42 °C) está frequentemente associada ao aumento da atividade muscular.

Na eclâmpsia também podem ser vistos sinais iniciais como alteração comportamental, irritabilidade, agressividade e cuidados maternos insatisfatórios, desorientação, salivação e prurido facial. A intensidade dos sinais varia entre os indivíduos dependendo do grau de hipocalcemia. Como os íons de cálcio são essenciais para a contração do miocárdio, concentrações baixas do metabólito (< 40 % dos valores de referência) podem resultar em redução da contratilidade do miocárdio, bradicardia e diminuição da pressão arterial.

## Diagnóstico

O diagnóstico de eclâmpsia é estabelecido com base na presença de sinais clínicos



consistentes em uma fêmea em lactação, e no chamado diagnóstico terapêutico. O diagnóstico diferencial inclui hipoglicemia, intoxicações e distúrbios neurológicos como epilepsia ou meningoencefalite idiopática. Outras causas de irritabilidade e hipertermia pós-parto como metrite ou mastite devem ser excluídas.

Achados bioquímicos no sangue incluem hipofosfatemia, hipocalcemia, hipomagnese-mia, hipoglicemia e valores elevados de CK, os dois últimos como resultado da intensa atividade muscular associada à tetania.

Rotineiramente, o cálcio é avaliado por meio da determinação do cálcio sérico total, mas somente a mensuração do cálcio ionizado pode fornecer uma avaliação precisa da fração do cálcio biologicamente ativo. Vários fatores podem influenciar a proporção da fração do cálcio ionizado, entre eles a concentração de albumina, o pH do sangue e a temperatura corporal. Na acidose aumenta a concentração do íon, por haver diminuição da ligação cálcio-albumina, enquanto na alcalose aumenta essa ligação, com conseqüente diminuição de cálcio iônico fisiologicamente ativo. Fatores que podem afetar a concentração de albumina ou pH não têm influência quando se analisa a dosagem do cálcio iônico em vez do cálcio total. Na tentativa de estimar o grau de interferência desses fatores na avaliação de laboratório do cálcio, foram desenvolvidas fórmulas de correção, sendo a mais utilizada a que considera a concentração sérica de albumina na correção do valor do cálcio total. O quadro geralmente apresenta concentração sérica total de cálcio abaixo de 7 mg/dL e resposta ao tratamento com cálcio.

O fósforo sérico está frequentemente diminuído a um grau comparável ao do cálcio. A glicose sanguínea pode estar baixa como resultado da intensa atividade muscular associada à tetania.

## Tratamento

Como tratamento da eclâmpsia, têm sido usados tranquilizantes e soluções eletrolíticas. A única prevenção clara é a necessidade de manter os animais de produção protegidos com vacina antitetânica, a fim de facilitar a diferenciação clínica, muito embora o quadro de eclâmpsia esteja sempre associado ao final da gestação e ao parto.

A administração endovenosa lenta (para evitar fibrilação ventricular e parada cardíaca) de uma solução a 10 % de cálcio orgânico (borogluconato de cálcio) resulta em rápida melhora clínica. Em cadelas pesando de 5 a 10 kg, é suficiente a aplicação de 10 mL da solução. Cloreto de cálcio 10 %, que é três vezes mais potente do que o gluconato de cálcio, também é um tratamento eficaz, mas pode causar irritação severa em contato com o tecido extravascular. Os filhotes devem ser removidos por 24 horas para reduzir a perda de cálcio, período em que devem ser alimentados com sucedâneos lácteos. Administração suplementar de cálcio e vitamina D são úteis na prevenção de recidivas. Como prevenção, recomenda-se que durante a gestação a dieta possua uma relação cálcio-fósforo de 1:1, a fim de evitar um excesso de cálcio e manter ativo o mecanismo endócrino de mobilização óssea de cálcio.

A intervenção terapêutica deve ser iniciada imediatamente após o reconhecimento dos sinais clínicos, sem esperar pela confirmação bioquímica. Monitoramento cardíaco para bradicardias e arritmias deverá acompanhar a administração de cálcio, e em caso de ocorrer deve-se optar pela suspensão temporária da infusão e instauração de infusão subsequente mais lenta. Os sinais de intoxicação com injeção de cálcio em quantidade exagerada e rápida incluem bradicardia e encurtamento do intervalo QT.

Diazepan (1-5 mg IV) ou barbitúricos podem ser utilizados no controle da atividade convulsiva, assim que tenha sido constatado o quadro de eucalcemia. Os corticosteroides estão contraindicados durante a teta puerperal, pois estes agentes reduzem as concentrações séricas de cálcio, por promoverem calciúria, diminuição da absorção intestinal de cálcio e por prejudicarem a osteoclasia. Caso esteja presente, deverá ser corrigida a hipoglicemia e, se houver necessidade, será administrado o tratamento para hipertermia (banhos de gelo e álcool isopropílico, ventiladores). Assim que os sinais neurológicos imediatos tenham sido controlados com gluconato de cálcio intravenoso, é administrada infusão subcutânea de igual volume, diluída a 50 % com solução salina. Se os sinais são recorrentes, esse procedimento poderá ser repetido a cada oito horas, até que a cadela esteja estabilizada. Recomenda-se suplementação oral de carbonato de cálcio (10-30 mg/kg) a cada oito horas e vitamina D tão logo seja possível para prevenir recidivas.

Fica incentivado o desmame precoce (3 semanas de idade) com suplementação dos filhotes com substitutos lácteos comerciais. Alguns clínicos recomendam o uso de suplemento de vitamina D, mas essa prática deve ser realizada com cuidado, pois pode ocorrer hipocalcemia em resposta à administração exagerada de vitamina D. Durante a gestação, uma dieta balanceada de boa qualidade, com relação cálcio-fósforo de 1:1, provê a quantidade requerida de cálcio (porém não excessiva) e pode suprir um mecanismo homeostático de cálcio mais responsivo ao incremento marcante na demanda lactacional.

O proprietário deve ser advertido do risco de recorrência de eclâmpsia em futuras lactações. As etapas a considerar para impedir a recorrência da patologia incluem

alimentação de alta qualidade, balanço nutricional e dieta apropriada durante a gestação e a lactação, fornecendo alimento e água à vontade. Se necessário, a fêmea pode ser separada dos neonatos por 30 a 60 minutos várias vezes ao dia para ser estimulada a se alimentar. Os filhotes podem receber aleitamento artificial suplementar precoce, e alimentos sólidos podem ser oferecidos com 3 a 4 semanas de idade, principalmente se a ninhada for grande. A suplementação oral com cálcio durante a gestação não é indicada, pois pode favorecer a ocorrência de hipocalcemia na lactação.

### **Osteoporose**

É um transtorno ósseo frequente em vacas de alta produção, em decorrência do excessivo gasto de Ca no leite, unido à deficiência no consumo.

Na osteoporose, ocorre um desequilíbrio de origem desconhecida, no qual a desmineralização do osso ocorre a uma maior velocidade do que a formação de osso.

Nas vacas leiteiras, a osteoporose constitui uma típica doença de produção que pode ter, entre outras causas, as seguintes:

- (a) Deficiência de cálcio, fósforo ou vitamina D: o fósforo é mais importante em animais em crescimento porque, sendo necessário para a atividade e o crescimento da flora ruminal, sua deficiência limita a produção de proteínas no rúmen, e um nível de proteínas adequado é necessário para o metabolismo do osso.
- (b) Alta produção de leite, fator que pode agravar uma deficiência.
- (c) Desequilíbrios nas proporções Ca:P. A relação Ca:P no osso é de 2:1, no leite é de 1:1 e nos alimentos pode exceder 3:1. Isso signi-

fica que geralmente ocorre uma deficiência relativa de P, sendo necessária a sua mobilização dos ossos para manter a homeostase, o que pode levar à patologia óssea.

(d) Interação com outros minerais, principalmente magnésio: o excesso de Mg diminui a disponibilidade tanto de Ca como de P; com o Ca concorre no processo de absorção e com o P forma sais insolúveis que não são absorvidos.

(e) Disponibilidade dos minerais, que pode ser afetada por fatores como a idade, a relação Ca:P e o tipo de alimento. Em animais jovens, a disponibilidade de Ca é de 100 %, e a de P, de 90 %, valores que nas vacas adultas caem para 45 % e 55 %, respectivamente. A relação Ca:P nos alimentos deve ser 2:1. Abaixo de 1:1, como nas dietas à base de cereais, ou acima de 4:1, nas pastagens em solos muito encalados, torna-se desfavorável. As forragens têm menor disponibilidade de Ca, enquanto os cereais têm maior disponibilidade de Ca e de P.

(f) Outras condições, tais como hipertireoidismo, hipogonadismo, hiperadrenocorticism, deficiência de vitamina C, diabetes e acromegalia podem ser causa de osteoporose.

A osteoporose é uma doença crônica e insidiosa, isto é, não é aparente por um longo período de tempo até chegar a um ponto crítico em que os sintomas começam a ficar evidentes. Ocorre enfraquecimento dos ossos, deformações, dor e tendência a fraturas espontâneas, diminuição da capacidade para se locomover e conseguir alimento. Nos ossos longos, observa-se inflamação das articulações e manqueira. Outros sintomas associados, especialmente quando há deficiência de P, são perversão do gosto e infertilidade. No perfil sanguíneo os níveis de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina podem estar normais, mas os ossos mostram perda da densidade quando analisados por raios X.

O tratamento da osteoporose consiste na suplementação mineral adequada, sendo necessário, em ocasiões, administrar vitamina D via parenteral e analgésicos para combater a dor.

### **Raquitismo e osteomalácia**

Tipicamente, o raquitismo e a osteomalácia são transtornos da mineralização dos ossos devido à deficiência de vitamina D, mas também podem ser causadas por deficiência de P ou de Ca ou por falta de exposição ao sol. Outras causas de raquitismo incluem:

(a) Defeitos no metabolismo da vitamina D, basicamente por falhas na hidroxilação em C-1 e/ou em C-25.

(b) Acidose, uma vez que o pH apropriado para a mineralização é de 7,6.

(c) Inibição da mineralização do osso por fluoretos ou por difosfonatos.

A deficiência de vitamina D tende a ocorrer mais em animais confinados, enquanto que a deficiência de P ocorre mais por causa de alimentação exclusiva com pastagens de má qualidade. Animais confinados sob dietas de crescimento rápido são mais suscetíveis.

A doença se caracteriza por uma deficiente mineralização da matriz óssea. No raquitismo, há desmineralização da cartilagem, particularmente nas placas epifisárias dos ossos longos, o que resulta em crescimento retardado. A osteomalácia, própria dos adultos, pode ocasionar dor intensa. As articulações aumentam de tamanho e os ossos se curvam e deformam, impedindo a adequada mobilização. As costelas adquirem nódulos nas articulações costocôndriais, os dentes retardam sua erupção e a mandíbula se desalinha.

O perfil sanguíneo pode mostrar níveis baixos de P e, às vezes, de Ca, sendo que, comumente, os sinais clínicos aparecem quando o produto Ca\*P é menor que 30 mg/dL (referência= 40-80). A correção da dieta e dos fatores predisponentes e a administração de vitamina D geralmente recuperam o animal, embora possam persistir algumas lesões por um tempo.

### Hipercalcificação

A hipercalcificação pode ocorrer em razão do excesso no consumo de cálcio ou excesso de vitamina D, a qual mobiliza as reservas de Ca dos ossos e aumenta a sua absorção intestinal.

O excesso de consumo de Ca pode ser consequência de dietas desequilibradas, como, por exemplo, touros alimentados com rações para vacas leiteiras. O excesso de Ca leva a uma hipercalcemia que induz a secreção permanente de calcitonina das células C da tireoide, as quais com o tempo podem sofrer hiperplasia e eventualmente neoplasia. O resultado é a calcificação dos tecidos macios. Os animais afetados sofrem manqueira, dor e rigidez articular, causando muitas vezes impotência *coeundi* nos reprodutores.

As intoxicações com vitamina D podem ter várias causas, tais como tratamentos excessivos para prevenir febre do leite em vacas ou consumo de plantas tóxicas que contêm compostos de intensa atividade de vitamina D (glicosídeo de 1,25-DHC). No Brasil, plantas como espichamenta, e na Argentina, a *Solanum malocoxylon*, que crescem em solos úmidos ou alagados, podem causar o problema, especialmente quando não há disponibilidade de forragem.

O perfil sanguíneo pode mostrar níveis de Ca superiores a 13 mg/dL e de P maiores

de 12 mg/dL. A intoxicação pode demorar até um ano para ficar manifesta, mas a mortalidade é alta (60 %). Pode ocorrer calcificação do endotélio das artérias e do coração, bem como osteopetrose (calcificação excessiva dos ossos).

### Fósforo

#### Metabolismo

O conteúdo total de fósforo no organismo é quase metade do conteúdo de Ca. Aproximadamente 85 % do fósforo do organismo está no esqueleto, como fosfato inorgânico. A relação Ca:P nos ossos é de 2:1, e a relação Ca:P nos alimentos, ótima para sua absorção, também é de 2:1. Entretanto, a relação Ca:P no leite é de cerca de 1:1, o que significa que, nas vacas leiteiras, há tendência a uma deficiência de fósforo, o que pode ser superado mediante a suplementação com concentrados, pois os cereais, componentes básicos dos concentrados, são ricos em fósforo.

Nos tecidos macios, o fósforo está em maior concentração que o cálcio. Por exemplo, no músculo há 2-3 g de P/kg e 0,1 g de Ca/kg. O fosfato inorgânico no plasma está como ortofosfato em uma relação  $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$  de 4. Aproximadamente 12 % do fosfato plasmático está unido a proteínas. A concentração de fosfato plasmático é de 1,0-1,5 mmol/L (4,5 a 7,0 mg/dL).

A relação Ca:P no plasma é recíproca, isto é, quando o fósforo diminui, o cálcio aumenta e vice-versa. Os níveis plasmáticos de fosfato flutuam até em 50 %, diferentemente dos níveis de cálcio que mantêm sua homeostase dentro de estreitos limites.

Entre 70 a 90 % do fosfato ingerido na dieta é absorvido por meio de um transporte ativo. O fosfato inorgânico no plasma

se excreta via renal, sendo mais facilmente difusível através do glomérulo do que o  $\text{Ca}^{2+}$ . A principal rota de excreção do fosfato inorgânico é o rim, enquanto, para o cálcio, o controle básico da homeostase é a taxa de absorção no trato gastrointestinal. O fósforo também se excreta em grandes quantidades pela saliva, sendo em grande proporção reabsorvido pelo intestino, estabelecendo um ciclo importante para a homeostase do fósforo. A presença de fósforo na saliva é importante como tampão para manter o pH ótimo no rúmen, sendo vital para a atividade e crescimento dos microrganismos.

#### Funções do fósforo

- (a) Faz parte da estrutura da matriz óssea, junto com o cálcio.
- (b) É componente de nucleoproteínas, fosfoproteínas, fosfolipídeos e ácidos nucleicos, sendo, portanto, de vital importância para o crescimento.
- (c) A precípua função do fósforo é como participante em importantes vias metabólicas, sendo integrante de muitos intermediários ligados ao metabolismo energético (ATP, GTP, creatina-fosfato, glicídios fosfatados), bem como de nucleotídeos envolvidos na ação hormonal (cAMP, cGMP).
- (d) Participa, na forma de fosfato inorgânico, no equilíbrio acidobásico intracelular.
- (e) Atua como componente estrutural e ativador de coenzimas (NAD, NADP), essenciais no metabolismo.
- (f) É necessário para o metabolismo e o crescimento das bactérias ruminais, especialmente as celulolíticas, que têm maiores exigências deste mineral.

#### Deficiência de fósforo

A deficiência de fósforo é o tipo de deficiência mais comum entre os macrominerais, principalmente em ruminantes em pastejo, devido à maioria das pastagens nas regiões tropicais e subtropicais ser deficitária neste elemento. Em muitas regiões do planeta, o fósforo nas pastagens atinge níveis menores do que 0,07 % na matéria seca, devendo ser suplementado para cobrir a exigência (0,18 %).

Nos primeiros estudos realizados no Brasil sobre deficiências minerais, a carência de P em bovinos mostrou-se de comum ocorrência. Diagnosticada na década de 1940 em estudos realizados no Estado de Minas Gerais, primeiramente pelo diagnóstico clínico e em seguida complementado por análises bioquímicas, este déficit mineral acabou sendo considerado, já na década de 1970, o mais comum do país. O cerrado brasileiro também possui pastagens com concentrações de P quase insuficientes para suprir as exigências das diferentes categorias animais e manter o bom nível de produção, em especial no período das chuvas.

Quando a ingestão de P encontra-se dentro dos valores de referência, a sua absorção é proporcional à ingesta. Se o aporte dietético é reduzido, aumenta-se a sua eficiência absorptiva e, quando esse se encontra elevado, a absorção diminui. Essa resposta adaptativa ao P dietético é específica do cotransporte sódio/fósforo. Outros minerais podem ser fundamentais no aproveitamento do P ingerido, pois podem se ligar a ele e impedir sua absorção, como é o caso do magnésio, do alumínio e do ferro, que formam precipitados, comprometendo este processo.

## Sinais clínicos

O efeito primário da deficiência de fósforo é a redução no consumo de alimento, o que pode causar, especialmente em bovinos e ovinos, transtornos na fertilidade e no crescimento, queda da produção e, em casos avançados, falhas na digestão e lesões ósseas. Um sinal avançado de falta de fósforo é depravação do apetite, que leva o animal a ingerir material estranho e ao risco de intoxicações por *Clostridium botulinum* (botulismo) por ingestão de ossos de carcaças contaminadas.

Alguns autores mencionam que a causa da doença conhecida como “cara inchada” ou osteodistrofia fibrosa dos bovinos é uma deficiência complexa, envolvendo cálcio, fósforo e zinco. Os sinais clínicos da deficiência de P são muito parecidos aos da deficiência de Ca, geralmente articulações doloridas e inchadas.

Nos bovinos leiteiros, cujo período pós-parto requer grande quantidade de energia, a deficiência de P torna-se ainda mais preocupante devido às inúmeras ocorrências clínicas e subclínicas que acometem esses animais. Há uma redução significativa dos níveis intracelulares de P nos hepatócitos durante o pós-parto, atribuída a uma redução no volume do citosol dessas células, porém o significado clínico desse evento ainda precisa de elucidação. As categorias mais susceptíveis à deficiência de P são as vacas jovens com cria ao pé que exibem primeiro os sinais clínicos da carência, devido à alta demanda por este elemento. A seguir, as vacas adultas, animais em crescimento (macho e fêmeas), os animais em acabamento e, por último, os animais recém desmamados, que possuem reservas de P adquiridas durante o aleitamento.

Hipofosfatemia moderada e crônica, com fósforo plasmático entre 2 e 4 mg/dL, causa sutil decréscimo no desempenho produtivo. Em situações de maior severidade, o desempenho animal e consumo de alimento diminuem muito. Decúbito e paresia, quando o cálcio plasmático é normal, são associados com concentração de fósforo abaixo de 1 mg/dL.

Desse modo, percebe-se a importância de se diagnosticar a carência de P em seu estado subclínico, pois é a ocorrência mineral mais comum nos animais. A deficiência marginal é economicamente mais prejudicial, uma vez que, pela ausência de sinais clínicos, nenhum cuidado é tomado para aumentar o potencial de produtividade dos animais. O desenvolvimento de métodos de diagnóstico da deficiência subclínica é de grande valor, pois a correção desse distúrbio na fase inicial pode ser feita com dietas mais adequadas. A utilização apenas do P plasmático, como método único e confiável na determinação de sua deficiência, tem suas limitações, pois a manutenção dos níveis séricos dentro de valores de referência pode ocorrer por meio da resorção (desmineralização) do tecido ósseo. Assim sendo, o desenvolvimento de alternativas de diagnóstico, para melhor caracterizar tal deficiência, torna-se necessário, bem como estratégias que reduzam ao máximo a quantidade de P na dieta de modo a controlar a poluição ambiental sem prejudicar a *performance* produtiva dos animais.

Pelo fato de a carência de P ser confundida com outros estados deficitários, com sinais clínicos semelhantes, e as deficiências marginais não serem facilmente detectáveis, o fator determinante para caracterizar a deficiência deste mineral é a resposta favorável do desempenho animal em face da suplementação fosfórica.

## Tratamento

O teor de P raramente é suprido por uma dieta à base de pastagens, sem que se tenha uma suplementação mineral. Em geral, grãos de cereais e farelos de oleaginosas contêm moderado teor de P, e nos produtos de origem animal esse teor é considerado alto. Geralmente o baixo nível deste elemento nas plantas está diretamente relacionado com a deficiência do mineral no solo. Quando o nível de P na dieta não supre a demanda do animal, as células dos tecidos são primeiramente afetadas, uma vez que elas dependem do suprimento proveniente dos alimentos. Se esta deficiência persistir por período prolongado, e o diagnóstico for tardio, surgem diversos sinais clínicos que afetam o desempenho do animal, culminando em resultados às vezes irreversíveis.

Para corrigir este desequilíbrio, costuma-se suplementar os animais com fontes de fósforo orgânico, como farinha de ossos, ou principalmente na forma inorgânica, como fosfato bicálcico ou fosfato de rocha. Este último, porém, tem menor biodisponibilidade e pouca palatabilidade, além de possuir altos teores de flúor. Em relação ao fornecimento de farinha de osso, deve-se avaliar a legislação antes da recomendação de uso em especial para ruminantes.

Durante a suplementação oral, devem ser evitadas concentrações elevadas que tragam prejuízos à saúde e ao desempenho dos animais, porém as exigências metabólicas deste mineral devem ser atendidas. Segundo estudos, não existe diferença na produção e composição do leite de animais suplementados com P nem efeito sobre o estado sanitário ou escore corporal dos animais, porém o seu uso em excesso pode causar problemas relacionados à excreção de P nas fezes, fato que causa grande preocupação devido à poluição ambiental.

Vacas de corte no final de gestação e vacas leiteiras que permanecem em decúbito após o tratamento para hipocalcemia são frequentemente hipofosfatêmicas. Algumas dessas vacas caídas são beneficiadas pela administração endovenosa de fosfatos para restaurar a concentração normal de fósforo. Fosfato monossódico é uma forma solúvel de fosfato que pode ser administrado via endovenosa (30 g de fosfato monossódico em 300-500 mL de água destilada). Uma solução que inclua cálcio, magnésio, bem como fósforo pode favorecer a recuperação da vaca. Uma possibilidade para administração oral é: 0,5-0,75 kg de propionato de cálcio (ou 0,25-0,35 kg de cloreto de cálcio), 0,35 kg de fosfato monossódico e 0,5 L de propileno-glicol ou glicerina dissolvidos em 6 a 12 L de água morna.

## **Hemoglobinúria puerperal (Hipofosfatemia aguda)**

### Etiologia

Este transtorno ocorre por uma drenagem excessiva de fósforo pela glândula mamária e pode estar ligado à hipocalcemia e hipomagnesemia. Está associado com excesso de fertilização nas pastagens, elevado consumo de forrageiras altamente proteicas (azevém) e alta produção de leite. O leite drena até 1,5 g de fósforo por litro, o que pode provocar um quadro de deficiência deste mineral. O transtorno é mais frequente em vacas nas primeiras 5 semanas de lactação. A doença pode aparecer também no período de pré-parto, mas não afeta animais jovens nem vacas de corte.

### Sinais clínicos

A deficiência aguda de fósforo apresenta dois sintomas clássicos: hemoglobinúria e

anemia, que ocorrem devido a uma hemólise intravascular como consequência do aumento da fragilidade dos eritrócitos pela falta de ATP intracelular. Geralmente o animal entra em decúbito por fraqueza devido à anemia, ficando alerta e se arrastando na conhecida “posição de foca”. A cor do leite pode ficar avermelhada e a produção pode cair abruptamente.

O transtorno pode ser mortal quando ocorrem trombos obstrutivos no fígado. O decúbito prolongado provoca úlceras, estase da circulação periférica, necrose muscular e endotoxemia, que leva à paralisia dos proventrículos, alcalose ruminal e degeneração celular. Outros sintomas são hipertermia (pela presença de hemoglobina livre no sangue), pulso cardíaco aumentado, desidratação, dispneia e, na fase final, icterícia. Em casos de destruição maciça de eritrócitos ocorre hipotermia, que desencadeia um colapso com morte rápida. O sangue pode mostrar níveis subnormais de fósforo sérico (< 1,0 mg/dL) e anemia normocítica-normocrômica. O diagnóstico diferencial deve incluir babesiose, hemoglobinúria bacilar, hematúria essencial e leptospirose.

#### Tratamento

Deve-se fornecer ao animal fósforo de alta biodisponibilidade (como glicerofosfato de sódio), glicose, antioxidantes e protetores musculares (selênio e vitamina E) e soluções mistas de fósforo e magnésio. É totalmente contraindicada a aplicação de cálcio porque a hipercalcemia estimula a saída de potássio do músculo e agrava o quadro de debilidade muscular. Em alguns países, como na Nova Zelândia e na Austrália, preconiza-se a aplicação de cobre no tratamento.

O fornecimento de forragens do gênero crucífera (couve, nabo, repolho) e a colza

forrageira predis põem à hemoglobinúria puerperal. Como prevenção, deve evitar-se a sobrealimentação no pré-parto, não ocasionar sobrecarga hepática que possa levar a fígado gorduroso, realizar um adequado programa de secagem, especialmente em vacas de alta produção, controlar o consumo de crucíferas e colza e, finalmente, providenciar mesclas minerais com suficiente quantidade de fósforo disponível (mínimo 12 %). O prognóstico depende da gravidade dos sintomas. Em casos de anemia severa e decúbito prolongado com necrose muscular, é melhor decidir pelo sacrifício do animal. Deve monitorar-se a contagem eritrocítica para estabelecer a recuperação. Sintomas moderados são compatíveis com contagem de até 2,5 milhões/ $\mu\text{L}$ , ao passo que em sintomas graves a contagem pode chegar a menos de 1,5 milhões/ $\mu\text{L}$ .

## Potássio

### Metabolismo

O potássio participa da manutenção do equilíbrio acidobásico e da pressão osmótica das células. Esse mineral é cofator da enzima piruvato quinase, que transfere o grupo fosfato do fosfoenolpiruvato para o ATP, na fosforilação em nível de substrato que ocorre durante a glicólise. Também o K ativa várias enzimas do metabolismo.

O potássio, juntamente com o sódio, são responsáveis pelo potencial de membrana nas células do sistema nervoso central e dos músculos. Baixas concentrações de K diminuem a frequência cardíaca, ao passo que altas concentrações provocam arritmias cardíacas e afetam o transporte de  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$  pela hemoglobina.

Nos ruminantes, o potássio participa do sistema tamponante do rúmen, favorecendo



o crescimento e a função das bactérias ruminais, particularmente as de tipo celulolítico.

O potássio é absorvido em todos os segmentos do trato digestivo através do processo de difusão. Gado alimentado com pastagens de inverno, contendo baixas concentrações de potássio, promovem o reaproveitamento do potássio endógeno, principalmente o associado à saliva e ao suco gástrico. O potássio excedente é eliminado através da urina.

A relação Na:K é basicamente regulada pela aldosterona. O efeito deste hormônio é absorver Na e, secundariamente, excretar K nos túbulos renais.

#### Deficiência

A deficiência de potássio não é muito comum, a menos que a alimentação contenha níveis muito baixos deste mineral. Uma situação de diarreia, acompanhada de balanço negativo de K na dieta, pode levar a uma deficiência.

Os sintomas de deficiência de K incluem atraso no crescimento, inapetência, ataxia, atonia intestinal, queda na produtividade e diminuição do débito cardíaco. Os níveis de K no sangue e no leite diminuem, e os de Na aumentam, ocorrendo o contrário na urina. O hematócrito pode estar aumentado.

#### Toxicidade

A toxicidade com K pode ocorrer por alimentar animais em pastagens abundantemente fertilizadas com esterco. Está caracterizada por uma diminuição da função reprodutiva, particularmente se a dieta estiver também deficiente em Na. Outros sintomas da toxicidade com K incluem espasmos musculares, diminuição do aporte sanguíneo aos tecidos, edema das extremidades e morte.

## Enxofre

### Metabolismo

O S faz parte dos aminoácidos sulfurados, cisteína e metionina, e das vitaminas sulfuradas, biotina e tiamina, fazendo parte, portanto, de proteínas, enzimas, hormônios, coenzimas e pigmentos que fazem parte da respiração celular.

A metionina é uma fonte específica de grupos metilas utilizados na síntese de colina, acetilcolina, adrenalina e creatina.

A cisteína é precursora da coenzima A e participa da síntese do glutation, juntamente com o ácido glutâmico e a glicina. O glutation pode estar nas formas reduzida (GSH) e oxidada (GS-SG) e participa nas reações de defesa contra os agentes oxidantes nas membranas celulares.

O S é absorvido pelo intestino delgado. Os aminoácidos sulfurados são absorvidos diretamente sem decomposição, mediante transporte ativo. Os sulfatos inorgânicos são absorvidos tão somente no intestino delgado.

No rúmen, o S é essencial para os microrganismos responsáveis pela digestão da celulose, pelo aproveitamento das fontes de nitrogênio não-proteico e pela síntese das vitaminas do complexo B. Certas espécies de bactérias ruminais podem utilizar o S inorgânico para incorporá-lo diretamente aos aminoácidos sulfurados. Isso foi demonstrado em ruminantes, recebendo sulfatos via oral e observando a incorporação de S radiativo na cisteína, metionina e proteína microbiana.

A absorção e a assimilação dos aminoácidos sulfurados são determinados pelos níveis de proteína e energia no alimento

O requerimento normal de S pelo organismo animal é parcialmente suprido pelo S contido nos compostos sulfurados. O S em excesso é excretado pelas fezes e pela urina.

## Deficiência

A deficiência de S está definida pela necessidade de metionina, aminoácido limitante que pode estar em quantidades mínimas na dieta. A deficiência de metionina inibe o crescimento e o desenvolvimento de animais jovens e diminui a produtividade em animais adultos. Contudo, a adição de metionina em dietas deficientes deste aminoácido só é benéfica se a dieta contiver níveis adequados de energia.

## Toxicidade

É mais provável ocorrer intoxicação por S em animais suplementados com substâncias que contenham o mineral, tais como sulfato de amônia, para fornecer nitrogênio não-proteico, ou sulfato de cálcio, como fonte de cálcio. A causa da toxicidade é a formação de ácido sulfídrico ( $H_2S$ ) pela flora gastrointestinal, composto que deprime a motilidade ruminal e causa transtornos nervoso e respiratório. Em ovelhas, foi determinado um valor de 0,4 % como nível tolerável de S na dieta.

## Sódio

### Metabolismo

Juntamente com o potássio e o cloro, o sódio está envolvido na manutenção da pressão osmótica e dos sistemas tampão nos fluidos intra e extracelulares, no transporte de nutrientes e na transmissão de impulsos nervosos.

Propriedades particulares do Na incluem o seu efeito sobre a capacidade de expansão das proteínas coloidais, a manutenção, juntamente com o K da atividade normal do músculo cardíaco, e a participação no processo de excitação nervosa e muscular.

Os sais de Na nos alimentos e nos suplementos minerais são fácil e rapidamente solubilizados e absorvidos pelo trato gastrointestinal. O Na é absorvido por transporte ativo, através de um sistema de bomba Na-K-ATPase.

Cerca de 80 % do Na que entra no trato digestivo provém de secreções internas, tais como saliva, fluidos gástricos, bile e suco pancreático. O Na é excretado na urina como sal, por ação primária da aldosterona, sendo excretado em pequenas quantidades nas fezes e no suor.

Parte do Na absorvido é retido nos tecidos, que funcionam como depósitos no corpo. Nos animais em crescimento, o Na é incorporado, na forma de cristais, durante a formação dos ossos. Durante a lactopoiese, os íons de  $Na^+$  são extraídos diretamente do sangue, donde são transportados ativamente. O Na também passa através da placenta para o feto mediante difusão passiva.

A regulação da concentração de Na no organismo é controlada endocrinamente mediante mecanismos direcionados não somente para manter o nível de Na sanguíneo, como também para manter a relação Na:K no fluido extracelular. A aldosterona, hormônio secretado pelo córtex adrenal, estimula a reabsorção de Na nos túbulos renais, ao mesmo tempo que facilita a excreção de K. O hormônio vasopressina (antidiurético), secretado pela neuro-hipófise, é responsável pelo controle da pressão osmótica da corrente circulatória, mediante a estimulação da absorção de água nos túbulos renais.

## Deficiência

A deficiência de Na é a mais comum das deficiências minerais, principalmente nos animais em pastejo, devido aos vegetais em

geral conterem baixos teores do mineral. Os animais mais predispostos a sofrer de deficiência de Na são aqueles que estão na fase de crescimento e recebendo dietas baseadas em cereais ou forragens com baixo teor de Na. Também merecem suplementação animais em lactação, que executam trabalho e que transpiram em abundância ou em condições de altas temperaturas.

Os principais sintomas da deficiência de Na em ruminantes são alotrofia (consumo de material estranho), pelo áspero e seco, baixa produtividade, exaustão, atraso no crescimento em animais jovens, diminuição da produção de leite, perda de apetite e perda de peso. Sinais mais severos da deficiência incluem incoordenação motora, irritação, fraqueza e arritmia cardíaca, que pode levar o animal à morte. O tratamento consiste na suplementação com sal contendo 20 a 35 % de NaCl, na quantidade de 45 a 50 g/animal/dia.

#### Toxicidade

O maior fator que afeta a toxicidade por Na é a disponibilidade e a ingestão de água pelo animal. Na presença de bom fornecimento de água, os animais podem tolerar quantidades relativamente altas de sal na dieta. Os níveis máximos de sódio na dieta são de 1,6 % para bovinos lactantes e de 3,5 % para bovinos de corte e ovinos.

Os sintomas da intoxicação por Na incluem aumento exagerado do consumo de água, anorexia, perda de peso, edema, inquietação, paralisia e outros sintomas específicos para a espécie animal.

## Cloro

### Metabolismo

O cloro é o principal ânion do fluido extracelular. Assim como o Na, o cloro é também responsável pelo equilíbrio acidobásico e pela manutenção da pressão osmótica. A concentração de cloro é afetada indiretamente por mudanças na concentração de Na e, parcialmente, de K. O ADH intensifica a excreção de cloro e reduz a sua absorção pelos túbulos renais.

O cloro presente na alimentação animal, geralmente na forma de cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal, porém necessitando de um limiar mínimo para que isso ocorra. A maior concentração de cloro no organismo está nas células da mucosa gástrica. O cloro das secreções gástricas, como HCl, é obtido através do sangue e, normalmente, é reabsorvido durante a última fase da digestão no intestino grosso.

O cloro é excretado através da urina e, juntamente com o sódio e o potássio, através da transpiração.

### Deficiência

É muito mais frequente que ocorra uma deficiência de sódio do que de cloro. Os sintomas de deficiência de cloro estão intimamente ligados com os sintomas de deficiência de sódio. A suplementação com sal mineral ou sal comum se faz necessária para que não ocorra nenhuma das duas deficiências.

## Toxicidade

O cloro, assim como o sódio, costuma ser tóxico quando é ingerido em excessivas quantidades, e os animais não dispõem de água para beber ou a água é limitada. Níveis máximos de tolerância de NaCl e outros minerais podem variar conforme a espécie, adaptação, idade e condição física do animal.

A toxicidade do cloro é caracterizada pelo aumento no consumo de água, anorexia, perda de peso, edema, sinais nervosos, paralisia e uma infinidade de outros sinais que são dependentes da espécie animal envolvida.

## Magnésio

### Metabolismo

Aproximadamente 70 % do Mg do organismo está localizado nos ossos. Do restante, 29 % se localiza nos tecidos macios, e 1 %, nos fluidos corporais. Isso significa que, em um bovino adulto, existem apenas 2 g de Mg disponíveis de forma imediata.

Em geral, a disponibilidade de Mg nas pastagens é baixa, da ordem de 5 a 30 %, enquanto nos concentrados é maior (10-40 %). As necessidades de Mg de uma vaca de alta produção são da ordem de 26 g/dia.

O Mg, nos ruminantes, é absorvido no rúmen por mecanismo ativo de transporte, e a sua absorção é interferida por altos teores de potássio, nitrogênio e ácidos graxos orgânicos.

Como o metabolismo dos ossos não está muito envolvido na homeostase do Mg, o animal depende mais do Mg da dieta, e o organismo utiliza o rim para controlar os níveis sanguíneos. O excesso de Mg é excretado pela urina, de forma que os níveis urinários e os níveis sanguíneos de Mg são bons indicadores do equilíbrio ingestão/gasto no animal. O valor de referência de Mg plasmático está em torno de 1,8 a 3,0 mg/dL.

Embora não se conheça nenhum sistema endócrino específico que regule a homeostase do Mg, pesquisas recentes sugerem que os hormônios calciotrópicos possam ter alguma participação no metabolismo deste mineral. Assim, o PTH aumentaria o limiar renal de excreção de magnésio, impedindo a diminuição de seus níveis no sangue, e o 1,25-DHC diminuiria a concentração de Mg por aumentar a sua excreção.

O Mg é essencial como cofator enzimático em reações ligadas ao metabolismo de glicídeos, lipídeos e proteínas, especialmente as que participam na transferência de grupos fosfato e na hidrólise do ATP.

O Mg também participa na manutenção do potencial de membrana das células nervosas e da placa neuromuscular. A diminuição do Mg plasmático para valores abaixo de 1,2 mg/dL provoca tetania, a principal manifestação clínica da deficiência deste mineral. Isso acontece porque o mecanismo pelo qual o Ca retorna aos compartimentos de armazenagem na célula muscular após o impulso nervoso envolve um sistema Ca-Mg-ATPase. Faltando Mg, o sistema não funciona e mantém a excitabilidade e a contração muscular pela presença de Ca intracelular.

## Hipomagnesemia (Tetania dos pastos)

Este transtorno ocorre por deficiência de magnésio nas pastagens, uma vez que este mineral não se acumula nos tecidos animais e deve ser fornecido diariamente. Os níveis de magnésio excretados no leite são baixos e os lactentes podem sofrer o transtorno.

A hipomagnesemia é uma doença dos ruminantes com relativamente pouca incidência (< 2 %), porém, fatal na maioria dos casos. Não está necessariamente relacionada com o parto, embora as vacas lactantes sejam mais suscetíveis devido à demanda de Mg no leite. Na tetania hipomagnesêmica, os níveis sanguíneos de Mg podem cair do valor de referência de 2,5 mg/dL para menos de 0,5 mg/dL.

Como a regulação homeostática do Mg não é muito bem controlada, como é o caso do controle endócrino do Ca, frequentemente ocorre hipomagnesemia subclínica que pode complicar-se quando a dieta é deficitária e a demanda, alta, principalmente em vacas de alta produção.

No Cone Sul da América, a hipomagnesemia é observada com relativa frequência em rebanhos em pastejo, sendo relatada na Argentina e no Chile, especialmente no outono-inverno ou com alimentação básica de silagem rica em gramíneas com alto conteúdo de nitrogênio, sempre ligada à apresentação de temporais de vento e chuvas. São raros os relatos de deficiência de Mg em animais mantidos a pasto no Brasil, talvez pela dificuldade de diagnóstico, sendo provavelmente confundida com situações de morte súbita.

### Etiologia

Alguns procedimentos de manejo podem favorecer a apresentação desta patologia, tais como adubo excessivo das pastagens

com nitrogênio e potássio, que impedem a absorção de magnésio pela planta, elevado consumo de material verde e alta umidade ambiental, que causam efeito laxante com perdas de magnésio.

Algumas condições nutricionais, como elevado consumo de proteína, que leva a aumentar o nível de amônia no rúmen, podem gerar sais (fosfato amônico-magnésico) que reagem com ácidos graxos de cadeia longa e formam precipitados de sabões insolúveis.

Desequilíbrios minerais, especialmente de cálcio, podem precipitar o transtorno, uma vez que o transportador sanguíneo é o mesmo para os dois minerais, e um excesso de cálcio pode ocasionar um déficit de magnésio. Não é conhecido um sistema de controle endócrino do magnésio, como ocorre com cálcio e fósforo.

As vacas leiteiras possuem pequenas quantidades de magnésio disponível e dependem do contínuo aporte da dieta e da adequada absorção no intestino para as necessidades diárias, as quais são de, no mínimo, 30 g para manutenção e 1 g adicional para cada litro de leite produzido.

Os animais confinados e alimentados com concentrados dificilmente são afetados. Outros fatores predisponentes que podem causar surtos de tetania das pastagens são os seguintes: estresse por transporte, longas caminhadas, manejo excessivo, pastagens de baixa qualidade (níveis de Mg no pasto < 0,2 %) e mudança súbita na alimentação, por exemplo, de alimentação de inverno para pastagens suculentas da primavera, as quais têm menor disponibilidade de Mg e maior conteúdo de N e/ou K.

### Sinais clínicos

Existem duas formas da doença, clínica e subclínica. Na forma subclínica ocorre tre-

mor muscular permanente, incoordenação e nistagmo ocasional. Neste estado, fatores como estresse (vacinações, manejo, transporte, parto) podem levar à forma clínica, caracterizada por decúbito, paralisia espástica das extremidades, prolapso da terceira pálpebra, opistótono, reflexos exaltados, hipersensibilidade auditiva e visual, contrações e convulsões e, finalmente, a morte do animal. Na forma clínica, os níveis sanguíneos de magnésio são inferiores a 2,0 mg/dL.

A forma subclínica pode ocorrer por deficiente consumo de magnésio ou por pobre absorção de magnésio em pastagens com alto teor proteico (azevém, alfafa) ou em pastagens adubadas excessivamente com ureia, potássio e sódio, que bloqueiam a absorção de magnésio na planta.

Clinicamente é difícil detectar a doença, pois na maioria dos casos é tão rápida que apenas pode ser observado o animal já colapsado em tetania para morrer logo em seguida. A taxa de mortalidade é bastante alta. Às vezes podem ser observados animais afetados berrando sem razão ou saindo a correr subitamente de forma eufórica para cair logo em convulsões. Nos casos agudos também se apresenta hipertermia e batimentos cardíacos irregulares e tão fortes que podem ser ouvidos a certa distância, bem como hiperestesia e espasmos tetânicos.

A confirmação diagnóstica é obtida por valores muito baixos de Mg na urina ou no humor aquoso ou vítreo (< 0,5 mg/dL), hipomagnesemia (< 1,0 mg/dL) e, quase sempre, hipocalcemia.

#### Tratamento

O tratamento consiste em administrar solução de sulfato de magnésio 10 % via endovenosa para elevar os níveis séricos de magnésio e conseguir uma rápida recupera-

ção do animal. De forma oral, não funciona bem, pois pode haver dificuldade de absorção. O óxido de magnésio tem boa absorção intestinal, porém tem maior custo. Para evitar recorrência é importante manter a suplementação oral de Mg e, se necessário, repetir a dose. Na administração intravenosa é necessário muita precaução, uma vez que soluções saturadas de sulfato de magnésio têm sido usadas como eutanásico em animais, por causar fibrilação ventricular e colapso respiratório.

Preventivamente, deve melhorar-se a ingestão de Mg, o que às vezes se torna um problema prático. Tem sido usada magnesita calcinada (MgO) misturada no alimento, pulverizada na pastagem, mesclada com melaço ou até em forma líquida. Os sais de Mg mais solúveis, como sulfato de Mg, são muito caros como tratamento preventivo. A dose de proteção é de 60 g/dia quando as circunstâncias favorecem a apresentação de hipomagnesemia.

Outras medidas preventivas incluem: diminuir a fertilização com K, diminuir a movimentação e o estresse dos animais, fornecer feno ou forragem fibrosa para melhorar a digestão e evitar a inibição da absorção de Mg, selecionar indivíduos suscetíveis, suplementar com sais de Mg de forma estratégica diária e proteger os animais contra mudanças bruscas da temperatura, em especial contra o frio.

O prognóstico é geralmente desfavorável por causa da rapidez de apresentação dos sintomas. Junto ao tratamento com magnésio, deve providenciar-se uma terapia de suporte para a necrose muscular e a hipoglicemia.

## OLIGOELEMENTOS

### Ferro

#### Metabolismo

O ferro é componente importante de algumas metaloproteínas não enzimáticas, tais

como hemoglobina, mioglobina, ferredoxina e ferritina, e também de algumas enzimas, como citocromos, citocromo-oxidase, peroxidases, catalase e xantina oxidase.

As pastagens geralmente contêm quantidades adequadas de ferro (50-300 ppm) para as necessidades do animal (por volta de 30 ppm), sendo muito rara a deficiência desse mineral em animais. Entretanto, os níveis de ferro podem cair significativamente em pastagens velhas e no inverno. Além disso, a disponibilidade de ferro nas forrageiras varia muito (10-40 %) e a absorção intestinal do elemento é baixa, sendo menor nos adultos (5-15 %) do que nos jovens (15-20 %).

A principal fonte vegetal de ferro na natureza são as folhas de leguminosas. A farinha de sangue contém alta quantidade de ferro, porém de difícil utilização. As sementes de cereais e o leite são pobres neste elemento.

A homeostase do ferro ocorre primariamente por ajuste da absorção intestinal, de forma que a taxa de absorção está limitada às necessidades e afetada pela idade, a condição do trato gastrointestinal e a disponibilidade do ferro. Em casos de parasitismos e infecções intestinais aumentam as exigências de ferro. A disponibilidade deste mineral, que se absorve no intestino na forma reduzida ( $\text{Fe}^{2+}$ ), é maior como carbonato de ferro e sulfato ferroso e menor na forma de óxido férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Altas quantidades de oxalatos, fitatos, Cu, Co, Ca e Cd interferem negativamente na absorção de Fe.

O ferro absorvido é transportado pela ferritina até o fígado. O ferro se armazena em maior quantidade no fígado e nos rins, principalmente ligado às proteínas ferritina e hemossiderina. A ferritina contém 23 % de Fe, ao passo que a hemossiderina contém 37 % de Fe. Outros órgãos armazenadores são baço, músculo esquelético, coração, cérebro e medula óssea. O Fe ligado à ferritina está em forma

mais solúvel e disponível que o Fe ligado à hemossiderina. Quando os estoques de Fe estão baixos, aumenta a proporção do mineral armazenado como ferritina, e quando a quantidade de Fe aumenta, a proporção na hemossiderina também aumenta.

A principal proteína transportadora de Fe no sangue é a transferrina, a qual leva o Fe na forma oxidada ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Nos tecidos, o  $\text{Fe}^{3+}$  é reduzido a  $\text{Fe}^{2+}$  para formar parte das metaloproteínas (hemoglobina, ferritina).

O ferro está distribuído no organismo em três compartimentos: (a) 65 % fazendo parte das metaloproteínas; (b) 20 % nas proteínas transportadoras e armazenadoras de ferro (transferrina, ferritina e hemossiderina); (c) 15 % nos tecidos (Tabela 4).

#### Deficiência

Uma vez que a maioria do Fe do organismo está fazendo parte da hemoglobina nos eritrócitos, uma deficiência desse mineral leva inevitavelmente à anemia. Os animais lactentes, especialmente leitões, seriam os mais suscetíveis a uma eventual deficiência em função do pouco teor de ferro no leite das porcas. As reservas de ferro no fígado do neonato alcançam para 2 a 3 semanas. Em bezerras, a incidência pode ser alta, até 35 %, pois as necessidades diárias de ferro são de 50 mg, e uma dieta de leite só fornece 2 a 4 mg. Animais confinados alimentados com dietas inadequadas tornam-se especialmente suscetíveis a sofrer de deficiência de ferro.

A anemia ferropriva pode causar baixo crescimento e aumento da suscetibilidade a sofrer doenças infecciosas, como pneumonia e gastroenterite. A palidez das mucosas e a perda de apetite são sintomas típicos. No perfil sanguíneo, a anemia é compatível com valores de hemoglobina menores de 8 g/dL, e hematócrito menor de 26 %.

TABELA 4 - DISTRIBUIÇÃO DO FERRO NO ORGANISMO

<b>Compartimentos</b>	<b>% do Fe total</b>
Hemoglobina	67
Estoque: ferritina (fígado, medula óssea), hemossiderina (baço, fígado, sistema R-E)	27
Mioglobina	3,5
Pool em fluidos intersticiais	2,2
Tecidos (citocromos, enzimas)	0,2
Plasma: transferrina	0,08

É necessário suplementar os animais afetados com ferro na alimentação (30 ppm na matéria seca). Os leitões e outros animais lactentes devem ser medicados com injeção de ferro intramuscular, geralmente como ferrodextrano.

No gado, outras causas de anemia, diferentes da falta de ferro, devem ser consideradas no diagnóstico diferencial, tais como hemoglobinúria do pós-parto, infestações parasitárias e intoxicação com plantas crucíferas (repolho, couve).

#### Toxicidade

Acredita-se que a o ferro (Fe) seja um mineral mais preocupante em termos de excesso do que deficiência, pois, em geral, no Brasil sua presença nas plantas forrageiras é alta, suprimindo as necessidades dos animais. O excesso de Fe pode causar deficiência condicionada de outros elementos essenciais (Cu e Zn) pelo efeito antagônico no processo de absorção no duodeno. Seu principal efeito deletério seria a formação de complexo insolúvel com o fósforo no rúmen e a formação da hemosiderina no fígado e baço em dietas deficientes de Cu.

## Zinco

### Metabolismo

O zinco participa como cofator ou ativador de várias enzimas, principalmente DNA e RNA polimerases, sendo, portanto, participante de processos de proliferação celular e síntese de proteínas. Também atua como cofator de anidrase carbônica, fosfatase alcalina, álcool desidrogenase, catalase, timidina quinase e carboxipeptidase pancreática, entre outras.

A participação do Zn na atividade da álcool desidrogenase na retina tem a ver com a normal função da vitamina A, pois catalisa a conversão de retinal em retinol, afetando a função visual.

O Zn, sendo constituinte da anidrase carbônica, atua no equilíbrio acidobásico e na calcificação dos ossos e, nas aves, na formação da casca do ovo.

O Zn participa na produção, armazenagem e secreção de alguns hormônios, tais como insulina, testosterona e cortisol, além de ativar os seus sítios receptores nas células-alvo. Outra função do Zn está relacionada com a integridade do sistema imunológico,



principalmente pela sua participação na proliferação de linfócitos.

A absorção de Zn ocorre no rúmen e, em animais monogástricos, no duodeno. A quantidade absorvida é menor nos monogástricos (7-15 %) do que nos ruminantes (20-40 %), podendo ser afetada pela interação exercida por outros elementos, como Ca, Cu e Fe. A absorção de Zn é favorecida pelo Mg, fosfatos e vitamina D. O excesso de ácido fítico, presente principalmente nas forrageiras, nos cereais e nas sementes de oleaginosas (soja, algodão), diminui a absorção do mineral, devido à formação de um complexo insolúvel de fitato de Zn, podendo causar deficiência.

As dietas à base de concentrados geralmente contêm suficiente Zn para garantir os valores nutricionais ótimos, ou seja, 40 ppm nos bezerros e 90 ppm em vacas em produção. Alimentos especialmente ricos em Zn são cereais, farinha de ossos e melaço. Entretanto, as pastagens brasileiras são geralmente deficitárias no mineral, sendo recomendada a sua suplementação em animais em pastejo. É interessante que nunca ocorre deficiência de Zn quando se usam tubulações e tanques galvanizados para a distribuição de água.

Órgãos especialmente abundantes em Zn são a pele, as gônadas e o pâncreas endócrino. O zinco se encontra no plasma em forma livre ou unido a proteínas (albumina e  $\alpha$ 2-macroglobulina). O nível sanguíneo normal está entre 80 a 120  $\mu$ g/dL, tendo como limiar indicador de deficiência 70  $\mu$ g/dL. Um indicador alternativo para avaliar o nível de zinco é a metalotioneína, proteína sintetizada pelo fígado que se une avidamente a Zn através de seus numerosos resíduos de cisteína. A metalotioneína parece servir não

só como armazenadora de Zn, mas como detoxificante por unir cádmio, mercúrio e outros metais pesados.

O zinco parece ter um controle homeostático bastante eficiente, mediante diferenças na taxa de absorção no intestino, a qual pode aumentar a 100 % em situações de deficiência. A capacidade de armazenagem de Zn no fígado e nos ossos é limitada e contribui pouco para a homeostase. A excreção do Zn é feita principalmente pelas fezes (secreção pancreática, biliar e gastrointestinal), com pequenas quantidades sendo eliminadas pela urina e pelo leite.

#### Deficiência

A deficiência de zinco está relacionada com a apresentação de vários eventos:

- (a) baixo crescimento, por sua participação na proliferação celular e síntese de proteínas;
- (b) cicatrização retardada;
- (c) infertilidade, tanto em machos por falha na espermatogênese, quanto em fêmeas, por falhas na ovulação e na sobrevivência embrionária;
- (d) diminuição da competência imunológica por falha na resposta das células T (produção de imunoglobulinas);
- (e) paraqueratose, com engrossamento e rachaduras da pele, especialmente nos joelhos e na úbere, considerado como sinal característico da deficiência de Zn, particularmente em suínos;
- (f) alopecia, despigmentação do pelo e perda de lã;
- (g) falha de crescimento de cascos e chifres, com lesões, deformações, laminite e claudicações;

(h) diminuição da síntese de proteínas plasmáticas causando hipoalbuminemia e hipoglobulinemia;

(i) inflamação das articulações;

(j) aumento da mortalidade pós-natal, principalmente em leitões;

(k) em aves, diminuição da eclodibilidade dos ovos e da sobrevivência de pintos e presença de deformidades nos embriões;

(l) queda da produção de leite.

Tem sido mencionado que a fotossensibilização, causada em bovinos por toxinas ligadas ao fungo *Pithomyces chartarum* (esporodesmina), presente em espécies do pasto Braquiaria, responde ao tratamento com Zn, sem que se tenha esclarecimento sobre este efeito.

A suplementação de Zn pode ser feita em forma química, como carbonato, sulfato, cloreto ou óxido de Zn.

#### Toxicidade

Na maioria das espécies, a toxicidade por Zn aparece quando a dieta contém níveis acima de 1.000 ppm. As espécies mais tolerantes são suínos, aves, bovinos e ovinos. O conteúdo de Ca, Cu, Cd, Se, Mn e Fe no alimento influi no efeito tóxico do Zn por interferir na sua absorção intestinal.

Causas de intoxicação por Zn incluem mastigação de barras galvanizadas, ingestão de fungicidas ou uso excessivo de suplementos de Zn. O excesso de Zn pode deslocar o cobre do fígado, causando deficiência deste mineral, mas também pode evitar o efeito tóxico do cobre em intoxicações, principalmente em ovinos.

Em cães e gatos, a toxicidade tem sido observada pela ingestão de moedas, observando-se vômito, anorexia, anemia e alterações pancreáticas.

## Cobre

### Metabolismo

O cobre é importante componente de algumas metaloproteínas, muitas das quais são enzimas vitais, como citocromo-oxidase, monoamino-oxidase (MAO), galactose-oxidase, tirosinase, uricase, catalase e DOPA-oxidase, quase todas participando, portanto, de reações de oxidorredução.

O cobre também participa na hematopoiese por favorecer a absorção intestinal de ferro, bem como a sua mobilização. A pigmentação de pelos e de lã depende do cobre, devido a ser fator na ação enzimática da polifenol-oxidase, que catalisa a formação de melanina a partir de tirosina.

O cobre participa, ainda, da mineralização dos ossos, da formação e integridade do sistema nervoso central e da manutenção da estrutura do miocárdio.

Na maioria das espécies, a taxa de absorção de cobre pelo intestino é baixa, sendo de 5-10 % em adultos e de 15-30 % em jovens. Como no caso do Zn, a taxa de absorção está influenciada pela necessidade do organismo, pela forma química do elemento e pela quantidade de outros minerais, que podem exercer efeito antagônico. Nesse sentido, o Mo é um importante fator no caso do Cu. Níveis a partir de 10 ppm de Mo no alimento causam interferência na absorção intestinal de cobre. A relação Cu/Mo ideal para evitar interferências é de 4. O enxofre inorgânico, o exc-

so de aminoácidos sulfurados, bem como o excesso de cálcio e de proteína total também limitam a absorção do cobre.

O lugar de maior concentração de cobre no organismo está no fígado, diminuindo com a idade. Os ovinos constituem uma exceção, pois a concentração de cobre hepático aumenta com a idade.

O cobre é transportado do fígado para os órgãos periféricos pela ceruloplasmina, uma  $\alpha$ -globulina plasmática que contém uma porção oligossacarídica à qual se une o Cu nas suas duas formas de oxidação ( $\text{Cu}^+$  e  $\text{Cu}^{2+}$ ). A ceruloplasmina atua como armazenadora e transportadora para manter a homeostase do cobre. A concentração média normal de cobre no sangue é de 80-120  $\mu\text{g}/\text{dL}$ . Um nível de cobre no sangue menor de 50  $\mu\text{g}/\text{dL}$  é indicador de deficiência. A determinação de ceruloplasmina plasmática ou da enzima superóxido dismutase dos eritrócitos, que possuem uma alta correlação com os níveis de cobre sanguíneos, são também usados para detectar estados carenciais.

O cobre é excretado principalmente nas fezes, a partir da fração não absorvida e secundariamente por via biliar. A excreção pela urina é muito pequena.

#### Deficiência

O cobre é necessário para a síntese de hemoglobina, juntamente com o ferro, além de participar na absorção intestinal e mobilização deste mineral. A deficiência de Cu causa anemia de tipo hipocrômico. Em muitos casos, a doença é insidiosa, ou seja, clinicamente silente, causando perdas na produção e infertilidade.

Como o cobre tem uma importante função no sistema citocromo-oxidase, sua deficiência causa transtornos no metaboli-

smo oxidativo, o que pode manifestar-se de múltiplas formas, entre outras por perda de condição corporal, crescimento retardado, queda da produção e má absorção intestinal que leva à diarreia, constituindo este um sintoma típico de deficiência.

A função do Cu na osteogênese faz com que, diante de uma deficiência, ocorra depressão do metabolismo dos osteoblastos com crescimento defeituoso dos ossos, claudicações e osteoporose.

O papel do Cu na síntese de melanina e de tecido conjuntivo leva, na carência do mineral, a transtornos na pele, como aspereza, além de alopecia, perda de pigmentação do pelo (acromotriquia) e perda da ondulação na lã.

Casos graves de deficiência de cobre em bovinos podem levar à degeneração do miocárdio, por falha na oxidação do tecido cardíaco, causando degeneração fibrosa progressiva e podendo levar à morte súbita.

Em carneiros jovens, a deficiência de cobre causa falha na mielinização dos neurônios, devido à diminuição na síntese de esfingolipídeos, provocando incoordenação e problemas para caminhar (ataxia). Em potros neonatos de mães com deficiência de cobre, tem sido observada osteodisgênese, uma doença relacionada com má formação dos ossos que causa claudicação e inflamação das articulações dos membros.

A deficiência de cobre tem sido detectada em muitos países. No Brasil, foi detectada deficiência de cobre unida à deficiência de cobalto em vacas e ovelhas da região nordeste, problema conhecido como Mal do Roncado, caracterizado por baixo crescimento dos animais.

Em geral, pastos com menos de 3 ppm de cobre podem desencadear deficiências, o que pode ser agravado se tiver excesso de

Mo, S, Fe, Ca ou proteínas. Dietas baseadas em concentrados geralmente têm suficiente teor de cobre para evitar deficiências. Entretanto, as pastagens em quase todo o Brasil são deficitárias em cobre. Depois do fósforo e do sódio, a deficiência de cobre é a mais severa limitação em animais em pastejo.

Quando existem riscos de deficiência de cobre, é útil suplementar preventivamente para garantir 10 ppm na matéria seca do alimento, na forma de sulfato de cobre, tomando cuidado para evitar overdosificação, às vezes fatal, especialmente em ovelhas, que são animais mais sensíveis ao excesso de Cu. Em casos de deficiência com sintomas clínicos manifestos, o melhor é medicar o cobre via parenteral.

#### Toxicidade

A intoxicação com cobre pode ocorrer não somente pela administração exagerada para prevenir deficiências, mas por outras causas, tais como consumo de plantas reteroras de cobre (*Heliotropum europeum*, *Senecio spp.*, *Echium plantagineum*), drogas antifúngicas, drogas antiparasitárias, substâncias usadas para erradicação de caracóis e por poluição industrial.

As ovelhas são a espécie mais suscetível de sofrer intoxicação com cobre, ocorrendo inclusive em animais em pastejo com altos índices de cobre e baixos de molibdênio no solo.

O consumo excessivo de cobre leva a acúmulo nos tecidos, principalmente no fígado. O excesso de cobre compromete os mecanismos antioxidantes das células. Os animais não apresentam sinais clínicos e permanecem saudáveis enquanto o cobre se acumula no fígado. Em situações de estresse, e quando o fígado esgota a sua capacidade de armazenamento, o cobre é liberado rapidamente para o sangue, causando uma

crise hemolítica, caracterizada por hemoglobinúria, icterícia, hemorragias generalizadas, anorexia, sede, depressão, fezes líquidas, fétidas e escuras, queda da temperatura corporal, aumento da frequência cardíaca, colapso e morte em 24 horas. Antes da crise hemolítica, a atividade da enzima AST no plasma pode estar em níveis muito elevados (acima de 500 U/L). A necropsia revela sempre severa necrose hepática.

Para prevenir a crise hemolítica, recomenda-se administrar 50-100 mg de molibdato de amônio e 1 g de sulfato de sódio por via oral, diariamente, durante 10 dias. O tetramolibdato de amônio administrado via subcutânea ou intravenosa, em três doses, em dias alternados, ajuda a reduzir os níveis de cobre hepático, reduzindo, também, a mortalidade quando o tratamento é realizado durante a crise hemolítica.

#### Iodo

##### Metabolismo

O metabolismo do iodo está estreitamente relacionado com a tireoide, pois é o único órgão que pode acumular iodo em altas quantidades e incorporá-lo nos hormônios tireoidianos (HT). De fato, a única função fisiológica do iodo é como componente dos HT.

Embora o iodo na circulação seja captado quase exclusivamente pela tireoide, outros tecidos podem também concentrar iodo, como a glândula mamária, a placenta, as glândulas salivares e o estômago.

A relação entre iodo e bócio no homem e nos animais foi observada desde o século passado, quando foi constatado que o iodo prevenia e curava o problema, e que a incidência de bócio endêmico estava inversamente relacionada com os níveis de iodo no

solo e na água, embora naquele momento não fossem conhecidas a estrutura e nem a função dos hormônios tireoidianos.

As plantas marinhas são boas fontes de iodo, mas as plantas terrestres não o contêm, existindo amplas regiões do planeta que são deficientes em iodo e que constituem áreas de risco de bócio. Atualmente, com a iodação do sal, é menos frequente encontrar bócio nos animais ou no homem.

O iodo deve ser incorporado no sal em proporção de 10 a 100 ppm de sal. Contudo, as principais fontes do elemento, iodetos de K, Na e Ca, podem ser lixiviados e evaporados na mistura de sal em condições de temperatura e umidade elevadas. Dessa forma, não seria raro observar deficiências de iodo por diminuição da concentração deste elemento no sal.

Em geral, a quantidade diária recomendada de iodo na dieta é de 35 µg/kg de peso corporal para adultos, e de 70 µg/kg de peso para neonatos. O leite não é fonte adequada de iodo, contribuindo com apenas 5 % dos requerimentos.

A absorção intestinal de iodo é eficiente em quaisquer das formas do mineral. O iodo pode estar nas formas de iodeto inorgânico ( $I^-$ ), que é a forma mais comum, ou de iodato ( $IO_4^-$ ), ou bem unido a formas orgânicas. Na vaca, 80 % do iodo ingerido é absorvido no rúmen, e 10 %, no omaso.

Aproximadamente 25 a 30 % do iodo ingerido na dieta são captados pela tireoide, onde ingressam mediante um mecanismo de bomba de iodo. O processo de captação de iodo nas células foliculares da tireoide é catalisado por uma enzima que requer  $O_2$ , processo no qual participa uma Na-K-ATPase dependente de ATP. A captação do iodo na tireoide mediante a bomba de iodo é estimulada pela TSH e inibida por

determinados íons que concorrem com o iodo, como o tiocianeto ( $SCN^-$ ), o perclorato ( $ClO_4^-$ ) e o nitrato ( $NO_3^-$ ). Essa inibição pode ser revertida com altas dosagens de iodo. Todavia, sob condições normais, o excesso de iodo pode também inibir a própria captação de iodo pela tireoide.

As células foliculares têm uma alta capacidade de hipertrofia compensatória quando há deficiência de iodo, podendo nesses casos desenvolver bócio. A eficiência da captação do iodo por parte da tireoide é a fundamentação da prova de fixação de iodo radiativo ( $^{131}I$ ) usada para avaliar a função tireoidiana. Em aproximadamente 48 horas, cerca de 40 % do iodo administrado endovenosamente deve estar fixado na tireoide do animal normal.

A tireoide deve oxidar o iodeto, etapa obrigada para a organificação do iodo, isto é, para a sua incorporação em formas orgânicas nos hormônios tireoidianos. Os níveis de iodo orgânico na tireoide são muito variáveis, podendo ser de 10 a 40 mg/100 g de tecido. O iodo orgânico está na forma de monoiodotirosina (MIT), di-iodotirosina (DIT), tri-iodotironina ( $T_3$ ) e tiroxina ( $T_4$ ).

A oxidação do íon iodeto é realizada pela enzima peroxidase, que contém um grupo heme e requer  $H_2O_2$  como agente oxidante. O  $H_2O_2$  é produzido por uma enzima NADPH-dependente. O processo de oxidação do iodeto é estimulado pela TSH e inibido por compostos tireotóxicos, como a tioureia e o tiouracilo. O produto da oxidação é um radical livre ( $I^{\cdot}$ ), que se une quase instantaneamente aos resíduos fenila das tirosinas da tireoglobulina nas posições 3 e 5, para formar MIT ou DIT. As iodações não causam a separação dos resíduos de Tyr de suas uniões à proteína.

A relação de iodo em tireoide/plasma é de 20, podendo ir até 500 por estímulo da

TSH, ou cair para 1 por ação dos inibidores tireoidianos, que concorrem com o iodo pelos mecanismos de transporte.

No sangue, o iodo circula livre ou unido a proteínas. Sob níveis normais de ingestão de iodo, a concentração de iodeto inorgânico no plasma do cão é de 5 a 10 µg/dL. O excesso de iodo é excretado principalmente pela urina ou pelo leite. Pequenas quantidades podem ser excretadas via saliva, lágrimas e suor. Nos ruminantes, as fezes servem de significativa via de excreção de iodo.

Para avaliar o status de iodo no organismo podem ser medidos seus níveis no sangue, por método potenciométrico, na urina e/ou no leite. Considera-se que, na vaca, níveis de iodo no leite abaixo de 8 µg/dL são indicadores de deficiência. No plasma do suíno, o limiar indicador de deficiência é de 2 µg/dL. A forma mais prática para avaliar o equilíbrio de iodo é mediante a dosagem dos hormônios tireoidianos no plasma.

## Deficiência

A deficiência de iodo causa diminuição da atividade tireoidiana e, em casos avançados, o bócio. Os sintomas da falta de iodo são compatíveis com o hipotireoidismo primário.

Clinicamente os sinais do hipotireoidismo revelam diminuição da taxa metabólica. O animal aumenta de peso, observa-se inativo, incoordenado, letárgico e com problemas para suportar o frio, de forma que procura lugares quentes. Também pode ser observada perda de pelo e, em alguns casos, alopecia simétrica bilateral, hiperqueratose e hiperpigmentação, especialmente nas áreas de alopecia, diminuição da frequência cardíaca, anemia e, no hipotireoidismo crônico, mixedema (acumulação de mucina na epiderme). A mucina provoca acumulação de água e engrossamento da pele, especialmente

evidente no rosto e na cabeça. Também é observada diminuição da libido e diminuição da concentração espermática nos machos.

Nas fêmeas, podem ocorrer transtornos nos ciclos estrais, tais como anestro e aciclia, com diminuição da taxa de concepção. Em alguns casos se observa constipação com produção de fezes duras e secas. Os níveis plasmáticos dos HT caem, no caso da  $T_4$ , para menos de 8 ng/mL e, na  $T_3$ , abaixo de 0,5 ng/mL.

## Bócio

O bócio é a hiperplasia com dilatação não-neoplásica e não-inflamatória da tireoide. Pode ser observado em todos os mamíferos e aves, sendo causado por: (a) deficiência de iodo, (b) ingestão de substâncias bociogênicas, (c) excesso de iodo na dieta, ou (d) falhas genéticas de enzimas da via biossintética dos HT. Todas essas causas diminuem a secreção dos HT, o que leva a uma elevada secreção compensatória de TSH, provocando hiperplasia e hipertrofia das células foliculares da tireoide.

A principal causa de bócio é a deficiência de iodo, mas as substâncias bociogênicas contidas em alguns alimentos são também causas importantes. As substâncias bociogênicas são aquelas que alteram a síntese, liberação ou ação dos hormônios tireoidianos. Os tiocianetos são produzidos no rúmen pela digestão de plantas com glicosídeos cianogênicos (trevo branco, gergelim, soja). As plantas crucíferas do gênero *Brassica* (repolho, couve, brócolis) contêm goitrina (5-viniloxazolidina-2-tiona), substância bociogênica derivada dos glicosinolatos dessas plantas, a qual inibe a organificação do iodo, ou seja, a ligação do iodo nos resíduos de Tyr da tireoglobulina. Outras plantas, como a leguminosa *Leucaena leucocephala*, contêm mimosina, aminoácido tóxico para a tireoide. O excesso de iodo na

alimentação pode ocorrer por consumo de algas secas, podendo causar bócio, pois interfere na biossíntese dos HT ao inibir a proteólise da tireoglobulina nos lisossomos. O excesso de iodo também inibe a peroxidação do iodo ( $I^-$ ) e a conversão de MIT em DIT.

## Manganês

### Metabolismo

O manganês atua como cofator enzimático nas vias relacionadas com síntese de ATP, tanto no ciclo de Krebs, como na fosforilação oxidativa e na reações da fosfatase alcalina e a piruvato oxidase. Além disso, é ativador de enzimas, como arginase, tiaminase, enolase e dipeptidases intestinais. O Mg, cátion bivalente, pode substituir parcialmente o Mn com pouco ou nenhum prejuízo da atividade enzimática.

O Mn é essencial no desenvolvimento da matriz orgânica dos ossos, composta basicamente por mucopolissacarídeos. Quando ocorre deficiência de Mn, o sulfato de condroitina, da cartilagem epifisiária, diminui acentuadamente, possivelmente por falha na ativação das enzimas glicosiltransferases, participantes da síntese de polissacarídeos e glicoproteínas.

O Mn também parece estar relacionado com o desenvolvimento dos órgãos genitais e com o funcionamento do corpo lúteo. Também o Mn participa da síntese de colina e de colesterol.

O Mn é único no sentido de que se absorve muito pouco, não mais de 1 % no intestino, e tem níveis sanguíneos muito baixos (1  $\mu\text{g/L}$ ). A absorção ainda pode ser diminuída por níveis elevados de cálcio

e fósforo. Seu transporte no sangue é feito principalmente pela transferrina, e sua distribuição é maior em ossos, fígado, rins e pâncreas. As reservas corporais são baixas e, diante de um excesso de Mn na dieta, diminui a eficiência de absorção e aumenta a excreção, principalmente nas fezes (98 %).

### Deficiência

O nível de Mn considerado apropriado nos alimentos é de 50 ppm. Pode ocorrer deficiência em solos pobres em Mn (< 3ppm), situação que se agrava em solos alcalinos e com altos teores de Ca, P e Fe.

A deficiência de Mn é difícil de detectar, mas pode causar redução do crescimento e problemas de infertilidade, basicamente falha na concepção, ovários subdesenvolvidos, transtornos do estro e diminuição da sobrevivência embrionária. Nos bezerros neonatos, a deficiência de Mn é manifestada por inflamação e deformações nas articulações, baixo peso corporal e aumento da mortalidade.

As aves são consideradas mais suscetíveis à deficiência de Mn do que os mamíferos por terem maior requerimento deste mineral. Em pintos, a deficiência de Mn provoca uma condição denominada perose, caracterizada por má formação da articulação tibimetatarsiana com encurtamento do tendão de Aquiles, fazendo com que a porção final da tíbia e a porção proximal do tarsometatarso escapem da articulação dos côndilos e levem à torção do membro posterior.

Em aves poedeiras, a deficiência de Mn manifesta-se por queda na produção e na eclodibilidade e diminuição da qualidade da casca.

Os sais de Mn são de baixo custo e podem ser suplementados na forma de cloreto, sulfeto, carboneto e como dióxido de Mn.

#### Toxicidade

Os níveis máximos de Mn toleráveis nos animais estão entre 400 a 2.000 ppm, sendo mais tolerantes os frangos, e mais sensíveis os suínos e os coelhos. Com mais de 2.000 ppm observam-se depressão do apetite, crescimento retardado, anemia, lesões gastrointestinais e sinais neurológicos.

### Cobalto

#### Metabolismo

O valor do cobalto nos animais é como componente da estrutura da vitamina B<sub>12</sub> (cianocobalamina), da qual constitui 4 %. Essa vitamina é precursora da coenzima B<sub>12</sub>, importante cofator enzimático que participa de reações do metabolismo do ácido propiônico. Em ruminantes, esta rota metabólica é de grande valor, pois é a fonte mais importante de glicose via gliconeogênese. A coenzima B<sub>12</sub> participa na conversão de metilmalonil-CoA em succinil-CoA, reação catalisada pela enzima metilmalonil-CoA isomerase.

A vitamina B<sub>12</sub> também participa da formação dos eritrócitos, tomando parte na síntese da protoporfirina.

Nos ruminantes, a fonte de vitamina B<sub>12</sub> são os microorganismos do rúmen, sempre que houver suficiente cobalto disponível. A vitamina se absorve facilmente nas paredes do rúmen.

#### Deficiência

Existe deficiência de cobalto em muitas partes do planeta. Um método indireto para detectar estados deficitários é mediante a determinação de vitamina B<sub>12</sub> no sangue (imunoensaio) ou de ácido metilmalônico na urina, pois este metabólito se acumula, excretando-se pelo rim quando falta vitamina B<sub>12</sub>.

A pastagem torna-se deficitária com concentrações de Co inferiores a 0,08 ppm, ou quando o solo tem menos de 0,25 ppm. No Brasil, principalmente na região Centro-Oeste, as forrageiras costumam ser deficientes em cobalto. A situação se complica em solos alcalinos porque o pH elevado interfere na absorção de Co pela planta. O excesso de manganês no solo também atua como inibidor da disponibilidade de cobalto pelas plantas. Os níveis sanguíneos normais de Co são da ordem de 300-400 µg/mL. Níveis menores de 250 µg/mL indicam deficiência.

A sintomatologia de deficiência de cobalto em ruminantes reúne uma série de sinais que têm sido integrados na definição de “marasmo enzoótico”. No Brasil tem recebido nomes, como peste de secar, mal-do-coleite, chorona, toca e pela-rabo.

Nos monogástricos, não é mostrada com clareza uma deficiência de cobalto, uma vez que nesses animais a carência mais comum é de vitamina B<sub>12</sub>, a qual precisa ser absorvida no estômago com a participação de uma proteína transportadora conhecida como fator intrínseco.

Os animais com deficiência de Co/vitamina B<sub>12</sub> sofrem anemia, hipoglicemia, queda da produção, perda de apetite, pele e pelagem ásperas, emaciação, letargia, infer-



tilidade e cetose. Bezerros nascidos de vacas deficientes em cobalto nascem fracos e morrem em poucos dias.

O tratamento, nos ruminantes, consiste na suplementação adequada de cobalto necessariamente por via oral, de forma a garantir um nível de 0,07 ppm na matéria seca. A administração parenteral de cobalto é ineficaz no tratamento da deficiência. Nos monogástricos e em alguns casos de ruminantes, pode ser necessária a injeção intramuscular de vitamina B<sub>12</sub>.

## Selênio

### Metabolismo

Os limites entre níveis essenciais e tóxicos do selênio são bastante estreitos, mas a essencialidade deste elemento foi reconhecida desde 1957 como fator preventivo da degeneração do fígado em ratos, a diátese exudativa dos pintos e a distrofia muscular dos bezerros e cordeiros.

Junto com a vitamina E, o Se tem função protetora antioxidante das membranas plasmáticas contra a ação tóxica dos peróxidos lipídicos (peroxidação dos ácidos graxos insaturados ligados a fosfolípídeos de membrana). O Se participa como componente da enzima glutathion peroxidase (GSH-Px), presente em grande quantidade nos eritrócitos. O conteúdo de Se no organismo está positivamente relacionado com a atividade da GSH-Px no sangue. Níveis sanguíneos menores de 200 mU/L da enzima indicam deficiência de Se.

O Se também participa como cofator nas enzimas desidrogenase fórmica, glicina redutase e deiodase (que converte o hormônio T<sub>4</sub> em T<sub>3</sub> nas células).

A vitamina E limita a peroxidação dos ácidos graxos insaturados. O Se apresenta

interação com esta vitamina em relação a seu efeito com os aminoácidos sulfurados, via cistina-glutation, embora o mecanismo bioquímico não esteja esclarecido. Em alguns casos, a vitamina E reduz a necessidade de Se, e vice-versa.

A absorção de Se, nos ruminantes, é menor do que nos monogástricos, devido à redução das formas biologicamente ativas no rúmen. A excreção de Se é principalmente via fecal, seguida das vias urinária, biliar, salivar e pulmonar. No leite, também aparece Se.

### Deficiência

Muitos solos, especialmente os derivados de rochas ígneas (vulcânicas) e os solos ácidos, são deficientes em Se. A concentração de Se nas plantas abaixo de 0,1 ppm é considerada crítica para que ocorram casos clínicos de deficiência, causando a chamada distrofia muscular enzoótica ou doença do músculo branco.

A deficiência de Se/vitamina E causa acúmulo de peróxidos nas membranas celulares causando necrose, com posterior fibrose e calcificação, principalmente nos músculos esquelético e cardíaco. O consumo de ácidos graxos insaturados (de óleos vegetais) e a deficiência de vitamina E podem precipitar o problema. Também, a armazenagem de cereais úmidos ou tratados com ácido propiônico em silos causa destruição da vitamina E, produzindo silagem deficiente.

Os animais mais afetados são as aves, as ovelhas e os ruminantes jovens em rápido crescimento. Os sinais clínicos da deficiência de selênio em ruminantes são: falta de vitalidade, crescimento retardado (na forma subclínica) e morte súbita, por causa da necrose do miocárdio. De forma menos aguda, pode ocorrer queda da produção, diminuição do crescimento e diarreia, degeneração mus-

cular com claudicação e decúbito. Também pode ser notado edema, principalmente no mesentério, pulmão e tecido subcutâneo.

O aumento na incidência de retenção placentária tem sido mencionado em vacas como efeito da deficiência de Se, devido à suplementação com Se/vitamina E, que tem diminuído tal incidência. Existem evidências que mostram que o Se e a vitamina E melhoram a imunocompetência, o que pode ser demonstrado pelo aumento de produção de imunoglobulinas.

Em vacas, a deficiência de selênio/vitamina E predispõe a sofrer de síndrome de fígado gorduroso, talvez devido ao dano sobre as membranas dos hepatócitos causado pelos peróxidos.

Na deficiência de selênio, além de uma diminuição da atividade da enzima glutathione peroxidase (GSH-Px), o perfil sanguíneo mostra aumento da atividade das enzimas indicadoras de dano muscular, principalmente creatina quinase (CK) e aspartato aminotransferase (AST).

O nível adequado de Se no alimento está por volta de 0,1 ppm. A concentração de Se no sangue varia em função da espécie: em cavalos, é de 26 µg/mL; em gado de corte, pode estar entre 19 a 48 µg/mL; em ovelhas, o nível mínimo deve estar em 0,1 µg/mL, sendo que níveis abaixo de 0,05 µg/mL no sangue são compatíveis com sintomas de deficiência.

O tratamento pode incluir a suplementação de Se no alimento (0,1 ppm), na forma de sais inorgânicos (selenito e selenato de sódio) ou de formas orgânicas (selenometionina, selenocisteína, Se-levedura). Também pode ser administrado em injeção intramuscular (0,1 mg de Se/kg de peso e 70 UI de vitamina E), sempre tendo cuidado para não provocar uma intoxicação, pois uma dose de 1 mg/kg de peso (10 vezes a dosagem indicada) pode ser mortal.

## Toxicidade

Em regiões seleníferas, ocorre intoxicação por Se, conhecida como “doença alcalina” ou seleniose. A doença se caracteriza por perda dos cascos e do pelo, cegueira, marcha cambaleante e morte. O consumo alto de proteína pode diminuir os efeitos tóxicos de uma seleniose graças à formação de complexos Se-sulfitos, que favorecem a excreção de Se. O arsênico também favorece a excreção do Se via bile.

No Brasil, sabe-se que existem tanto regiões pobres em Se, como seleníferas; porém, falta adequada demarcação. Entretanto, a pesquisa disponível mostra que a maior parte do território é pobre neste mineral.

## Molibdênio

### Metabolismo

O molibdênio (Mo) encontra-se em pequenas quantidades nos tecidos animais: 1-4 ppm no fígado e 0,1 ppm no músculo. Sua ação bioquímica está ligada à ação de algumas enzimas, como xantino-oxidase, aldeído-oxidase, sulfito-oxidase e nitrato-redutase. O teor de Mn no sangue está na faixa de 1 µg/dL.

O Mo interfere na utilização do cobre. Cu e Mo oferecem mutuamente proteção contra intoxicações desses elementos. O mecanismo está relacionado com a ação inibidora do Mo sobre a síntese de ceruloplasmina no fígado, tornando o cobre não disponível, além de que altos teores de Mo e também de sulfatos reduzem a solubilidade e, portanto, a absorção de cobre no intestino. Por outro lado, aumentos de cobre na dieta reduzem a deposição de Mo no fígado, e aumentos de sulfato incrementam a excreção de Mo na urina, diminuindo, portanto, a sua deposição tecidual.

A absorção média de Mo no intestino é de 20 %, e as reservas nos tecidos são pequenas, sendo maiores nos ossos e no fígado. A principal via de excreção do Mo é a urina e, em menor medida, na bile.

#### Deficiência

A deficiência de Mo é pouco provável em animais devido às necessidades do mineral serem muito pequenas (0,2 ppm). Contudo, tem sido relatada deficiência em ovinos, produzindo cálculos renais de xantina. Em aves, ocorre diminuição da eclodibilidade e distúrbios da plumagem. Acredita-se que uma deficiência de Mo é conseguida com altos teores de minerais interferentes, principalmente tungstênio (W), que é antagônico com Mo, além de Cu e S.

#### Toxicidade

O Mo foi inicialmente pesquisado como mineral tóxico. Os limites entre toxicidade e necessidade para este mineral são bem estreitos, sendo ovinos e bovinos as espécies mais sensíveis a altos teores de Mo, e equinos, os mais resistentes. Pastagens com mais de 20 ppm de Mo podem provocar sintomas de intoxicação. Os níveis tóxicos também estão relacionados com o teor de Cu, sulfatos, Zn, Pb e W na dieta. Com suficiente Cu na dieta, aumenta a tolerância do organismo a altos valores de Mo. Entre os sintomas de intoxicação por Mo estão crescimento retardado, perda de peso e inapetência. Em bovinos, relatam-se diarreia, osteoporose, tendência a fraturas, transtornos articulares, falha na fertilidade e, em machos, falta de libido, lesões testiculares e falha na espermatogênese.

## REFERÊNCIAS

- AMMERMAN, C. B.; HENRY, P. R. Deficiências minerais de los rumiantes en pastoreo en América Latina. In: PUIGNAU, J. (Ed.) *Reunión sobre determinación de carencias y suplementación mineral de bovinos*. Campo Grande-MS, Brasil. 8-12 jun 1987. Montevideo: IICA/PROCISUR, 1987.
- BARROS, C. S. et al. Miopatia nutricional em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 8, p. 51-55, 1988.
- CAVALHEIRO, A. C.; TRINDADE, D. C. *Os minerais para bovinos e ovinos criados em pastejo*. Porto Alegre: Sagra-DC Luzzatto, 1992.
- CEBALLOS, M. A.; WITTEWER, F. G. Metabolismo del selenio en ruminantes. *Arch. Med. Vet.*, v. 28, n. 2, p. 5-17, 1996.
- CEBALLOS, M. A. et al. Actividad de glutatión peroxidase en bovinos lecheros a pastoreo correlacionada con la concentración sanguínea y plasmática de selenio. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 34, n. 12, p. 2331-2338, 1999.
- CORAH, L. Trace mineral requirements of grazing cattle. *Animal Feed Science and Technology*, v. 59, p. 61-70, 1996.
- CONRAD, J. H. et al. *Minerais para ruminantes em pastejo em regiões tropicais*. Gainesville: Boletim Deptº de Ciência Animal. Centro de Agricultura Tropical, Universidade da Florida, 1985.
- CORBELLINI, C. N. Etiopatogenia y control de hipocalcemia e hipomagnesemia en vacas lecheras. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; OSPINA, H.; BARCELLOS, J. O. J. (Ed.) *Anais do Seminário Internacional sobre Deficiências Minerais em Ruminantes*. Porto Alegre: UFRGS, 1998.
- DROBATZ, K.J.; CASEY, K.K. Eclampsia in dogs: 31 cases (1995-1998). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v. 217, p. 216-219, 2000.
- FONTENOT, J. P. et al. Factors influencing magnesium absorption and metabolism in ruminants. *J. Anim. Sci.*, v. 67, p. 3445-3455. 1989.
- GEORGIEWSKII, V. I.; ANNEKOV, B. N.; SAMOKHIN, V. T. *Mineral nutrition of animals*. London: Ed. Butterworths. 1982.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; OSPINA, H.; BARCELLOS, J. O. J. (Ed.). *Nutrição mineral em ruminantes*. 2 ed. Porto Alegre: UFRGS, 1998.
- GONZÁLEZ, F. H. D. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D. et al. *Perfil Metabólico em Ruminantes – Seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre: UFRGS, p. 31-51, 2000a.
- GONZÁLEZ, F. H. D. Uso do perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: GONZÁLEZ, F. H. D. et al. *Perfil Metabólico em Ruminantes – Seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre: UFRGS, p. 63-74, 2000b.
- GRAHAM, T. W. Trace elements deficiencies in cattle. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.*, v. 7, p. 153-215, 1990.
- MARTIN, L. C. T. *Nutrição mineral de bovinos de corte*. São Paulo: Livraria Nobel. 1993.
- McDONALD, P.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D. *Animal nutrition*. 4th ed. Harlow: Longman Scientific & Technical, 1990.
- McDOWELL, L. R. *Minerals in animal and human nutrition*. San Diego: Academic Press, 1992.
- MORAES, S. S.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Deficiências de microelementos em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 19, p. 19-33, 1999.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Minerals*. 7 ed. Washington, D. C.: National Academic Press, 1996.
- NÖRBERG, J. L. O sódio na nutrição de ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; OSPINA, H.; BARCELLOS, J. O. J. (Ed.). *Nutrição Mineral em Ruminantes*. Porto Alegre: UFRGS, 1998.

- OLSON, J. D. The role of selenium and vitamin E in mastitis and reproduction in cattle. *Cont. Educ.*, v. 49, p. 362-364, 1996.
- RIET-CORRÊA, F. et al. Efeito da suplementação com cobre e doenças associadas à carência de cobre em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 13, n. 3/4, p. 45-49, 1993.
- RIET-CORRÊA, F. Deficiência de Cobre. In: RIET-CORRÊA, F. et al. *Doenças de Ruminantes e Equinos*. 2. ed. Pelotas: Varela, 2001, v. 1, cap. 4, p. 312-320.
- ROBINSON, D. L.; KAPPEL, L. C.; BOLING, J. A. Management practices to overcome the incidence of grass tetany. *J. Anim. Sci.*, v. 67, p. 3470-3484, 1989.
- ROSOL, T. J. et al. Pathophysiology of calcium metabolism. *Vet. Clin. Pathol.*, v. 24, p. 49-63, 1995.
- SCHENCK, P.; CHEW D. Prediction of serum ionized calcium concentration by use of serum total calcium concentration in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, v. 68, p. 1330-1336, 2005.
- SENGER, C. C. D. et al. Teores minerais em pastagens do Rio Grande do Sul. I: Cálcio, fósforo, magnésio e potássio. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 13, n. 12, p. 897-904, 1996.
- SENGER, C. C. D. et al. Teores minerais em pastagens do Rio Grande do Sul. II: sódio, enxofre, zinco, cobre, ferro e manganês. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 32, p. 101-108, 1997.
- SMITH, K. L.; HOGAN, J. S.; CONRAD, H. R. Selenium in dairy cattle: its role in disease resistance. *Vet. Med.*, v. 83, p. 72-78, 1988.
- SPEARS, J. W. Reevaluation of the metabolic essentiality of the minerals. Review. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.*, v. 12, p. 1002-1008, 1999.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. Diseases caused by mineral deficiencies in cattle raised under range conditions in Brazil: a review. *Pesq. Agrop. Bras.*, v. 8(supl.), p. 1-6, 1973.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; MORAES, S. S. Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 8, p. 1-16, 1988.
- TOKARNIA, C. H. et al. Deficiências e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos - revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 19, p. 47-62, 1999.
- UNDERWOOD, E. J. *Los minerales en la nutrición del ganado*. 2. ed. Zaragoza: Ed. Acribia, 1983.
- WITTWER, F. Estrés oxidativo y selenio en bovinos. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; OSPINA, H.; BARCELLOS, J. O. J. (Ed.) *Anais do Seminário Internacional sobre Deficiências Minerais em Ruminantes*. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, 1998.
- ZUST, J.; HROVATIN, B.; SIMUNDIC, B. Assessment of selenium and vitamin E deficiencies in dairy herds and clinical disease in calves. *Vet. Rec.*, v. 139, p. 391-394, 1996.

### INTRODUÇÃO

A integração do metabolismo, nos mamíferos, é realizada pelos sistemas nervoso e endócrino. No primeiro, a comunicação opera através de neurotransmissores, tais como noradrenalina, acetilcolina ou serotonina, enquanto, no segundo, operam mensageiros químicos denominados hormônios, os quais são transportados pelo sangue até seu local de ação (órgão-alvo). Estes dois sistemas estão inter-relacionados, pois o sistema nervoso pode controlar a função endócrina ao tempo que alguns hormônios controlam funções nervosas. Por exemplo, a secreção de insulina, prolactina, adrenalina e glicocorticoides está regulada via estímulos neurais. Por outra parte, a tiroxina e o cortisol regulam a função de neurônios hipotalâmicos em sistemas de regulação feedback.

Alguns mensageiros químicos são comuns para ambos os sistemas, como é o caso da adrenalina e da noradrenalina, as quais funcionam como neurotransmissores em algumas sinapses do cérebro e do músculo liso e também como hormônios reguladores do metabolismo energético no fígado e no músculo esquelético.

Embora os sistemas nervoso e endócrino geralmente sejam estudados de forma separada, no estudo da regulação do metabolismo, eles atuam de forma integrada em um sistema neuroendócrino. O sistema neuroendócrino constitui a base do controle dos

outros sistemas, estando, portanto, estreitamente ligado aos processos metabólicos de nutrição, crescimento e reprodução.

Os hormônios são modificadores (moduladores) das reações enzimáticas do metabolismo, participando de funções específicas, tais como crescimento celular e tissular, regulação do metabolismo, regulação da frequência cardíaca e da pressão sanguínea, função renal, eritropoiese, motilidade do trato gastrointestinal, secreção de enzimas digestivas e de outros hormônios, lactação e atividade do sistema reprodutivo.

As características endócrinas são frequentemente herdadas, o que pode ter utilidade na determinação de parâmetros de seleção para melhoramento em várias espécies animais, através da dosagem dos níveis sanguíneos de determinados hormônios, tais como somatotropina, hormônios gonadotrópicos e esteroides sexuais.

O primeiro a descrever fatos relacionados com a função endócrina foi Aristóteles (322 a.C.), que relatou os efeitos da castração nas aves e no homem, constituindo a primeira alusão à atividade hormonal, embora sem compreender o mecanismo. A endocrinologia como ciência tem pouco mais de 100 anos. Antes disso, os órgãos endócrinos eram conhecidos, porém não estavam esclarecidas as suas funções nem os mecanismos de controle de sua secreção. Von Haller, em 1766, foi o primeiro a propor o conceito de “órgão endócrino”, no sentido de um órgão

cuja secreção é vertida no sangue, conceito ampliado por Teophile de Bordeu, em 1775, propondo que tais secreções eram necessárias para manter a integridade do organismo. Bordeu citou que os testículos produziam uma substância que se integrava ao organismo, causando-lhe modificações.

A endocrinologia experimental foi iniciada por John Hunter, em 1786, que realizou transplantes de testículos em aves, dentro da cavidade abdominal para observar possíveis mudanças no desenvolvimento do animal. O conceito sobre secreções endócrinas e exócrinas foi claramente definido por Johannes Müller, em 1834, enquanto Claude Bernard, em 1855, usou o termo “secreção interna” para diferenciá-la da “secreção externa”. Para tanto, tomou como exemplo de secreção interna a glicose secretada pelo fígado para o sangue e, como exemplo de secreção externa, a bile secretada pelo fígado para o trato gastrointestinal. Bernard ainda propôs pela primeira vez o conceito da homeostase de determinados metabólitos. Thomas Addison, também em 1855, descreveu clinicamente a insuficiência adrenal, atribuindo-a à destruição do córtex adrenal, o que foi demonstrado experimentalmente por Brown Séquard um ano depois. Em 1889, von Mering e Minkowski descreveram o que posteriormente seria chamada de diabetes mellitus, extirpando o pâncreas de um cão. Esse descobrimento levaria posteriormente ao descobrimento da insulina.

No século XX, o conhecimento da endocrinologia começa seus rápidos avanços com Starling e Bayliss, que descreveram a secretina, uma substância produzida na mucosa intestinal que atuava sobre o pâncreas para estimular a secreção de suco pancreático. Hardy, um estudante de línguas clássicas, propôs a Starling o termo hormônio, do grego “excitar”, para denominar a substância descrita por

eles. Bayliss e Starling propuseram o termo em 1905, definindo-o como aquela substância produzida em um órgão endócrino e transportada no sangue para exercer sua ação em outro órgão. O termo foi inicialmente atacado e foram propostas substituições que, finalmente, não tiveram sucesso. Mais tarde, Pende propôs o termo endocrinologia, como a área de estudo dos hormônios. O termo endócrino vem do grego *endo*: em, dentro, e *krinein*: liberar, ou seja, liberar (secretar) dentro do organismo. O primeiro texto de endocrinologia foi publicado por Sajon, em 1903, seguido por Parhon e Goldstein, em 1909, e por Biedl, em 1910. Hench, em 1949, foi o primeiro a utilizar hormônios terapêuticamente, quando tratou casos de artrite reumatoide com cortisona, hormônio do córtex adrenal. A partir de então foi iniciada a corrida das indústrias farmacêuticas para sintetizar este hormônio e outros glicocorticoides relacionados, os quais têm sido amplamente utilizados por suas aplicações terapêuticas.

Banting e Best, que vinham trabalhando para isolar extratos de insulina desde 1921, deram a base para o isolamento em forma cristalina deste hormônio por Abel, em 1926. A insulina foi assim o primeiro hormônio a ser isolado em forma pura. Posteriormente, em 1954, seria o primeiro hormônio a ter sua sequência de aminoácidos elucidada, graças aos trabalhos de Sanger. A insulina também foi o primeiro hormônio a ser produzido industrialmente mediante a tecnologia do DNA recombinante, no início da década de 1980.

## CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA DOS HORMÔNIOS

Atualmente são conhecidos mais de 50 hormônios (Quadro 1). Existem quatro grupos químicos de hormônios: peptídeos, esteroides, aminas e eicosanoides. Cada grupo tem diferentes características quanto a sua forma de síntese, armazenagem, meia-vida,

QUADRO 1 – PRINCIPAIS HORMÔNIOS NOS MAMÍFEROS

<b>Hormônio</b>	<b>Órgão secretor</b>	<b>Órgão alvo</b>	<b>Principal ação</b>
ACTH	adeno-hipófise	córtex adrenal	liberação de glicocorticoides
ADH	neuro-hipófise	arteriolas túbulos renais	constrição reabsorção de água
Adrenalina	medula adrenal	arteriolas músculo cardíaco e esquelético	contração contração
Andrógenos	testículo	órgãos sexuais acessórios	caracteres sexuais secundários
Calcitonina	tireoide	ossos  rins	diminuição de desmineralização óssea aumento de excreção de Ca
Colecistoquinina	trato gastrointestinal	pâncreas	secreção enzimática
CRH	hipotálamo	adeno-hipófise	liberação de ACTH
eCG (éguas)	placenta	ovário	similar ao FSH
Eritropoietina	rim	medula óssea	eritropoiese
Estrógenos	ovário	glândula mamária órgãos sexuais acessórios	desenvolvimento função cíclica, caracteres sexuais
FSH fêmea	adeno-hipófise	folículo ovariano	maturação folicular
FSH macho	adeno-hipófise	túbulos seminíferos	maturação de espermatozoides
Gastrina	trato gastrointestinal	estômago	secreção ácida
GH	adeno-hipófise	todas as células	síntese proteica, mobilização de lipídeos
GIP/VIP	trato gastrointestinal	mucosa gástrica	inibe a secreção
Glucagon	pâncreas	fígado tecido adiposo	glicogenólise lipólise
Glicocorticoides	córtex adrenal	todas as células	metabolismo de carboidratos
GnRH	hipotálamo	adeno-hipófise	liberação de LH e FSH
GRH	hipotálamo	adeno-hipófise	liberação de GH
hCG (primatas)	placenta	ovário	similar ao LH
Insulina	pâncreas	tecido adiposo todas as células	lipogênese glicogênese
Lactógeno placentário	placenta	glândula mamária	similar ao GH e a prolactina
LH fêmea	adeno-hipófise	ovário	ovulação
LH macho	adeno-hipófise	células de Leydig	secreção de andrógenos
Lipotropinas	neuro-hipófise	células adiposas	lipólise
Melatonina	glândula pineal	hipotálamo melanócitos	inibe a liberação GnRH escurecimento da pele
MIF	hipotálamo	adeno-hipófise	inibe a liberação de MSH
Mineralocorticoides	córtex adrenal	túbulo renal	equilíbrio eletrolítico
MRF	adeno-hipófise	células melanóforas	dispersão de pigmentos

continua...



Continuação

Hormônio	Órgão secretor	Órgão alvo	Principal ação
Noradrenalina	medula adrenal	arteriolas fígado, músculo	contração glicogenólise
Ocitocina	corpo lúteo neuro-hipófise	endométrio glândula mamária miométrio	estímulo da síntese de PGF <sub>2</sub> alfa favorecimento da descida do leite favorecimento do parto
PIF	hipotálamo	adeno-hipófise	inibe a liberação de PRL
PRF	hipotálamo	adeno-hipófise	liberação de PRL
Progesterona	ovário	glândula mamária útero	desenvolvimento mamário manutenção da gestação
Prolactina (PRL)	adeno-hipófise	glândula mamária	favorece lactação
Prostaglandinas	várias células	corpo lúteo músculo liso trato gastrointestinal	luteólise controle da pressão aumento da mobilidade
PTH	paratireoide	intestino ossos rim	aumento de absorção de Ca e Pi aumento de reabsorção óssea aumento de reabsorção de Ca e Pi
Relaxina	ovário	sínfise pubiana	relaxamento para o parto
Secretina	trato gastrointestinal	pâncreas	secreção enzimática
Somatostatina	hipotálamo intestino	adeno-hipófise pâncreas	inibe a liberação de GH inibe a liberação de gastrina e secretina
Timosina	timo	gônadas, cél. linfóides	função gonadal, linfopoiese
Tiroxina	tireoide	todas as células	aumento do metabolismo
TRH	hipotálamo	adeno-hipófise	liberação de TSH
Tri-iodotironina	tireoide	todas as células	aumento do metabolismo

forma de transporte no sangue e mecanismo de ação (Quadro 2).

Os hormônios peptídicos podem ter desde 3 até 200 resíduos de aminoácidos, constituindo o grupo mais numeroso de hormônios. Os principais órgãos que produzem hormônios peptídicos são o hipotálamo, a hipófise, as ilhotas pancreáticas, a placenta, a glândula paratireoide e o trato gastrointestinal.

Os hormônios esteroides são produzidos, a partir do colesterol, pelo córtex adrenal, as gônadas e a placenta e incluem os corticosteroides, os estrógenos, os andrógenos e a progesterona. Nesse grupo, está incluída a vitamina D<sub>3</sub> ativa (1,25-di-hidroxicolecalciferol).

Os hormônios do grupo das aminas incluem (a) as catecolaminas, que são produzidas pela medula adrenal e algumas células nervosas, e (b) as iodotironinas, derivadas do aminoácido tirosina, as quais são produzidas exclusivamente pela tireoide. Os mecanismos de ação destes dois subgrupos são diferentes. Enquanto as catecolaminas compartilham mecanismos de ação similares aos hormônios peptídicos, as iodotironinas têm mecanismos similares aos hormônios esteroidais.

Finalmente, os eicosanóides incluem as prostaglandinas, os leucotrienos e os tromboxanos. São hormônios derivados do ácido araquidônico e são produzidos em quase todos os tecidos.

## CARACTERÍSTICAS DA ATIVIDADE HORMONAL

Classicamente os hormônios são considerados como aquelas substâncias produzidas pelos órgãos endócrinos, isto é, órgãos cuja secreção vai para a corrente sanguínea, em contraposição à secreção exócrina, cujos produtos vão para o exterior do organismo ou para o trato gastrointestinal. No entanto, atualmente são também reconhecidos como hormônios algumas substâncias secretadas por neurônios, como é o caso da vasopressina e da ocitocina, secretadas pelos núcleos supraóptico e paraventricular do hipotálamo. Também são consideradas como hormônios algumas substâncias presentes em zonas do cérebro com funções de neurotransmissores, como os hormônios liberadores do hipotálamo (GnRH, TRH, CRH, somatostatina) e alguns hormônios da pituitária (ACTH,  $\beta$ -endorfinas).

Outros hormônios são sintetizados por células disseminadas em determinados tecidos e não por órgãos endócrinos defini-

dos, como os hormônios do trato gastrointestinal (gastrina, secretina, GIP, VIP, CCK) ou as prostaglandinas, produzidas em quase todas as células.

Existem outros hormônios que não são sintetizados em células específicas, mas produzidos no sangue por ação enzimática sobre um precursor, como é o caso da angiotensina, ou produzidos na pele a partir de precursores exógenos, como é o caso da vitamina D<sub>3</sub>.

A secreção hormonal não é necessariamente uniforme, mas pode obedecer a estímulos, estabelecendo ciclos ou ritmos de vários tipos, tais como o ritmo circadiano (diário), ultradiano (horas) ou circalunar (mensal). Outro conceito clássico é que os hormônios devem ser transportados via sanguínea desde o sítio de produção até o sítio de ação (função telócrina). Entretanto, alguns hormônios não entram na circulação sanguínea, mas podem ir até a célula-alvo por difusão passiva, como algumas prosta-

QUADRO 2 – CARACTERÍSTICAS DE VÁRIOS TIPOS DE HORMÔNIOS

<b>Característica</b>	<b>Esteroides</b>	<b>Tireoidianos</b>	<b>Peptídicos</b>	<b>Aminas</b>
<i>Feedback</i>	sim	sim	sim	sim
Biossíntese	várias enzimas	modificação pós-tradução	modificação pós-tradução	várias enzimas
Armazenamento	horas	semanas	um dia	dias
Secreção	difusão	proteólise	exocitose	exocitose
Proteínas de união (no plasma)	sim	sim	raro	não
Meia-vida	horas	dias	minutos	segundos
Receptores	núcleo	núcleo	membrana plasmática	membrana plasmática
Mecanismo de ação	regula a transcrição	regula a transcrição	segundo mensageiro	segundo mensageiro

glandinas que têm função parácrina. Por outra parte, há substâncias que compartilham algumas características dos hormônios sem serem consideradas como tais, como é o caso das somatomedinas, produzidas no fígado por ação da somatotropina (GH).

Os hormônios esteroides e os tireoidianos são transportados pelo sangue mediante proteínas específicas. Exemplos dessas proteínas transportadoras são a globulina transportadora de tiroxina (TBG), a globulina transportadora de corticoides (CBG) ou transcortina, e a globulina transportadora de hormônios sexuais (SHBG). A união dos hormônios a suas proteínas transportadoras limita sua difusão através dos tecidos, mas, ao mesmo tempo, os protege da degradação enzimática. Os hormônios devem estar na sua forma livre para poder entrar nas células-alvo tendo, portanto, um equilíbrio entre a forma unida e a forma livre desses hormônios. Este equilíbrio varia em função da espécie. Por exemplo, nas aves, a tiroxina tem uma meia-vida menor do que nos mamíferos, porque sua TBG tem menor capacidade de união, e a tiroxina é gasta pelo metabolismo com maior rapidez.

Entre as funções dos hormônios estão as seguintes:

- (a) Regulação do metabolismo dos glicídeos e lipídeos (insulina, glucagon).
- (b) Adaptação ao estresse (catecolaminas, glicocorticoides).
- (c) Regulação do crescimento e da maturação (GH).
- (d) Regulação da função reprodutiva (GnRH, FSH, LH, estrógenos, progesterona, testosterona, prostaglandinas).
- (e) Regulação do equilíbrio hidroeletrolítico (ADH, aldosterona).
- (f) Controle do metabolismo do cálcio e do fósforo (PTH, calcitonina, vitamina D<sub>3</sub>).

(g) Modulação das funções digestivas (secretina, gastrina, CCK, GIP, VIP).

(h) Regulação da taxa metabólica e a calorigênese (hormônios tireoidianos).

O controle sobre estes processos, isto é, os mecanismos que controlam a secreção dos hormônios, está basicamente centralizado na regulação de tipo *feedback*.

O sistema neuroendócrino possui sensores ou mecanismos que podem detectar os efeitos biológicos dos hormônios, de forma a manter o equilíbrio homeostático dos metabólitos, eletrólitos, fluidos biológicos e taxas de processos metabólicos. Exemplos de regulação *feedback* simples são a secreção do hormônio da paratireoide (PTH) ou da insulina, em resposta aos níveis sanguíneos de Ca<sup>2+</sup> ou de glicose, respectivamente. Uma diminuição nos níveis plasmáticos de cálcio induz a secreção de PTH pela paratireoide (*feedback* negativo), ao passo que uma elevação dos níveis de glicose estimula a secreção de insulina nas células beta das ilhotas pancreáticas (*feedback* positivo).

Existe uma regulação *feedback* mais complexa, como a que opera nos hormônios liberados através do eixo hipotálamo hipofisiário. Estes mecanismos podem ser de “alça longa”, predominantemente negativos, nos quais os hormônios secretados pelos órgãos efetores (esteroides sexuais, glicocorticoides, hormônios tireoidianos) têm efeito negativo sobre a secreção dos hormônios tróficos hipofisiários (LH, FSH, ACTH, TSH) e sobre os hormônios hipotalâmicos (GnRH, CRH, TRH). Também podem ser de “alça curta” e de “alça ultracurta” ou *autofeedback*, que funcionam em nível do eixo hipotálamo hipofisiário, de forma mais rápida.

Os fatores hipotalâmicos são secretados obedecendo a uma regulação *feedback* predominantemente negativa. Estes fatores po-

dem exercer um efeito positivo (liberador) ou negativo (inibidor). Existe um caso em que a regulação pode ser negativa ou positiva, dependendo da fase fisiológica. É o caso da secreção de LH, que ao longo do ciclo estral obedece a uma regulação feedback negativa em resposta a baixos níveis de estrógenos e progesterona, e que se torna regulação feedback positiva horas antes da ovulação, quando responde a altos níveis de estrógenos.

Também existe controle do sistema nervoso diretamente sobre a secreção de alguns hormônios. Por exemplo, uma fibra pré-ganglionar simpática pode estimular a liberação de adrenalina depois de um impulso gerado pelo córtex cerebral, diante de um estímulo visual. Outro exemplo de controle nervoso sobre a secreção endócrina é através da conexão hipotalâmica, como o efeito que a luz causa sobre a atividade reprodutiva de algumas espécies. Na ovelha, a atividade reprodutiva aumenta com a diminuição das horas-luz/dia, enquanto, na égua e na galinha, a atividade reprodutiva aumenta com incremento no número de horas-luz/dia. A ação da luz, nesses casos, opera via hipotálamo para modificar a secreção dos hormônios hipofisários gonadotrópicos, mediante a melatonina, hormônio da glândula pineal.

## MECANISMOS DE AÇÃO HORMONAL

Todos os hormônios atuam através de receptores específicos, presentes unicamente nas células-alvo. Todos os receptores são proteínas, às quais se une o hormônio correspondente com alta especificidade e afinidade, provocando mudanças conformacionais que desencadeiam reações modificadoras do metabolismo da célula-alvo. O número de receptores varia para cada tipo de célula, variando, portanto, o grau da resposta de cada célula à ação hormonal. A união do

hormônio ao receptor é forte, mas não é covalente. O sítio de união é estereoespecífico e somente une o hormônio correspondente ou moléculas muito similares.

Estruturas análogas que se unem ao receptor ocasionando os mesmos efeitos que o hormônio são chamadas de agonistas, em oposição àquelas estruturas cuja união ao receptor não causa efeito hormonal por bloquear o receptor e que são chamadas de antagonistas.

Existem dois mecanismos básicos da ação hormonal, os quais estão em função do tipo de hormônio:

(a) Os hormônios peptídicos e as catecolaminas, que não podem penetrar as membranas plasmáticas das células, por seu tamanho ou sua polaridade, têm seus receptores localizados na membrana plasmática das células-alvo. A união do hormônio a seu receptor específico causa mudanças que levam ao aumento de substâncias conhecidas como *segundos mensageiros*, geralmente nucleotídeos cíclicos ou cálcio, os quais regulam reações enzimáticas específicas ou modificam a velocidade de transcrição de genes específicos.

(b) Os hormônios esteroides e tireoidianos, que podem atravessar as membranas plasmáticas, têm seus receptores localizados no núcleo. A interação hormônio-receptor nuclear altera diretamente a transcrição de genes específicos.

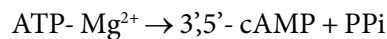
O mecanismo de ação dos hormônios peptídicos e das catecolaminas, os quais atuam através de segundo mensageiro, é mais rápido que o mecanismo de ação dos hormônios esteroides e tireoidianos, pois os primeiros não necessitam entrar na célula e causam rápidas modificações metabólicas por alterar a atividade de enzimas específicas, ao passo que os segundos devem atravessar a membrana plasmática e o citosol até chegar no núcleo, além de requerer tempo para a síntese de

mRNA no núcleo e a subsequente síntese de proteínas nos ribossomos. O tempo de ação dos hormônios peptídicos e catecolaminas é de minutos ou segundos, enquanto nos hormônios esteroides é de horas ou dias.

Os segundos mensageiros, metabólitos intermediários da ação dos hormônios peptídicos e das catecolaminas, podem ser de vários tipos. A seguir são considerados os mais importantes deles.

### O cAMP como segundo mensageiro

Earl Sutherland, em 1972, identificou a adenosina-3',5'-monofosfato cíclico ou AMP cíclico (cAMP) como o mensageiro intracelular produzido em resposta à ação da adrenalina nas células do fígado. Depois, foi demonstrado que o cAMP era o mediador comum da ação de muitos hormônios. O cAMP é formado pela ativação de uma enzima da membrana plasmática presente em todas as células, exceto nos eritrócitos, como consequência da interação entre um hormônio e seu receptor específico. A enzima que catalisa a formação do cAMP é a adenilciclase (Figura 1).



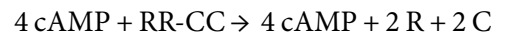
A enzima adenilciclase pode ser estimulada ou inibida mediante mecanismos que envolvem complexos proteicos regulatórios localizados na membrana. Dois sistemas paralelos, um estimulatório e outro inibitório, confluem no processo. Os complexos regulatórios (Gs e Gi) são trímeros com subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , que reagem com o nucleotídeo GTP, regulando a atividade da adenilciclase. A proteína estimulatória G (Gs) está localizada do lado citosólico da membrana plasmática e, quando se une ao GTP, estimula a produção de cAMP, mediante a ativação da adenilciclase.

A proteína Gs pode existir em duas formas. Quando a subunidade  $\alpha$  está unida ao

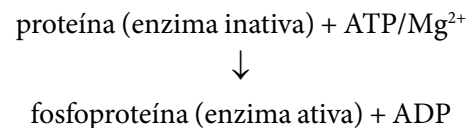
GDP, a proteína Gs está inativa. Ocorrendo a união hormônio-receptor, catalisa-se a fosforilação de GDP formando GTP e ativando a proteína Gs. Simultaneamente, as subunidades  $\beta$  e  $\gamma$  da Gs dissociam-se da subunidade  $\alpha$ . A Gs $\alpha$  unida ao GTP se desloca na membrana desde o receptor até uma molécula de adenilciclase, ativando-a. A ativação da adenilciclase catalisa a produção de cAMP a partir de ATP.

Quando a subunidade Gs $\alpha$  se reassocia com as subunidades  $\beta$  e  $\gamma$ , a Gs torna a estar disponível para uma nova interação com o complexo hormônio-receptor.

O sinal continua dentro da célula com a união do cAMP a uma proteína quinase dependente de cAMP (proteína-quinase A), molécula heterotetramérica composta por duas subunidades regulatórias (RR) e duas subunidades catalíticas (CC). A ação do cAMP é separar o tetrámero inativo R<sub>2</sub>C<sub>2</sub>, para produzir duas subunidades catalíticas (2C) ativas:



A unidade catalítica da proteína-quinase A ativada fosforila uma proteína, nos grupos hidroxila de resíduos de Thr e Ser. Esta proteína geralmente é uma enzima que pode induzir mudanças em alguma rota metabólica:



A ação das proteínas-quinases é reversível pela ação de fosfatases específicas, as quais defosforilam as proteínas substrato das proteínas-quinases, inativando-as. As proteínas-quinases dependentes de cAMP fosforilam uma variedade de enzimas em citoplasma, membranas, mitocôndria, ribossomos e núcleo. Como as diferentes células têm receptores específicos para os diferentes

hormônios, o cAMP opera como um metabólito comum para a ação de vários hormônios. Assim, cada célula tem diferentes enzimas que reconhecem diferentes hormônios, mas que são afetadas pelo cAMP.

O estado de fosforilação ou defosforilação das proteínas substrato das proteínas-quinases determina a atividade fisiológica. Por exemplo, a enzima que degrada o glicogênio, a glicogênio-fosforilase a, é ativa quando está fosforilada, enquanto que a enzima que sintetiza glicogênio, a glicogênio-sintetase, é ativa quando está defosforilada. Outras enzimas que são reguladas pela ação fosforilante de proteínas-quinases dependentes de cAMP são a acetil-CoA carboxilase (síntese de ácidos graxos), o complexo piruvato desidrogenase (oxidação do piruvato em acetil-CoA), a lipase hormônio-sensível (lipólise), a fosfofructoquinase-2 e a frutose-2,6-difosfatase (glicólise e gliconeogênese).

O cAMP tem uma meia-vida curta. Ele é degradado no interior das células, onde é atacado pela enzima fosfodiesterase (PDE), a qual rompe a estrutura cíclica do cAMP produzindo 5'-AMP, metabólito inativo (Figura 1).

Existem três tipos de fosfodiesterases. Uma regulada por  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulina, outra regulada por hormônios e outra ativada por cGMP. Por outra parte, a fosfodiesterase pode ser inibida por metilxantinas, tipo cafeína ou teofilina, as quais evitam a degradação do cAMP na célula e, portanto, potencializam a ação dos agentes que atuam através de cAMP.

Entre os hormônios que atuam através do cAMP estão ACTH, LH, FSH, TSH, MSH, hCG, GnRH, TRH, PTH, calcitonina, catecolaminas  $\beta$ -adrenérgicas, glucagon, serotonina e vasopressina.

Alguns hormônios atuam inibindo a adenilciclase, diminuindo, portanto, os níveis de cAMP, evitando a fosforilação de proteínas específicas. Estes hormônios,

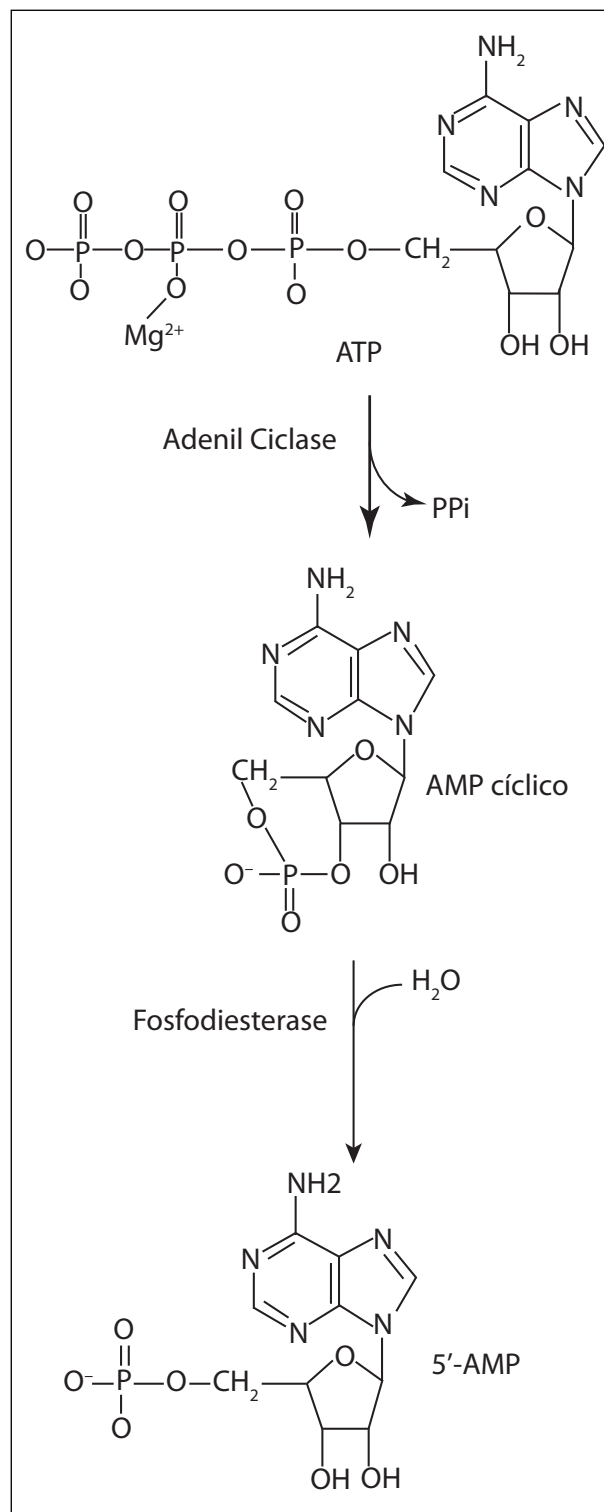


Figura 1 – Reação de síntese e degradação do AMP cíclico.

quando se unem a seu receptor específico, ativam uma proteína G inibidora (Gi), a qual é estruturalmente homóloga à Gs. A proteína Gi atua de forma similar à Gs, isto é, se une ao GTP para ativar-se, porém tendo o efeito oposto, inibindo a adenilciclase e diminuindo, portanto, os níveis de cAMP. Alguns hormônios que atuam mediante este mecanismo são as catecolaminas  $\alpha$ -adrenérgicas, a insulina, a somatostatina e as prostaglandinas PGE<sub>1</sub> e PGE<sub>2</sub>, além dos agentes opiáceos e os agonistas colinérgicos muscarínicos, como a acetilcolina.

### O cGMP como segundo mensageiro

Outro nucleotídeo que atua como segundo mensageiro é o guanosina-monofosfato cíclico (cGMP), especialmente nas células do epitélio intestinal, coração, vasos sanguíneos, cérebro e dutos coletores renais. A ação do cGMP varia conforme o tecido. No rim e no intestino, produz mudanças no transporte de íons e na retenção de água; no coração, causa diminuição da contração; e no cérebro, está envolvido com o desenvolvimento e a função.

O cGMP é formado por mecanismos similares ao cAMP, pela ação da enzima guanilciclase:



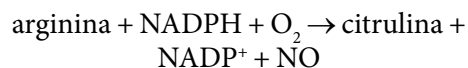
A enzima guanilciclase pode ser encontrada nas células, na forma de duas isoenzimas, uma no citosol e outra na membrana. Os níveis de cGMP, entretanto, são 5 % dos níveis do cAMP e podem ser aumentados pela ação de vários hormônios ou neurotransmissores, tais como acetilcolina, insulina, somatostatina, angiotensina e prostaglandinas, entre outros. Por isso, acredita-se que o cGMP é intermediário de efeitos opostos aos efeitos do cAMP.

Exemplos de substâncias que atuam através do cGMP com guanilciclase de membrana são os seguintes:

(a) Nos mamíferos, o chamado fator natriurético atrial (ANF) é produzido por ativação de guanilciclase das membranas das células atriais do coração quando ocorre aumento do volume circulatório, o que ocasiona uma dilatação do átrio. O hormônio ANF também ativa a guanilciclase das células coletoras dos túbulos renais para aumentar a excreção de Na<sup>+</sup> e, portanto, de água, com o que se reduz o volume circulatório. Sobre os vasos sanguíneos, o hormônio ANF também atua mediante a guanilciclase para causar vasodilatação, o que reduz a pressão sanguínea.

(b) Nas células intestinais, um receptor de membrana que atua com a guanilciclase pode ser ativado pela toxina da *Escherichia coli*, pequeno peptídeo que causa aumento de cGMP e leva à diminuição da absorção de água pelo epitélio intestinal e a consequente diarreia.

A forma isoenzimática do citosol da guanilciclase é uma proteína associada ao grupo heme, que é estimulada pelo óxido nítrico (NO). O óxido nítrico é produzido a partir da arginina pela ação da enzima NO-sintetase, uma oxidase dependente de Ca<sup>2+</sup>, presente em muitos tecidos de mamíferos:



O cGMP produzido pela ação da guanilciclase por estímulo do NO causa diminuição da contração cardíaca, mediante estimulação da bomba iônica que mantém baixa a concentração de Ca<sup>2+</sup> no citosol da célula cardíaca. Em muitos casos, o aumento dos níveis do cGMP é estimulado pelo fluxo de íons Ca<sup>2+</sup> no interior da célula, possivelmente porque esse íon é ativador da guanilciclase. O cGMP, similarmente ao cAMP, é hidrolisado por fosfodiesterases específicas.

### O cálcio como segundo mensageiro

O Ca<sup>2+</sup> é um importante regulador de vários processos celulares e também atua em

algumas células como segundo mensageiro da ação hormonal.

A concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular é maior que a intracelular (5 mM vs. 0,1-10  $\mu\text{M}$ , respectivamente). A concentração citosólica de  $\text{Ca}^{2+}$  é mantida em baixa concentração, mediante uma bomba de  $\text{Ca}^{2+}$  no retículo endoplasmático, na mitocôndria e na membrana plasmática. A entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  na célula é restrita e ocasionada por estímulos neurais ou hormonais.

A ação do  $\text{Ca}^{2+}$  é regulada pela calmodulina, uma proteína ubíqua de baixo peso molecular (17 kDa), homóloga à troponina c do músculo, encontrada em todas as células de todos os seres vivos. A calmodulina tem 4 sítios de união ao  $\text{Ca}^{2+}$ , os quais provocam uma mudança conformacional quando estão ocupados, relacionada com a capacidade da calmodulina para ativar ou inativar enzimas. A união Ca-calmodulina é similar à união cAMP-proteína quinase. Quando a concentração intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  aumenta a 1  $\mu\text{M}$ , este se une à calmodulina, causando uma mudança conformacional, ativando-a (Figura 2).

### Derivados do fosfatidil-inositol como segundos mensageiros

Na membrana plasmática, existe uma enzima hormônio-sensível chamada fosfolipase C, que atua especificamente sobre o fosfatidil-inositol-4,5-difosfato, catalisando sua hidrólise em diacilglicerol (DAG) e inositol-1,4,5-trifosfato (ITP). Esses dois compostos podem agir como segundos mensageiros da ação hormonal (Figura 3).

Os hormônios que têm este mecanismo de ação se unem a seu receptor na membrana e catalisam a troca de um GTP por um GDP na proteína Gp, similar à proteína Gs, ativando-a. A proteína Gp ativa pode estimular a enzima fosfolipase C unida à membrana.

O ITP estimula a saída de  $\text{Ca}^{2+}$  dos organelas citoplasmáticos. Por essa razão, acredita-se que o ITP seja o integrador entre o hormônio e a mobilização de  $\text{Ca}^{2+}$  das reservas intracelulares. O DAG ativa uma proteína-quinase dependente de Ca-fosfolípido (proteína-quinase C), a qual fosforila proteínas em resíduos de Ser e Thr, modificando suas atividades. Alguns hormônios que atuam mediados pelo DAG e/ou o ITP são TRH, ACTH, LH, angiotensina II, serotonina e vasopressina.

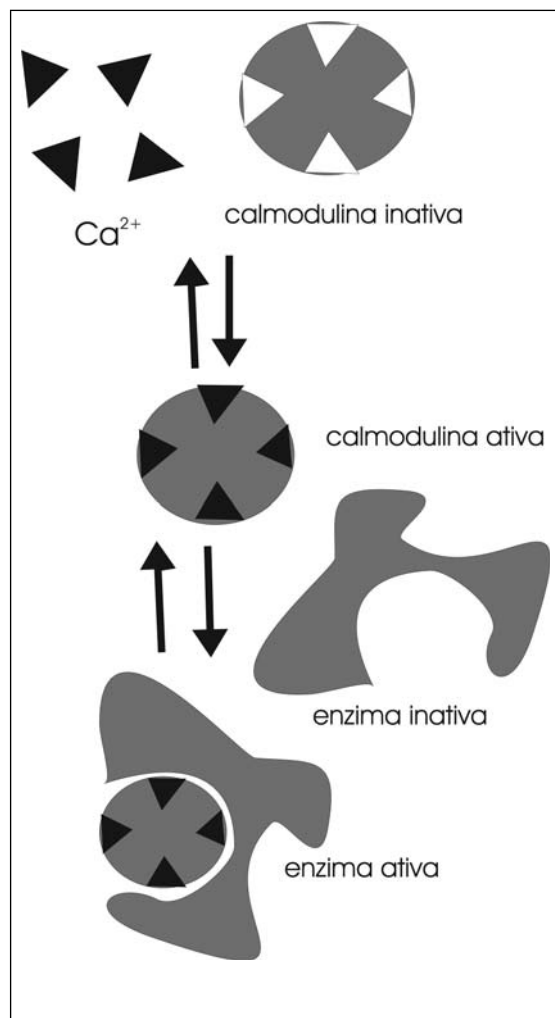
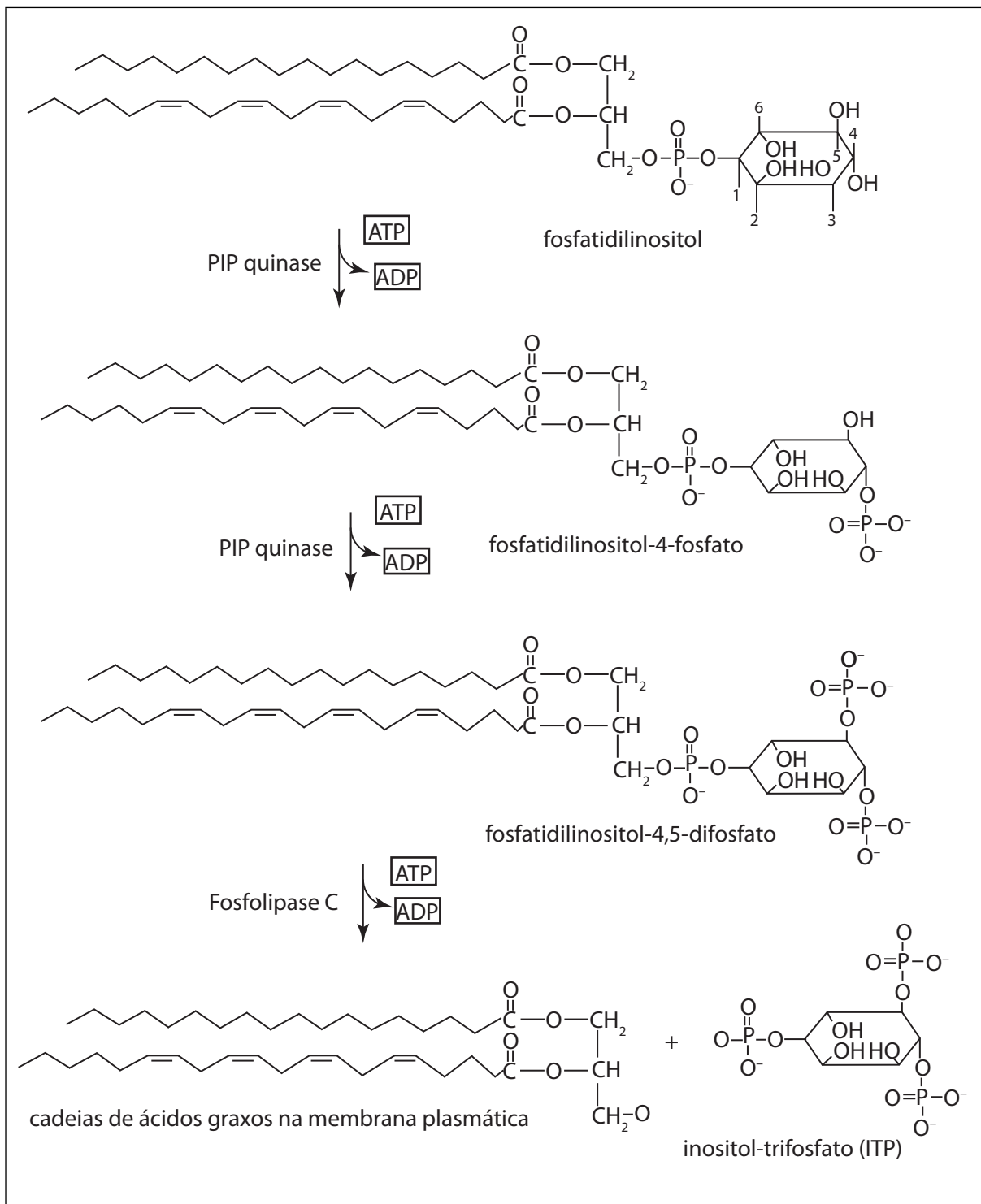


Figura 2 – Reação entre o cálcio e calmodulina.





**Figura 3** – Reações de formação do inositol trifosfato (ITP).

## Outros segundos mensageiros

Em alguns casos, os receptores estão acoplados direta ou indiretamente com canais de íons na membrana plasmática. O melhor exemplo desses casos é o receptor nicotínico para acetilcolina. A acetilcolina é um neurotransmissor, e seu receptor se encontra nas células pós-sinápticas de alguns neurônios e na união neuromuscular. O receptor de acetilcolina é um complexo composto por 4 cadeias polipeptídicas diferentes, com um peso molecular total de 250 kDa. Uma das cadeias tem duas cópias, perfazendo um total de 5 subunidades. As cadeias proteicas estão organizadas na membrana, criando um canal hidrofílico através do qual podem passar íons. Quando a acetilcolina, liberada pela despolarização do nervo pré-sináptico, se une a seu receptor da célula pós-sináptica, o canal do receptor se abre, permitindo a passagem de íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ . A ação da acetilcolina é terminada depois, mediante sua hidrólise pela enzima acetil colinesterase, ou mediante seu reingresso na célula pré-sináptica.

## As proteínas-quinases como intermediários da ação hormonal

Um denominador comum nos sinais transduccionais da ação hormonal, seja através de adenilciclase, guanilciclase, cálcio/calmodulina, fosfolipase C ou canais iônicos, é a regulação sobre a atividade de uma proteína-quinase. O número de proteínas-quinases descobertas tem aumentado muito desde que as primeiras foram mencionadas por Edwin Krebs e Edmond Fischer, em 1959. Existem centenas de proteínas-quinases, cada uma com seu ativador específico e sua própria proteína substrato.

A adição de grupos fosfato a resíduos de Ser, Thr ou Tyr, introduz grupos carregados eletricamente em uma região moderadamente polar. Quando a modificação ocorre em

uma região crítica para a estrutura tridimensional da proteína, devem ocorrer modificações dramáticas em sua conformação e, portanto, em sua atividade catalítica. Como resultado da evolução, os resíduos de Ser, Thr ou Tyr, que podem ser fosforilados, estão localizados em sequências-consenso da proteína, isto é, sequências repetidas que são reconhecidas pela proteína-quinase específica.

Para poder servir como um mecanismo regulatório efetivo, a fosforilação causada pelas proteínas-quinases deve ser reversível, de modo a permitir o retorno ao nível anterior de estimulação quando o sinal hormonal termine. As enzimas que exercem a função de reversão do processo, ou seja, a defosforilação, são as fosfoproteínas-fosfatases, das quais existem também centenas e cuja função é hidrolisar ésteres específicos de fosfoserina, fosfotreonina ou fosfotirosina em proteínas específicas.

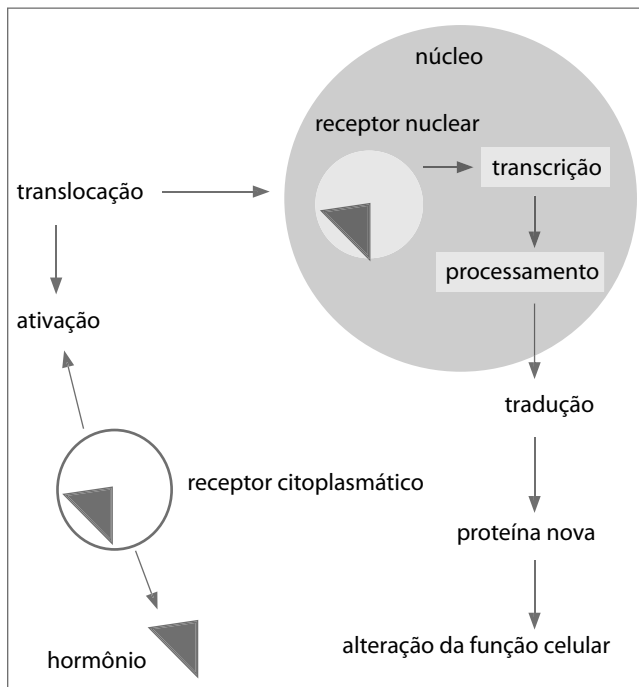
## Ação hormonal mediada por receptores nucleares

Alguns hormônios com peso molecular de cerca de 300 Da, como os esteroides, os hormônios tireoidianos e o metabólito da vitamina  $\text{D}_3$ , atuam através de receptores nucleares. Esses hormônios, cuja molécula é lipofílica, atravessam a membrana plasmática por difusão simples e entram no citosol alcançando diretamente o núcleo. O complexo hormônio-receptor ativado se une a regiões específicas do DNA para ativar ou inativar genes específicos. Seletivamente afeta a transcrição e a produção do mRNA respectivo (Figura 4).

Foi identificado um elemento sensível a hormônio (HRE) na região regulatória do DNA, perto do elemento promotor que regula a frequência da iniciação da transcrição, de forma similar aos genes facilitadores (*enhancers*). O mRNA é depois traduzido nos ribossomos para produzir a proteína específica que causa a resposta metabólica.

As sequências de DNA dos HREs, aos quais se une o complexo hormônio-receptor, são similares em comprimento, porém diferentes em sequência para os vários hormônios esteroidais. Para cada receptor há uma sequência-consenso, à qual se une o complexo hormônio-receptor. Cada sequência-consenso de HRE consiste de 2 sequências de 6 nucleotídeos, que podem estar vizinhas entre si ou separadas por 3 nucleotídeos. A capacidade de um determinado hormônio de alterar a expressão de um gene em uma determinada célula depende da sequência exata de HRE e sua posição relativa no gene, bem como da quantidade de HREs associados ao gene.

Além de sua união ao DNA e ao hormônio, os receptores nucleares têm domínios que interatuam com elementos da transcrição, que afetam a velocidade com que se produz a ação hormonal.



**Figura 4** – Mecanismo de ação dos hormônios esteroidais.

Os receptores dos hormônios esteroidais e tireoidianos mostram sequências de aminoácidos conservadas. Assim, existe uma sequência de 66 a 68 resíduos, muito similar em todos os receptores, que serve para sua união ao DNA. Estas proteínas compartilham uma estrutura conhecida como região de “dedo de zinco”, a qual contém 8 resíduos de Cys, que permitem a união de 2 íons de  $Zn^{2+}$ , com o qual estabiliza a união da proteína ao DNA.

A região do receptor que se une ao hormônio está localizada sempre no extremo carboxila e varia conforme o hormônio. O receptor dos glicocorticoides é 30 % homólogo com o receptor de estrógeno, e somente 17 % homólogo com o receptor de tiroxina. O receptor da vitamina D tem unicamente 25 resíduos de aminoácidos, ao passo que o receptor dos mineralocorticoides tem 603 resíduos. Uma mutação do receptor na sequência de união ao hormônio afeta a atividade do receptor e a ação do hormônio.

Um esteroide antagonista da progesterona, a droga conhecida como RU486, tem a capacidade de unir-se a receptores do hormônio, bloqueando sua atividade. Essa droga pode ser usada para a terminação da gestação no estágio inicial.

#### TRANSTORNOS DA SECREÇÃO ENDÓCRINA

Os transtornos hormonais nos animais podem ocorrer por hipo ou por hiperfunção das glândulas endócrinas. Uma característica comum das glândulas endócrinas é que a estimulação prolongada sobre uma população de células secretoras predispõe à apresentação de tumores por desenvolvimento de clones de células que crescem mais rapidamente que o resto e que são mais suscetíveis a uma transformação neoplásica.

As neoplasias das glândulas endócrinas são geralmente ativas, secretando uma quantidade excessiva de hormônios em forma contínua ou episódica, provocando síndromes clínicas características.

Entre os exemplos mais comuns de neoplasias endócrinas nos animais podem ser citados os seguintes:

- (a) Neoplasia das ilhotas pancreáticas em cães (insulinoma).
- (b) Hipertireoidismo por adenoma tireoideano em cães e gatos.
- (c) Hiperparatireonismo por tumores das células C da tireoide em touros, causando osteosclerose.
- (d) Hiperadrenocorticismo por neoplasias de hipófise (excesso de ACTH) ou do córtex adrenal (síndrome de Cushing).
- (e) Feocromocitoma na medula adrenal em cães, com excesso de produção de catecolaminas, causando hiperglicemia e hipertensão.
- (f) Tumor das células de Sertoli em cães, que secretam estrógenos em excesso e causam feminização.
- (g) Adenoma da paratireoide em cães, que causa desmineralização progressiva e generalizada dos ossos, hipercalcemia, mineralização dos tecidos brandos e desenvolvimento de cálculos renais.

Para confirmar um tumor endócrino, devem ser medidos os níveis do hormônio no sangue e na urina em nível basal, além dos níveis sob supressão e/ou sob estimulação, durante um período de 24 horas.

Por outra parte, na hipofunção primária de uma glândula endócrina, ocorre secreção subnormal que pode ser devido a várias causas, tais como a destruição das

células secretoras por doença imunológica, falhas no desenvolvimento da glândula ou falha bioquímica na rota biossintética do hormônio, geralmente por falta de alguma enzima. O dano de origem imunológica sobre as células endócrinas é relativamente frequente em animais na paratireoide, o córtex adrenal e a tireoide.

Em ovelhas, cabras e vacas, ocorre um defeito congênito na produção de tireoglobulina, proteína armazenadora dos hormônios tireoideanos, causando hipotireoidismo. O fenômeno é devido a falhas na transcrição do mRNA da tireoglobulina.

Em cães e gatos, tem sido observada hipofunção endócrina secundária a lesões na hipófise, o que causa hipofunção detectável do córtex adrenal, a tireoide e as gônadas, principalmente.

Pode existir hiperatividade de uma glândula, de forma secundária a uma doença em outro órgão, por exemplo, no hiperparatireoidismo secundário a uma lesão renal, caso em que ocorre falta de excreção de fósforo pela urina e impedimento da ativação da vitamina D pela enzima 1 $\alpha$ -hidroxilase. O excesso de fósforo no plasma causa diminuição no teor de cálcio, e a ausência de vitamina D impede a absorção de cálcio no intestino. Os dois eventos concorrem para ativar a paratireoide e extrair cálcio dos ossos.

Em animais carnívoros, pode ocorrer hiperparatireoidismo nutricional devido a dietas à base de carne, com pouco cálcio e muito fósforo, o que também ativa a paratireoide. A ação persistente da paratireoide leva à desmineralização do esqueleto e à predisposição a fraturas ósseas.

Outras disfunções endócrinas podem ocorrer em razão de falhas na biossíntese, na estrutura ou no número dos receptores das células-alvo, ou a falhas nos sinais de transdução, ou seja, produção de segundos mensageiros.

#### MÉTODOS DE MEDIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DOS HORMÔNIOS

Os hormônios estão normalmente em concentrações muito baixas no sangue, da ordem de micromolar ( $\mu\text{M}=10^{-6}\text{ M}$ ) a picomolar ( $\text{pM}=10^{-12}\text{ M}$ ). Isso contrasta com outros metabólitos, como a glicose, cujas concentrações no sangue são da ordem de milimolar ( $\text{mM}=10^{-3}\text{ M}$ ). Por essa razão, a medição, identificação e isolamento dos hor-

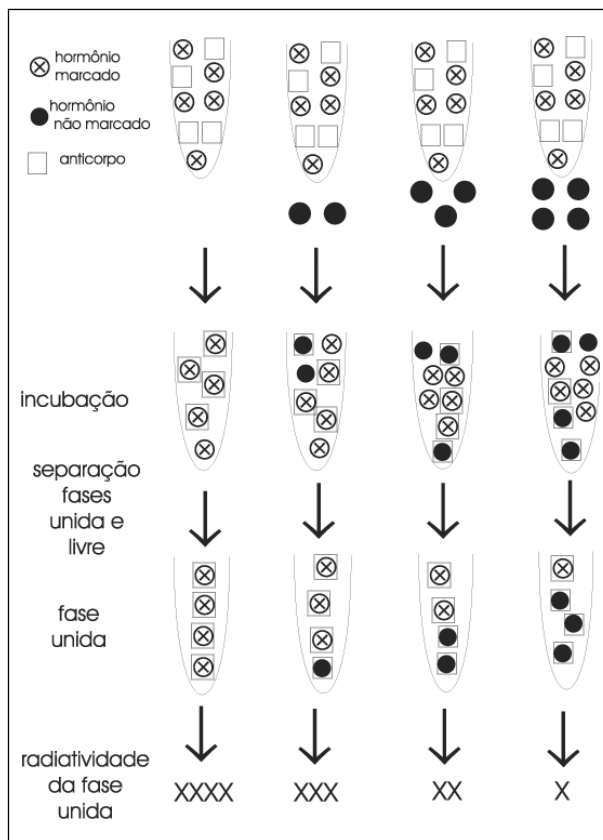


Figura 5 – Princípio do radioimunoensaio.

mônios foi uma difícil tarefa até o advento da técnica de radioimunoanálise (RIA).

A técnica de RIA foi desenvolvida por Yallow e Berson, em 1960, e é altamente sensível para determinar quantidades mínimas de muitos hormônios de forma bastante específica. O primeiro hormônio a ser dosado por essa técnica foi a insulina.

Os componentes do RIA compreendem (Figura 5):

(a) O hormônio (substância antigênica) marcado com um radioisótopo, sendo geralmente usado  $^3\text{H}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{57}\text{Co}$ , ou  $^{14}\text{C}$ .

(b) O hormônio a ser dosado, em quantidades conhecidas.

(c) O anticorpo específico contra o hormônio a ser medido, adicionado em uma concentração limitada, de forma a permitir a adequada concorrência entre os dois antígenos (hormônios), o marcado e não marcado.

(d) Um método de separação das fases unida e livre, isto é, do antígeno unido e do antígeno não unido ao anticorpo.

A radiatividade resultante do ensaio pode ser lida num contador da radiação específica, beta ou gama, que emite o isótopo.

A análise imunorradiométrica (IRMA) é uma técnica similar ao RIA, com a diferença que a marcação isotópica é feita no anticorpo ao invés do antígeno. O antígeno não marcado se liga a um material inerte, como celulose, para que reaja com os anticorpos marcados. O IRMA possui grande sensibilidade e precisão. O isótopo usado com maior frequência é o  $^{125}\text{I}$ .

Uma técnica posteriormente desenvolvida como uma variação do RIA, e para diminuir o uso de substâncias radiativas como marcadores, foi a enzimoimunoanálise (ELISA), que dispensa a utilização de radioisótopos, os

quais implicam certo risco, e utiliza em seu lugar enzimas como marcadores. Os primeiros trabalhos que mencionam a marcação de antígenos ou anticorpos com enzimas foram os de Nakore e Pierce, em 1966, que usaram para localizar antígenos virais em tecidos. Na década de 1970, foram introduzidos ensaios imunoenzimáticos para medir hormônios com sensibilidade similar ao RIA.

No ELISA, os compostos marcados podem ser tanto os antígenos quanto os anticorpos. A marcação consiste na união à molécula competitiva de uma enzima cujo produto de reação seja determinável fotométrica ou fluorometricamente. Existem vários tipos de ELISA, mas em todos eles os componentes do ensaio devem estar imobilizados num suporte imunoabsorvente.

Os diferentes tipos de ELISA incluem:

(a) ELISA direto, no qual o antígeno é fixado ao suporte e o anticorpo é marcado com a enzima.

(b) ELISA indireto, no qual o antígeno também é fixado ao suporte, mas são usados dois tipos de anticorpos, um específico contra o antígeno e outro anti-anticorpo (anti IgG) ao qual se conjuga a enzima.

(c) ELISA *sandwich*, no qual o anticorpo é fixado ao suporte, e o antígeno é adicionado posteriormente para reagir com o anticorpo. Depois é adicionado anticorpo livre do mesmo tipo do fixado, porém conjugado com a enzima.

A enzima mais utilizada no ELISA é a peroxidase, tendo como substrato a ortofenildiamina (OPA), cuja hidrólise forma um composto amarelo quantificável por espectrofotometria no comprimento de onda 450 nm.

Outra técnica envolve a utilização de substâncias quimioluminescentes ou fluorescentes

como marcadores, como é o caso da quimioluminescência e a fluorimunoanálise (FIA). Exemplos de substâncias fluoróforas são o európio, elemento classificado como lantânido (terras raras), e o isotiocianato de fluoresceína.

Os princípios da reação do FIA são similares às imunoenálises, com a diferença que no FIA o marcador ligado ao anticorpo é uma substância fluorescente, ou seja, tem a propriedade de absorver luz a determinado comprimento de onda e emitir luz a um comprimento de onda maior. Cada substância fluorescente tem um espectro de absorção e um espectro de emissão. A leitura do sinal deve realizar-se em um espectrofotômetro de fluorescência. O FIA tem alta sensibilidade potencial, mas pode diminuir pelo efeito opacador (*quenching*) da água. Para evitar isso, são adicionadas soluções formadoras de micelas que protegem o composto a ser lido. Um dos fluoroensaios mais usados é o desenvolvido pelo laboratório Pharmacia, que utiliza o európio (Delfia).

## HORMÔNIOS HIPOTÁLAMO-HIPOFISIÁRIOS

Galeno foi o primeiro a descrever anatomicamente a hipófise, mencionando como função a secreção de muco e como “fonte de um dos 4 humores”. Vesalius, grande crítico de Galeno, que viveu 14 séculos depois, ainda concordava com esse conceito e chamou o órgão de *glans cerebri pituitam excipiens*, donde deriva o termo pituitária. Soemmerring, em 1778, propõe o termo hipófise. Em 1838, Rathke descreve a anatomia e a embriologia da hipófise sendo complementado por Hannover, em 1843, que descreve os tipos de células cromóforas, acidófilas e basófilas.

As primeiras hipofisectomias foram feitas por Hursley, em 1886, seguido por Caselli, em 1900, e Aschner, em 1909, mas é Paulesco, em 1908, quem assinala que a extirpação do

lóbulo anterior da hipófise é mortal, mas não a do lóbulo posterior. Em 1909, Delille provou que a administração de extratos hipofisiários podem causar hipertrofia adrenal. Evans e Lang, em 1921, administrando extratos de lóbulo anterior hipofisiário, observaram aumento do crescimento em ratos, sugerindo a presença de um hormônio do crescimento nesta glândula.

Zondik e Aschheim, em 1926, induziram a puberdade em ratas imaturas, mediante transplantes de lóbulo anterior hipofisiário, e propuseram a existência de dois hormônios, que chamaram de prolan A e prolan B, e que foram posteriormente chamados folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH) respectivamente, pelo grupo de Feevola em 1930.

Vários autores mostraram a relação entre a hipófise e a tireoide. Uhlenhuth e Schwartzbach, em 1928, viram que a atrofia tireoidiana causada por hipofisectomia era revertida com extratos hipofisiários. Leeb e Basset, um ano depois, assinalaram que a injeção de tais extratos em forma repetida causava mudanças histológicas compatíveis com o hipertireoidismo.

O grupo de Riddle, em 1932, isolou da hipófise um hormônio lactogênico que foi chamado de prolactina e, no mesmo ano, Zondek e Krohn identificaram o MSH, que foi chamado inicialmente de intermedina. O último hormônio da adeno-hipófise a ser descoberto foi o ACTH, por parte de Collip, em 1933. No final da década de 1930, ficou estabelecida a função integradora da hipófise sobre várias funções endócrinas e a proposta de uma regulação bidirecional. Em 1935, uma comissão internacional acordou uma nomenclatura para todos os hormônios hipofisiários.

O lóbulo posterior da hipófise foi motivo de estudo depois de sua identificação feita por Santorini, em 1824. Luscka, em 1860, reconheceu sua natureza nervosa e

propôs o nome de neuro-hipófise, enquanto que Ramón y Cajal, em 1894, estabeleceu suas conexões com o hipotálamo.

Oliver e Schafer, em 1895, observaram uma ação vasopressora causada por extratos de hipófise, sendo esta ação identificada na hipófise posterior, três anos depois, por Howell. Em 1901, Magnus e Schafer descreveram o efeito antidiurético da neuro-hipófise. Dale, em 1909, demonstrou sua ação ocitócica, e Ott e Scott, em 1910, sua ação lactogênica.

O grupo de Kamm, em 1928, conseguiu separar duas frações da neuro-hipófise, uma com atividade vasopressora e antidiurética, e outra com ação ocitócica. Bargmann e Scharrer, em 1951, formularam a hipótese de que os hormônios da neuro-hipófise eram de origem hipotalâmica e que eram transportados via nervosa até a neuro-hipófise. Lederis, em 1962, localizou os sítios de síntese dos hormônios da neuro-hipófise como sendo o núcleo paraventricular para a ocitocina e o núcleo supraóptico para a vasopressina.

Em meados do século XX, foi sugerido o papel regulador do hipotálamo, considerando todos os achados anteriores e a relação sanguínea portal existente entre o hipotálamo e a hipófise, a qual foi descrita por Popa e Fielding. Mais tarde, Harris propõe a relação humoral hipotálamo-hipofisiária. Posteriormente, começaria a identificação dos fatores hipotalâmicos que regulam a ação hipofisiária.

## Hipotálamo

O eixo hipotálamo-hipofisiário é a unidade funcional de integração dos sistemas nervoso central e endócrino, a qual regula importantes funções metabólicas responsáveis pelo crescimento, a lactação, a reprodução e o equilíbrio hídrico.

O hipotálamo é uma parte especializada do sistema nervoso central localizado na

base do cérebro, acima e atrás do quiasma óptico. A hipófise está localizada diretamente abaixo do hipotálamo. Os elementos celulares hipotalâmicos que regulam a secreção da hipófise anterior não estão localizados em regiões específicas. Porém, os núcleos supra-óptico e paraventricular foram identificados como os mais importantes.

Os hormônios secretados pelo hipotálamo são chamados de transdutores neuroendócrinos, uma vez que eles transformam os impulsos nervosos em sinais hormonais. Alguns hormônios hipotalâmicos estimulam a pituitária anterior (fatores de liberação), enquanto outros são inibitórios. Após a estimulação, a hipófise anterior secreta hormônios que vão via sanguínea para os órgãos-alvo secundários, os quais incluem o córtex adrenal, a glândula tireoide, as gônadas e as ilhotas do pâncreas. Essas glândulas, por sua vez, ao serem estimuladas pelos hormônios hipofisiários, secretam hormônios que vão pelo sangue até seus respectivos órgãos-alvo finais.

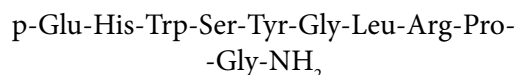
Os hormônios liberadores ou inibidores ficam armazenados em terminais nervosos na eminência média do hipotálamo, onde suas concentrações são de 10 a 100 vezes maiores do que em outros lugares. O sistema portal hipotálamo-hipofisiário não é compartimentado, de forma que todos os hormônios hipotalâmicos chegam a todos os tipos de células da hipófise. A especificidade da resposta é obtida pela presença de receptores nas células da adeno-hipófise.

Em contraste com outras zonas do cérebro, a barreira hemato-encefálica na área da eminência média é incompleta, permitindo a passagem de peptídeos e proteínas, bem como de outras moléculas com carga elétrica, desde os espaços intercapilares até os terminais nervosos, os quais respondem a estímulos tanto humorais (hormônios) como neuronais.

A seguir, os principais hormônios hipotalâmicos.

## GnRH

O GnRH (Hormônio Liberador de Gonadotropinas) foi isolado e caracterizado em 1971, por Schally e Guillemin. Inicialmente acharam que o GnRH estimulava tão somente a secreção do LH, e por essa razão também foi chamado de LHRH, mas posteriormente foi esclarecido que uma só substância estimula a secreção tanto do FSH quanto do LH. A sequência de aminoácidos do GnRH foi esclarecida por Matsuo, em 1971, como sendo o seguinte decapeptídeo:



O GnRH tem dois tipos de secreção, uma tônica e outra cíclica. Esta última opera apenas em fêmeas após a puberdade. A secreção do GnRH é estimulada por dopamina e noradrenalina e inibida pela serotonina. Seu mecanismo de ação sobre as células gonadotrópicas da hipófise ocorre através de cAMP e de cálcio. O cAMP provoca o aumento do nível de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, causando contração de microfilamentos que direcionam os grânulos de secreção contendo o hormônio para a periferia da célula, para ser liberada no sistema portal hipotálamo-hipofisiário. Este mecanismo de ação opera para todos os hormônios liberadores hipotalâmicos.

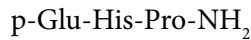
A secreção dos hormônios liberadores hipotalâmicos é modulada pelos níveis dos hormônios secretados nos órgãos-alvo primários e secundários. No caso do GnRH, o controle de secreção é feito pelas próprias gonadotropinas hipofisiárias (LH, FSH) e pela progesterona e o estradiol, na fêmea, e a testosterona, no macho.

A busarelina e o fertirelin são agonistas sintéticos do GnRH, obtidos por substituições de aminoácidos nas posições 3, 6 e 9. Esses compostos são utilizados com fins terapêuticos na prática veterinária, sendo 17 vezes mais potentes que o GnRH natural, devido a sua menor taxa de degradação.



## TRH

O TRH (Hormônio Liberador de Tireotropina) é o menor hormônio peptídico conhecido, estando constituído pelos seguintes 3 aminoácidos:



O TRH estimula a liberação de tireotropina (TSH), somatotropina (GH) e prolactina (PRL) na hipófise, e sua secreção é inibida pelos hormônios tireoidianos ( $T_3$  e  $T_4$ ) e pela TSH. Seu mecanismo de ação é através do cAMP.

## CRH

O CRH (Hormônio Liberador de Corticotropina) é um peptídeo de 41 aminoácidos. Foi o primeiro fator liberador extraído do hipotálamo, embora sua estrutura fosse elucidada somente em 1981, por Spiess. Sua secreção é estimulada por serotonina e acetilcolina e inibida por noradrenalina e pelo ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA). O CRH provoca a liberação, nas células corticotrópicas da hipófise, de ACTH,  $\beta$  lipotropina e  $\beta$  endorfina, tendo também características de neurotransmissor, pois altera o nível de excitabilidade dos neurônios do sistema nervoso central.

## Somatocrinina

A somatocrinina, também chamada de GHRH ou SRH (Hormônio Liberador de Somatotropina), foi isolada por Deuben e Maites, em 1964, e caracterizada por Guillemin, em 1981, como um peptídeo de 35 a 44 aminoácidos, variando em função da espécie. A somatocrinina estimula a secreção de GH, sendo inibida por este mesmo hormônio (feedback negativo). Sua secreção é estimulada por dopamina, serotonina, adrenalina e noradrenalina, estando afetada pela idade. A frequência e a amplitude de sua se-

creção são maiores até a puberdade. A somatocrinina, junto com a somatostatina, constituem o controle primário da secreção de GH.

## Somatostatina

A somatostatina (SRIF) é um peptídeo de 14 aminoácidos que tem ação oposta à somatocrinina, isto é, inibe a secreção de GH. Parece que atua inibindo o sistema adenilciclase e/ou por alteração da permeabilidade ao  $Ca^{2+}$  ou a outros íons. Existe a hipótese de que a somatostatina é liberada em situações de estresse para equilibrar a secreção dos hormônios do estresse (GH, TSH, ACTH, insulina, glucagon e prolactina). A somatostatina também pode ser encontrada no trato gastrointestinal, onde inibe a secreção dos hormônios gastrina e secretina e das enzimas digestivas pepsina e tripsina. Também é secretada pelo pâncreas, onde parece que regula o metabolismo da glicose, por inibir a secreção de insulina e glucagon.

## PRF e PIF

Os fatores PRF e PIF (Fatores Liberador e Inibidor de Prolactina) controlam a biossíntese e a secreção da prolactina. O efeito inibitório parece prevalecer durante o estado basal através do PIF, o qual foi identificado como sendo a dopamina, uma amina biogênica que atua como neurotransmissor. A secreção de prolactina também é estimulada por neurotensina, substância P, histamina, serotonina e agentes  $\alpha$ -adrenérgicos. A TRH tem sido pesquisada como o fator liberador da prolactina por estimular a secreção de prolactina. Os estrógenos também estimulam a secreção de prolactina, por inibir a dopamina.

A dopamina constitui o único fator hipotalâmico não peptídico e parece atuar

impedindo a mobilização de  $\text{Ca}^{2+}$  no interior da célula lactotrópica secretora da prolactina na adenohipófise. A amamentação parece inibir a secreção da dopamina aumentando, portanto, os níveis de prolactina. A prolactina, por sua vez, provoca a liberação de dopamina da eminência média, constituindo uma regulação feedback negativa.

#### MRF e MIF

Os fatores MRF e MIF (Fatores Liberador e Inibidor de Melatropina) são importantes nos vertebrados inferiores para controlar a secreção do hormônio estimulante de melanina (MSH) do lóbulo intermediário da hipófise, hormônio que controla a fixação e a distribuição dos pigmentos.

#### Neurotransmissores

Os principais sistemas neurotransmissores para a comunicação intercelular no SNC são as monoaminas e os peptídeos. Os neurotransmissores podem ser liberados diretamente no sistema portal hipotálamo-hipofisiário, por neurônios, para modificar o efeito dos hormônios hipotalâmicos na hipófise.

Algumas aminas biogênicas atuam como neurotransmissores regulando o sistema hipotálamo-hipofisiário, incluindo as catecolaminas (dopamina, adrenalina e noradrenalina), as indolaminas (serotonina, melatonina), a acetilcolina, o ácido gama aminobutírico (GABA) e a histamina.

Têm sido encontrados mais de 50 peptídeos no SNC, muitos dos quais atuam como neurotransmissores, com efeito sobre o eixo hipotálamo-hipofisiário, estando amplamente distribuídos, tanto em áreas hipotalâmicas quanto extra-hipotalâmicas. Entre os mais importantes destacam-se os seguintes:

(a) Substância P: decapeptídeo associado a mecanismos de dor.

(b) Neurofisinas: polipeptídeos, ricos em cisteína, que transportam ocitocina e vasopressina do hipotálamo para a hipófise posterior.

(c) Neurotensina: peptídeo de 30 aminoácidos com ação sistêmica sobre a liberação de histamina, o controle da pressão arterial (hipotensivo), o controle da glicemia (hiperglicemiante) e os movimentos do trato gastrointestinal.

(d) VIP (Peptídeo Intestinal Vasoativo): peptídeo de 28 aminoácidos que causa vasodilatação, sendo também hiperglicemiante e lipolítico. Também aumenta a excreção de água no intestino.

(e) Angiotensina II: octapeptídeo derivado por degradação enzimática do angiotensinogênio, o qual é produzido no fígado. É vasoconstritor e regula o volume e a pressão vascular, por estimulação da secreção de aldosterona no córtex adrenal.

(f) Colecistoquinina (CCK): peptídeo de 33 aminoácidos que também é secretado no intestino. É estimulador da secreção pancreática e está envolvido no mecanismo da fome por controlar o centro da saciedade.

Outros peptídeos neurotransmissores incluem a gastrina, a bombesina, as encefalinas, o peptídeo natriurético atrial e o neuropeptídeo Y.

## Hipófise

A hipófise ou pituitária é uma estrutura altamente complexa, com grupos celulares que sintetizam diferentes tipos de hormônios. Está dividida em três segmentos:

(a) Adeno-hipófise ou hipófise anterior, contendo grupos de células acidófilas, basófilas e cromóforas, as quais diferem entre si pela

reação com corantes histoquímicos dependentes de pH.

(b) Neuro-hipófise ou hipófise posterior, a qual difere embriológica, histológica e funcionalmente da adeno-hipófise.

(c) Lóbulo intermediário.

A neuro-hipófise (*pars nervosa*) origina-se do infundíbulo do cérebro e está unida a este pelo talo infundibular. A adeno-hipófise (*pars distalis*) origina-se do teto da boca primitiva, a partir de uma invaginação chamada duto crâniofaríngeo ou bolsa de Rathke. Esta bolsa está separada da cavidade oral por uma constricção. O lóbulo intermediário (*pars intermedia*) origina-se a partir da bolsa de Rathke e separa a *pars nervosa* da *pars distalis*. Em anfíbios e répteis, a *pars intermedia* é importante nas mudanças de coloração da pele que ocorrem como adaptação ao meio, mediante o hormônio MSH. Nos mamíferos, a sua função está relacionada com a regulação nervosa, através de substâncias opioides. A *pars intermedia* não está desenvolvida no humano nem nas aves.

#### Adeno-hipófise

Os hormônios da adeno-hipófise são produzidos por estímulo de hormônios liberados pelo hipotálamo que descarregam sua secreção neuronal sobre os capilares da eminência média, os quais são drenados pelo sistema portal hipotálamo-hipofisiário e, através do caule pituitário, atingem os sinusoides da adeno-hipófise.

Os hormônios da adeno-hipófise podem ser divididos em três grupos:

(a) Derivados da pro-opiomelanocortina (POMC), produzidos pelas células cromóforas, que incluem a corticotropina (ACTH), as  $\alpha$  e  $\beta$  lipotropinas (LPH), as  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  endorfinas (END), a Met-encefalina e a Leu-ence-

falina, a melanotropina (MSH) e o peptídeo do lóbulo intermediário similar à corticotropina (CLIP).

(b) Hormônios glicoproteicos produzidos pelas células basófilas que incluem o hormônio luteinizante (LH), o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio tireotrópico (TSH).

(c) Hormônios promotores do crescimento e lactogênicos produzidos pelas células acidófilas que incluem a somatotropina ou hormônio do crescimento (GH) e a prolactina (PRL).

#### Hormônios derivados do POMC

As células corticotrópicas da adeno-hipófise e as melanotrópicas da *pars intermedia* podem sintetizar o precursor pro-opiomelanocortina (POMC), o qual origina um grupo de hormônios. A secreção de POMC é estimulada pela CRH e por estresse (hemorragias, dor, temperaturas extremas, fome, febre), através dos neurotransmissores histamina e acetilcolina, sendo inibida pelos glicocorticoides, mediante feedback negativo, e pela noradrenalina e o GABA. A vasopressina também estimula a secreção de ACTH de forma sinérgica com o CRH.

O POMC possui dois grandes fragmentos, um fragmento N-terminal e outro fragmento 16K, que sofre modificações pós-tradução. A partir do fragmento 16K, cujos primeiros 24 aminoácidos são comuns a todas as espécies, são originadas a corticotropina (ACTH, aminoácidos 1-39) e a  $\beta$ -lipotropina ( $\beta$ -LPH, aminoácidos 1-91). Desta última fração, nas células melanotrópicas, são originados por proteólises sucessivas a melanotropina ( $\alpha$ -MSH, aminoácidos 1-13), o peptídeo do lóbulo intermediário similar à corticotropina (CLIP, aminoácidos 18-39), a  $\gamma$ -lipotropina ( $\gamma$ -LPH, aminoácidos 1-58)

e a  $\beta$ -endorfina ( $\beta$ -END, aminoácidos 61-91). Da  $\gamma$ -lipotropina pode ser originado o  $\beta$ -MSH (aminoácidos 41-58), ao passo que da  $\beta$ -END se originam a  $\gamma$ -END (aminoácidos 61-77), a  $\alpha$ -END (aminoácidos 61-76) e a Met-enkefalina (aminoácidos 61-65). A concentração plasmática de alguns derivados do POMC é mostrada na Tabela 1.

Os sítios de proteólise estão sinalizados por sequências Lys-Lys ou Lys-Arg. A liberação de derivados do POMC na *pars intermedia* obedece a um controle neural, com inibição dopaminérgica e estimulação  $\beta$ -adrenérgica e não obedecem à supressão por parte de glicocorticoides, devido à ausência de receptores para estes hormônios.

O ACTH tem 39 aminoácidos e é liberado por pulsos frequentes (secreção episódica), com uma média de 9 picos em um período de 24 horas. O CRH e a vasopressina, que estimulam a secreção de ACTH, atuam mediante cAMP e fosfatidil-inositol, respectivamente.

Os corticoides sintéticos, como a dexametasona, inibem a secreção de ACTH diretamente na hipófise anterior, mediante a inibição da transcrição do gene de POMC. Os opiáceos endógenos (Met-enkefalina, dinorfina,  $\beta$ -END) inibem a liberação de ACTH. Existe uma modulação da secreção de ACTH que obedece a um ritmo circadiano, de forma que a secreção aumenta com o estímulo da luz.

A função do ACTH é estimular a secreção de glicocorticoides nas zonas fasciculada e reticular do córtex adrenal. O ACTH praticamente não atua sobre a zona glomerular do córtex adrenal, de forma que a secreção de mineralocorticoides não está sob seu controle. Nessa zona opera o sistema renina-angiotensina-aldosterona.

O efeito do  $\alpha$ -MSH nos mamíferos não está elucidado. Tem sido observado que este

composto estimula a regeneração de nervos. Também foi encontrado  $\alpha$ -MSH na pituitária fetal, onde parece ter função na regulação do crescimento intrauterino.

O CLIP tem efeito estimulador *in vitro* sobre a síntese de DNA adrenal, isto é, estimula o crescimento do córtex adrenal. A principal ação do  $\beta$ -LPH é a mobilização de triglicerídeos do tecido adiposo (lipólise).

A  $\beta$ -END é um opiáceo endógeno com potente ação morfínomimética. É produzida também no hipotálamo. Acredita-se que os peptídeos opiáceos cerebrais regulam a secreção de vários hormônios. Assim, estimulam a secreção de prolactina e inibem a liberação de ocitocina. É possível que inibam também a secreção de gonadotropinas. Os níveis de  $\beta$ -END são elevados pelo estresse ou pelo exercício físico forte.

#### Transtornos das células corticotrópicas

Em cães, especialmente velhos, ocorrem neoplasias das células corticotrópicas hipofisiárias, provocando uma síndrome clínica de excesso de cortisol tipo Cushing e causando uma hipertrofia do córtex adrenal. As raças Boxer e Terrier são as mais suscetíveis a

TABELA 1 - CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE DERIVADOS DO POMC (PG/ML)

Espécie	Hormônio		
	ACTH	$\alpha$ -MSH	$\beta$ -END
Canino	0,97-4,84	4,32 $\pm$ 0,36	0,43-5,04=
Equino	1,54 $\pm$ 0,24	8,64 $\pm$ 1,2	5,3 $\pm$ 1,27
Felino	0,97-2,95	...	...
Ovino	3,1 $\pm$ 0,15	0-2,52	...

Nota: Sinal convencional utilizado:  
... Dado numérico não disponível

esses tumores. Nesses casos, a ação lipolítica provoca uma redistribuição centrípeta do tecido adiposo, o que causa engrossamento das extremidades, o pescoço e os ombros. Também há grande aumento da gliconeogênese, o que está relacionado com um apetite voraz. A ação catabólica das proteínas, devido à atividade gliconeogênica, leva a enfraquecimento e atrofia dos músculos das extremidades e do abdome, causando dilatação abdominal, lordose, tremores musculares e tensão esquelética para suportar o peso do corpo (postura de patas retas). A hepatomegalia, como consequência da deposição exagerada de gordura, contribui ao aumento a distensão abdominal.

Em cavalos, geralmente velhos, ocorrem adenomas da *pars intermedia* da hipófise, com aumento na secreção de POMC e de todos seus derivados causando hiperadrenocorticismos. Clinicamente o animal apresenta hirsutismo (excesso de pelo), além de poliúria, polidipsia, apetite voraz, fraqueza muscular e sonolência.

#### Hormônios glicoproteicos

Os hormônios glicoproteicos da hipófise compreendem as gonadotropinas (FSH/LH) e a tireotropina (TSH). Os hormônios luteinizante (LH) e folículoestimulante (FSH) são glicoproteínas que possuem duas cadeias polipeptídicas chamadas subunidades  $\alpha$  e  $\beta$ , as quais estão unidas por ligações não covalentes. A sequência de aminoácidos da subunidade  $\alpha$  de LH, FSH e TSH é igual em todas as espécies (92 aminoácidos), podendo existir diferenças no conteúdo de carboidratos. A subunidade  $\beta$  é diferente para cada espécie, sendo a responsável pelas características biológicas e imunológicas. As subunidades de forma separada não são biologicamente ativas.

As placentas da égua e da mulher sintetizam gonadotropinas com características similares às gonadotropinas hipofisiárias. Estas gonadotropinas placentárias são a eCG

(gonadotropina coriônica equina), também chamada PMSG (gonadotropina de soro de égua prenhe), e a hCG (gonadotropina coriônica humana). Esses hormônios atuam sobre as células gonadais estimulando a biosíntese dos hormônios esteroidais.

Cada subunidade das gonadotropinas possui duas cadeias de oligossacarídeos unidos por ligações N-glicosídicas, sendo suas unidades monossacarídicas mais comuns manose, glicosamina, fucose e ácido siálico. Este último é o responsável pela meia-vida do hormônio, uma vez que, antes da degradação do hormônio, deve ocorrer a remoção dos resíduos de ácido siálico. Assim, quanto maior é a proporção de ácido siálico, maior é a meia-vida do hormônio (Tabela 2). A cadeia  $\alpha$  das gonadotropinas tem entre 115 a 147 aminoácidos, dependendo da espécie. As cadeias  $\alpha$  de hCG e eCG são maiores em número de aminoácidos e em conteúdo de carboidratos que as gonadotropinas hipofisiárias.

A secreção das gonadotropinas está sob controle da GnRH hipotalâmico, obedecendo a uma modulação feedback negativa por parte dos esteroides gonadais (estrógeno e progesterona na fêmea, testosterona no macho). A secreção basal das gonadotropinas é pulsátil, sendo interrompida por um pico massivo de LH durante o estro nos mamíferos com ovulação espontânea. Esse pico de LH é disparado por um pico de GnRH hipotalâmico, o qual, por sua vez, é causado por um aumento na liberação de  $17\beta$ -estradiol durante o período do proestro (feedback positivo). Os opioides exógenos causam diminuição tanto da frequência quanto da altura dos picos de secreção de LH. No macho, o feedback negativo da testosterona sobre o LH depende de sua aromatização a estradiol no cérebro. A inibina, hormônio glicoproteico secretado pelas gônadas (células de Sertoli do testículo, células da granulosa do ovário), causa inibição específica sobre a secreção de FSH da hipófise.

O FSH na fêmea causa o crescimento e a maturação dos folículos ováricos, e no macho participa, junto com a testosterona, no estímulo para a espermatogênese. O LH provoca a ovulação e a manutenção do corpo lúteo e estimula, junto com o FSH, a secreção de esteroides, tanto no ovário (estrógenos antes da ovulação e progesterona no corpo lúteo) quanto no testículo (testosterona nas células de Leydig).

A tireotropina (TSH) é secretada pelas células tireotrópicas da hipófise anterior e tem duas subunidades,  $\alpha$  e  $\beta$ , similarmente às gonadotropinas unidas por várias pontes dissulfeto intercatenários e contendo oligossacarídeos em sua molécula. Seu peso molecular médio é de 30 kDa, existindo uma considerável variação da cadeia  $\beta$  entre espécies. A secreção do TSH é estimulada por TRH, estrógenos, progesterona, frio e estresse e é inibida por somatostatina, dopamina, glicocorticoides e hormônios tireoidianos. A secreção de TSH é modulada pelos hormônios tireoidianos em um feedback negativo. A inibição primária de  $T_3$  e de  $T_4$  é sobre a hipófise anterior e, em menor grau, sobre o hipotálamo.

O TSH não tem efeito sobre as células para-foliculares da tireoide (células C) e, portanto, não regula a secreção da calcitonina, hormônio produzido por essas células,

cuja secreção é regulada pelos níveis sanguíneos de cálcio. O TSH atua sobre as células foliculares tireoidianas, afetando múltiplas vias metabólicas, como a glicólise, a via das pentoses-fosfato, o ciclo de Krebs, a síntese de fosfoglicerídeos e esfingolipídeos, a síntese de mRNA e proteínas, a síntese de prostaglandinas, a captação de aminoácidos e o consumo de oxigênio. Funcionalmente, o TSH incrementa a atividade secretora e biossintética das células foliculares da tireoide, estimulando três processos: (a) a captação de iodeto pela glândula, (b) a produção e liberação de  $T_3$  e de  $T_4$ , e (c) a proteólise da tireoglobulina. O TSH estimula a produção de cAMP para que atue como segundo mensageiro. Por outro lado, o  $Ca^{2+}$  intracelular pode modular o efeito biológico do TSH via fosfatidil-inositol.

#### Hormônios promotores do crescimento e lactogênicos

##### Hormônio do crescimento (GH)

O hormônio do crescimento ou somatotropina (GH) é sintetizado nas células somatotrópicas da adenohipófise. Tem 191 aminoácidos em uma cadeia só, com peso molecular de 22 kDa e sequência de aminoácidos que varia com a espécie, sendo similar à

TABELA 2 - CONTEÚDO DE GLICÍDEOS E MEIA-VIDA DAS GONADOTROPINAS

Hormônio	Peso molecular	Glicídeos (%)	Ácido siálico (%)	Meia-vida (horas)
LH	28.500	16	1-2	0,5
FSH	34.000	30	5	2
hCG	36.700	32	8,5	11
eCG	68.000	48	10,4	26

prolactina (PRL) e ao lactogênio placentário. A similaridade estrutural entre GH e PRL (família de hormônios somatolactotrópicos) leva a crer que provenham de um mesmo gene ancestral. A secreção de GH é estimulada pela somatocrinina (GHRH) e por uma série de estímulos não específicos, como estresse, exercício físico, jejum ou sono. O TRH estimula a secreção de GH, atuando em forma fortemente sinérgica com GHRH. A secreção de GH é inibida pela somatostatina (SRIF), catecolaminas, somatomedinas, excesso de corticoides e pelo hipotireoidismo. A diminuição da concentração de glicose sanguínea estimula a secreção de GHRH e, portanto, de GH. A insulina, sendo hipoglicêmica, provoca incremento na secreção de GH. O GH parece ser liberado a uma taxa constante durante a vida do animal, embora o crescimento esquelético pare depois da puberdade. Em geral, o GH é liberado em forma pulsátil, declinando com a idade.

Os efeitos do GH podem ser divididos em duas categorias:

(a) Ações rápidas ou metabólicas, devido à interação direta do GH com suas células-alvo que resultam em lipólise no tecido adiposo e diminuição da utilização de glicose, mediante resistência das células à insulina.

(b) Ações lentas ou indiretas sobre cartilagem, osso e outros tecidos mediante as somatomedinas (IGFs: Insulin-like Growth Factors), os quais são fatores de crescimento sintetizados no fígado.

A estrutura química dos IGFs tem aproximadamente 50 % de similaridade com a insulina, o que sugere que os dois compostos provêm de um gene ancestral comum. Os IGFs são peptídeos que, contrariamente à maioria dos hormônios peptídicos, são transportados no sangue mediante proteínas, o que lhes permite uma meia-vida mais longa, coerente com sua ação promotora de crescimento. A insulina e os IGFs parecem complementar-se em sua ação. A insulina

tem uma ação rápida, e os IGFs, uma regulação a longo prazo dos processos anabólicos. Entretanto, os receptores de IGFs são diferentes daqueles da insulina, existindo dois tipos de receptores diferenciados para IGF-I e IGF-II. O crescimento é estimulado pelas duas formas de ação da GH, tanto direta quanto indiretamente, através dos IGFs. A meia-vida do GHRH é de 1 hora, do GH é de 9-16 minutos e dos IGFs é de 3-20 horas.

O GH tem regulação direta sobre várias vias metabólicas:

(a) Favorece a captação de aminoácidos e a biossíntese de proteínas nas células, aumentando a retenção de nitrogênio no organismo e ativando genes específicos para aumentar a síntese de proteínas.

(b) Favorece a lipólise, a mobilização e a oxidação dos ácidos graxos.

(c) Desfavorece a utilização da glicose e a síntese de glicogênio, ou seja, é hiperglicemiante.

(d) Aumenta a retenção de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  nos túbulos renais, aumenta o fluxo de plasma renal e a filtração glomerular.

(e) Tem ação sinérgica com ACTH, TSH e FSH/LH sobre as funções da mamogênese e da lactogênese.

O uso de GH produzido por tecnologia do DNA recombinante em vacas leiteiras (rBST) aumenta a produção de leite em 20-25 %. Em humanos, o GH recombinante se usa terapêuticamente para casos de nanismo.

Como a secreção de GH é pulsátil, a determinação de concentrações em forma isolada não tem valor diagnóstico. Os níveis basais, que normalmente podem ser baixos (Tabela 3), podem ser estimulados com clonidina, xilazina, GHRH ou TRH. Valores elevados podem ser atribuídos à secreção pulsátil natural ou a múltiplas causas ambientais, sem que implique falhas na pituitária.

## Prolactina (PRL)

A prolactina (PRL) ou hormônio lactogênico é sintetizado nas células mamotrópicas da adeno-hipófise. É o maior hormônio peptídico (199 aminoácidos, peso molecular 23,3 kD), considerando uma cadeia única. Existe grande variabilidade das PRLs entre espécies. Assim, por exemplo, a PRL do rato difere 40 % da PRL bovina. A meia-vida da PRL é de 15 minutos. A secreção da PRL é pulsátil, controlada por mecanismo inibitório através da dopamina. Sua secreção é estimulada por endorfinas, pois estas inibem a secreção de dopamina. Também se favorece sua secreção por PRE, TRH, estrógenos, progesterona e por estímulos neurogênicos, como a sucção do mamilo pelo lactente, a ordenha ou por sensações de calor, dor e estresse (Tabela 4).

Os estrógenos, especialmente 17 $\beta$ -estradiol, modulam os receptores de TRH, estimulando a secreção de PRL na hipófise e aumentando a transcrição do gene da PRL. A secreção de PRL pode ser inibida por deriva-

dos do ergot, como a bromocriptina, a qual é um agonista da dopamina. A PRL pode também regular sua própria secreção atuando diretamente sobre o hipotálamo (feedback de alça curta sobre TRH).

A PRL é secretada com flutuações durante os diferentes estados do ciclo reprodutivo. Além de um aumento durante a ovulação, ocorre também um aumento durante a fase luteal do ciclo ovariano na cadela e na vaca, mas não na gata. Também ocorrem grandes aumentos de PRL durante a lactação e no parto. A prolactina faz parte do complexo mamotrófico que promove o crescimento da glândula mamária, junto com GH, estradiol, progesterona, glicocorticoides e hormônios tireoidianos. Também faz parte do complexo lactogênico que mantém a lactação, junto com os hormônios anteriores, exceto progesterona, e adicionando insulina. A PRL tem outras ações nos vertebrados, podendo afetar o equilíbrio da água e dos eletrólitos, o metabolismo, a função gonadal e o comportamento.

TABELA 3 – NÍVEIS BASAIS SANGUÍNEOS DE GH (PG/ML)  
E SOMATOMEDINAS (NG/ML)

Hormônio	Espécie	Valor
GH	cão adulto	3,95 $\pm$ 0,27
	gato adulto	6,64 $\pm$ 1,45
	bezerro (3 dias)	22,75 $\pm$ 3,64
	novilho (10 meses)	31,67-67,47
	porco	3,32-11,78
	ovelha	6,23 $\pm$ 0,32
IGF-I	galinha (postura)	12,42 $\pm$ 0,22
	cão Cocker Spaniel	36 $\pm$ 27
	cão Pastor Alemão	280 $\pm$ 23
	bezerro (3 dias)	7,9 $\pm$ 0,5



TABELA 4 – NÍVEIS SANGUÍNEOS DE PROLACTINA  
EM ALGUMAS ESPÉCIES

<b>Espécie</b>	<b>Valor (ng/mL)</b>
Cadela (anestro)	9,1 ± 1,2
Cadela (2ª semana de lactação)	86 ± 19
Cadela (pré-parto)	117 ± 24
Cão	0,9 ± 10,5
Cadela (ovariectomizada)	7,9-11,5
Gata (início de gestação)	7,0 ± 0,3
Gata (fim de gestação)	43,5 ± 4,5
Vaca (fase luteal)	23,3 ± 4,8
Vaca (fase folicular)	15,8 ± 2,7
Porca (2ª semana de lactação)	9,1-26,1
Porca (pós-desmame)	1,4-1,9

A PRL tem efeito luteotrópico em muitos animais. Entretanto, na vaca a PRL não tem propriedades luteotrópicas durante o ciclo estral, como se observa na ovelha. Em vários animais, a PRL parece ter um efeito inibitório sobre a secreção das gonadotropinas hipofisiárias. Por esse motivo sugere-se que seja um hormônio antigonadotrópico, pois estimula a biossíntese de dopamina, a qual tem efeito negativo sobre a secreção de GnRH. A PRL tem sido responsabilizada pela ação inibitória da amamentação sobre o início da atividade ovariana pós-parto. Todavia, há evidências indicando que vacas em ordenha têm níveis de PRL maiores que vacas amamentando, sugerindo que o aumento na secreção de prolactina durante o pós-parto não é a causa do problema do anestro da lactação e que a possível via inibitória da atividade ovariana, nesse caso, seja neural via glândula mamária.

Por outro lado, tem sido utilizada bromocriptina, agonista da dopamina, em

doses de 80 mg, por três dias, com o intuito de desbloquear o suposto efeito da PRL sobre a ciclicidade ovariana, encontrando-se uma diminuição dos níveis de PRL (de 30 para 6,8 ng/mL), mas sem redução do intervalo do parto ao primeiro cio pós-parto e nem aumento do LH. Há maiores indícios que levam a aceitar que é o efeito do estímulo da amamentação como tal, e não o maior nível de PRL, o responsável pela supressão da secreção de gonadotropinas no pós-parto.

É possível que a PRL interfira diretamente em nível do ovário. Na cadela, a PRL parece influir para a manutenção de longos intervalos interestro. Quando cadelas são tratadas com bromocriptina, ocorre um considerável encurtamento do período interestro. Em algumas espécies de aves, a PRL induz comportamento materno, como construção de ninhos e atitudes para preparação do parto. Nestas espécies, a PRL estimula a proliferação e descamação do epitélio do papo, produzindo uma secreção chamada

“leite do papo” com importantes características nutritivas para os filhotes. Esta resposta da PRL na promoção do crescimento do papo é utilizada como bioensaio para estudar o efeito mitogênico deste hormônio. Nas aves, tem sido observada também uma alta secreção de PRL durante o período de incubação. A placenta de algumas espécies não carnívoras (cabra, ovelha, vaca, coelha, rata) produz um hormônio proteico com atividade similar à PRL e ao GH, chamado lactogênio placentário (PL) ou somatomotropina. O PL tem propriedades químicas, biológicas e imunológicas muito parecidas com a PRL, mas os fatores que regulam sua síntese e secreção são diferentes.

## Transtornos do hormônio do crescimento

### Nanismo pituitário

O nanismo pituitário (nanismo hipofisiário, hiposomatotropismo) é caracterizado como uma síndrome decorrente da deficiência congênita do hormônio do crescimento (GH), resultando em crescimento deficiente, nanismo, rarefação pilosa e manutenção da pelagem de filhote (lanugem). Esta condição é rara, sendo mais comum em cães da raça Pastor Alemão, associada a uma alteração recessiva autosômica, apesar de a síndrome ter sido relatada em cães de outras raças, bem como em gatos. Alguns autores associam a ocorrência do nanismo hipofisiário com a presença de cistos na hipófise, porém a síndrome pode ser decorrente de qualquer defeito no desenvolvimento embrionário da adeno-hipófise, resultando não só em deficiência de GH, mas na deficiência isolada ou conjunta de qualquer dos hormônios hipofisiários (TSH, prolactina, FSH e LH), exceto o ACTH. O defeito genético envolvido na patogênese do

problema possivelmente envolve alguma mutação em um gene chave para a diferenciação e expansão das células tronco hipofisiárias, após a diferenciação dos corticotrofos, motivo pelo qual não há secreção deficiente de ACTH.

### Apresentação e sinais clínicos

Os cães portadores de nanismo hipofisiário são de porte bastante pequeno, porém proporcionais, diferentemente de cães com hipotireoidismo congênito, que são desproporcionais. O diagnóstico é feito entre os 2 e 5 meses de idade, quando fica claro o subdesenvolvimento do cão em comparação aos irmãos de ninhada. A pelagem é macia e abundante pela manutenção da penugem e ausência de crescimento de pelos primários. No entanto, esta pelagem cai com grande facilidade e começa a surgir alopecia bilateral e simétrica no tronco, orelhas, cabeça e extremidades. A pele fica fina e, muitas vezes, hiperpigmentada, ocasionalmente associada a infecções bacterianas.

Apesar de inicialmente alertas, com o passar dos meses, de acordo com a evolução da deficiência de outros hormônios hipotalâmicos, os animais podem ir se tornando mais letárgicos, lentos e inapetentes, o que pode estar associado a hipotireoidismo e/ou hipoadrenocorticismo secundários e perda da função renal. Esses sinais tornam-se nítidos com cerca de 2 a 3 anos de idade ou mais cedo. Durante a ausculta cardíaca, pode-se evidenciar murmúrios cardíacos pela persistência do ducto arterioso.

Na avaliação inicial de pacientes suspeitos, deve-se investigar o paciente com relação a doenças não-hormonais que possam estar relacionadas à baixa estatura e a sinais clínicos, como má nutrição, doenças gastrointestinais, *shunts* portossistêmicos, doenças renais, insuficiência renal e doenças ósseas.

Não existem alterações específicas nos exames de rotina, podendo-se muitas vezes identificar a presença de azotemia por prejuízo ao desenvolvimento glomerular secundário à deficiência de GH e menor taxa de filtração glomerular pela deficiência de TSH, hipoalbuminemia e anemia. Os valores de  $T_4$  encontram-se reduzidos, associados a valores baixos de TSH. A detecção de valores baixos de IGF-1 no plasma é bastante sugestiva de deficiência de GH. Cães com nanismo apresentam valores baixos de IGF-1 (entre 6 e 10 nmol/L) em comparação a cães filhotes saudáveis que apresentam valores de IGF-1 superiores a 30 nmol/L. Contudo, para o diagnóstico definitivo é necessária a dosagem de GH sanguíneo em um teste de estimulação. Exames de imagens evidenciam o retardo no fechamento dos discos de crescimento dos ossos longos, importante na diferenciação do nanismo secundário ao hipotireoidismo congênito, no qual se observa um crescimento epifísario reduzido. Imagens de ressonância ou tomografia podem evidenciar cistos hipofisários.

O teste de estimulação de GH fornece um diagnóstico definitivo, apesar de serem escassos os ensaios validados para mensuração de GH canino. A determinação do GH deve ser feita antes, 15 e 30 minutos após a administração intravenosa de algum secretagogo do GH. A clonidina (10 µg/kg) é tida como um secretagogo de eleição. A xilazina (0,1 mg/kg) ou o GHRH (1 µg/kg) também podem ser aplicados. A resposta típica em cães com nanismo pituitário é uma concentração baixa de GH seguida de nenhum aumento significativo após a estimulação. Cães saudáveis aumentam a secreção de GH em no mínimo 2-4 vezes.

Não há um tratamento efetivo para os cães com nanismo pituitário. Apesar de não existir comercialmente GH canino para administração, pode-se usar GH humano, suíno ou bovino na dose de 0,1 a 0,3 UI/kg 3 vezes por semana por até 6 semanas. Contudo, este tratamento apresenta uma resposta fraca, uma vez que, por ser um GH heterólogo, ocorre a formação de anticorpos anti-GH que neutralizam seu efeito em longo prazo, além de causar complicações como a diabetes mellitus. Neste sentido, é fundamental mensurar semanalmente o GH, o IGF-1 e a glicemia. Muitos animais tratados não apresentam crescimento significativo se os discos de crescimento já se fecharam no momento do início do tratamento. A pelagem responde principalmente com o crescimento de pelos primários.

Alternativamente podem-se tratar cães com nanismo hipofisário utilizando progestágenos sintéticos, uma vez que essas substâncias estimulam a secreção endócrina de GH pela glândula mamária, tanto em machos como em fêmeas. A administração de acetato de medroxiprogesterona na dose de 2,5 a 5 mg/kg a cada 3 semanas inicialmente e posteriormente a cada 6 semanas resultou em crescimento de alguns animais, bem como crescimento de uma pelagem robusta de adulto, sem causar valores excessivos de GH no plasma, com menor incidência de efeitos colaterais. No entanto, a administração crônica de progestágenos está associada a uma série de efeitos indesejáveis como piodermite recidivante, prurido, anormalidades no esqueleto, tumores de mama e hiperplasia endometrial cística, além de acromegalia e diabetes mellitus. Nesta modalidade terapêutica é igualmente importante controlar periodicamente as concentrações de GH, IGF-1 e glicemia. Alguns animais poderão necessitar de reposição de tiroxina, caso fique evidente o desenvolvimento de hipotireoidismo secundário.

O prognóstico é pobre em razão dos efeitos colaterais do tratamento e desenvolvimento de deficiências hormonais secundárias. Por volta dos 3-5 anos de idade, os animais estão calvos, magros e apáticos, em decorrência de perda progressiva da função renal, expansão de eventuais cistos hipofisiários e da perda progressiva das demais funções pituitárias. Quase sempre os donos solicitam eutanásia quando essas complicações surgem e a administração de progestágenos associada ao manejo adequado das demais disfunções endócrinas e clínicas presentes resulta em melhor qualidade de vida para o paciente.

### Hipersomatotropismo

O hipersomatotropismo, também chamado de acromegalia ou gigantismo, é uma síndrome causada pela excessiva e crônica secreção do GH. O termo acromegalia se refere ao crescimento exagerado (*megalia*) das extremidades (*acros*) típico desta síndrome. Com excesso de GH ocorre um estímulo contínuo para o crescimento de ossos, cartilagens, tecido conjuntivo e vísceras, levando às síndromes clínicas de gigantismo e acromegalia. O gigantismo não foi documentado em cães e gatos, mas resulta de uma exposição a excesso de GH durante a infância, enquanto as epífises estão abertas. Nos pacientes com acromegalia, não acontece crescimento longitudinal de ossos longos, mas ossos membranosos como os da face, mandíbula, nariz e vértebras tendem a aumentar de tamanho.

A excessiva secreção de GH costuma estar associada a tumores hipofisiários secretores de GH, sendo mais comum em felinos, ou a elevadas concentrações endógenas ou exógenas de progestágenos, levando a maior secreção de GH pela glândula mamária, mais comum em cães. Nas fêmeas caninas, problemas que levem a excesso crônico de progesterona (diestros repetidos e prolongados em cade-

las idosas, administração de progestágenos como inibidores de estro), causam indução da expressão de GH pela glândula mamária. O GH mamário é estruturalmente idêntico ao GH hipofisiário e fisiologicamente teria um efeito mais local sobre a glândula mamária, preparando-a para a lactação ao fim do diestro. Filogeneticamente, GH e prolactina são hormônios análogos. Nos felinos a origem do hipersomatotropismo está mais relacionada a tumores hipofisiários, similarmente ao problema em humanos. No entanto, apesar de progestágenos induzirem a síntese de GH pela glândula mamária de felinos, nesta espécie, a produção de GH mamário não chega a atingir níveis sanguíneos a ponto de levar a estados clínicos de acromegalia.

As principais complicações associadas a acromegalia envolvem a intensa resistência à insulina e diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, insuficiência cardíaca secundária à cardiomiopatia hipertrófica, problemas neurológicos nos casos de compressão do SNC pelo tumor hipofisiário e artropatias degenerativas.

### Sinais clínicos

Em todas as espécies, a acromegalia surge em pacientes de meia-idade a idosos, porém em veterinária observa-se uma predileção sexual muito forte, ao contrário do observado em humanos. Nos gatos, a acromegalia acomete machos em mais de 90 % dos casos, ao passo que em cães com acromegalia espontânea 100 % são fêmeas. Os primeiros sinais clínicos a tornar-se evidentes em cães e gatos acromegálicos são: alargamento da mandíbula resultando em prognatismo, aumento no espaço interdental, engrossamento dos acidentes ósseos da cabeça, aumento de volume das patas bem como dos tecidos moles da cabeça e o pescoço. A organomegalia e aumento de volume dos tecidos moles levam a ganho de peso e abaulamento da

face e do abdômen. O ganho de peso pode estar evidente, mesmo na presença de catabolismo diabético, e o engrossamento da pele tende a torná-la pregueada na região do pescoço e da cabeça. A hipertrofia de órgãos como coração, rins, língua e fígado são típicos em felinos e podem inclusive ser palpáveis.

Em cães, sinais respiratórios (intolerância ao exercício, ofego excessivo e estridores respiratórios) podem tornar-se evidentes pelo aumento de volume dos tecidos da orofaringe. Esse achado é mais raro em gatos, mas sinais respiratórios podem tornar-se evidentes secundários a edema pulmonar e efusão pleural por falência cardíaca (cardiomegalia) induzida pelo GH. Do ponto de vista metabólico, a diabetes mellitus insulinoresistente é comum a cães e gatos, uma vez que o GH apresenta potentes efeitos diabetogênicos, levando a menor sensibilidade periférica à insulina. Como resultado, os animais com hipersomatotropismo podem apresentar graus variados de intolerância a glicose, sinais típicos de diabetes (poliúria, polidipsia, polifagia), além de necessidade de elevadas doses de insulina para controle da doença.

Claudicação e dores articulares podem ser comuns secundárias a artropatias degenerativas em pacientes com acromegalia crônica. Clinicamente a doença articular tende a ser bastante grave e incapacitante, sendo resultado do engrossamento das cartilagens articulares e ligamentos, bem como dos ossos, levando a distorção articular. Estes sinais articulares são mais observados em gatos. Os felinos também são mais acometidos pela cardiomiopatia secundária à cardiomegalia, levando à presença de murmúrios sistólicos, ritmo de galope e sinais de insuficiência cardíaca congestiva (ascite, efusão pleural e edema pulmonar). Sinais neurológicos são observados apenas em felinos por expansão

de tumor hipofisiário para o SNC, levando a estupor, convulsões, andar em círculos, mudanças de comportamento e outras anormalidades no exame neurológico.

A poliúria e polidipsia observada em cães e gatos como um dos sinais mais comuns associados à acromegalia está associada não só ao estado diabético, que em fêmeas pode ser revertido após a castração e redução dos níveis de progesterona e GH, mas também ao aumento de volume renal com consequente maior fluxo sanguíneo e taxa de filtração glomerular. Apesar disto, felinos podem desenvolver falência renal por glomerulosclerose associada à diabetes não compensada levando à azotemia, proteinúria e a sinais clínicos de insuficiência renal.

Com relação ao trato reprodutivo, as fêmeas caninas com acromegalia podem apresentar além de nódulos mamários pelo efeito tumorigênico do GH induzido pela progesterona, hiperplasia endometrial cística pela estimulação excessiva da progesterona e do GH. Além dessas alterações, fêmeas caninas expostas a progestágenos exógenos podem desenvolver hipoadrenocorticismo secundário, uma vez que esses compostos apresentam efeitos semelhantes aos glicocorticoides e provocam inibição do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, levando à atrofia bilateral do córtex adrenal.

### Diagnóstico

A avaliação laboratorial do paciente acromegálico não apresenta nenhum achado patognomônico, mas alguns achados são clássicos (Tabela 5). A eritrocitose e a leucocitose moderada podem ser evidentes pelo estímulo do GH. Os felinos desenvolvem diabetes em praticamente 100 % dos casos, encontrando-se hiperglicemia e glicosúria. Caninos desenvolvem hiperglicemia em uma proporção menor de casos (55 %). Os exames de avaliação da função renal podem evidenciar azotemia em casos

mais avançados de insuficiência renal, bem como a presença de proteinúria secundária à glomerulopatia. Achados relacionados à função hepática também são diferentes em cães e gatos. Felinos tendem a apresentar aumento moderado na atividade das enzimas ALT e FA, secundário ao estado diabético, ao passo que cães podem apresentar aumentos na atividade da FA das isoformas óssea e induzida por corticosteroides, ou secundário à lipidose hepática. Outras alterações como hipercolesterolemia, hiperproteinemia e hiperfosfatemia podem ser evidentes. Os exames de imagens são úteis na identificação de aumentos de volume ósseo e de tecidos moles, bem como na avaliação das articulações, especialmente em felinos. Ecografias e radiografias auxiliam também na demonstração de organomegalia. Em felinos as imagens de ressonância magnética e tomografia computadorizada são úteis na identificação e caracterização de tumores hipofisiários.

valores elevados de IGF-1 sugerindo a existência de acromegalia. Apesar disto, falsos positivos podem ocorrer como já demonstrado em gatos diabéticos. Contudo, na ausência de testes disponíveis de GH e/ou IGF-1, pode-se firmar o diagnóstico em cães com base nas evidências clínicas e laboratoriais, bem como no histórico de exposição à progesterona e exclusão de hiperadrenocorticismo. A melhora clínica depois da retirada da exposição à progesterona confirma o diagnóstico terapêutico.

### Tratamento

Em cães, o tratamento da acromegalia consiste na remoção da exposição à progesterona ou através da castração. Os pacientes apresentam respostas clínicas boas, porém a diabetes mellitus pode ser permanente, apesar de haver remissão na maioria dos casos. Os sinais associados à proliferação de tecidos moles tendem a se resolver, contudo as alterações ósseas também podem persistir.

Em gatos, o tratamento deve ser voltado diretamente para tentar resolver a hipersecreção de GH, o que é difícil na maioria dos casos. A terapia mais efetiva é a radioterapia, sendo que os tumores hipofisiários de gatos respondem de forma excelente a essa modalidade terapêutica. Contudo, é uma tecnologia pouco disponível, necessita de um período grande de permanência no hospital, exige anestesia, apresenta custo elevado e pode apresentar desfechos imprevisíveis. Além disso, a resposta clínica é demorada, e pode haver recidiva após período de 6 a 18 meses.

A hipofisectomia apresenta-se como uma alternativa curativa também, contudo a disponibilidade de cirurgiões experientes capacitados a executar o procedimento também é limitada, além dos riscos elevados associados à cirurgia. As opções de tratamentos médicos no geral são pouco eficazes, mas podem-se aplicar. Em humanos, drogas como a octreotida

TABELA 5 - FREQUÊNCIA DOS PRINCIPAIS ACHADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS EM CÃES E GATOS COM ACROMEGALIA

Achado clínico	Gatos	Cães
Poliúria e polidipsia	100 %	55 %
Glicosúria/hiperglicemia	100 %	30 %
Insuficiência renal	50 %	incomum
Azotemia	50 %	incomum
Proteinúria	45 %	incomum
Hiperfosfatemia	65 %	incomum
Estridores inspiratórios	incomum	85 %
Artropatias	40 %	incomum
Sinais neurológicos	15 %	incomum
Hipercolesterolemia	45 %	incomum
Atividade elevada da ALT	30 %	incomum
Atividade elevada da FA	10 %	70 %
Eritrocitose	35 %	incomum

O diagnóstico definitivo baseia-se na excessiva concentração de GH no plasma. A determinação do IGF-1 reflete a magnitude da secreção do GH nas últimas 24 horas, com

(análogo sintético da somatostatina que atua inibindo a secreção de GH e reduzindo o tamanho tumoral), o pegvisomanto (antagonista do receptor de GH) e a seleginina (L-deprenil que atua aumentando a dopamina, inibindo assim a secreção de GH) têm sido aplicadas com sucesso. A aplicação desses tratamentos em felinos não tem demonstrado eficácia satisfatória. O pegvisomanto não teve seu uso relatado para tratamento de gatos com acromegalia.

O prognóstico da doença em cães é favorável, uma vez que a retirada da progesterona endógena ou exógena resulta na melhora clínica do paciente, ao passo que felinos não tratados apresentam uma sobrevivência média em torno de 20 meses, indo a óbito ou eutanásia por conta de complicações como insuficiência renal, insuficiência cardíaca e sintomas neurológicos.

#### Neuro-hipófise

A neuro-hipófise consta de terminações axônicas de neurônios hipotalâmicos que armazenam dois hormônios: a arginina-vasopressina (AVP) ou hormônio antidiurético (ADH) e a ocitocina (OXT). A zona está irrigada por capilares que recebem os hormônios para levá-los à corrente sanguínea. Os neurônios produtores desses hormônios no hipotálamo são ricos em retículo endoplasmático rugoso, aparelho de Golgi e especialmente grânulos secretores, os quais se localizam no corpo do neurônio e nos axônios que se estendem até a neurohipófise. Os neurônios secretores se encontram em núcleos específicos do hipotálamo. O núcleo supraóptico se relaciona com a síntese de AVP, e o núcleo paraventricular com a síntese de OXT. Os hormônios, dentro dos grânulos, estão unidos a uma proteína transportadora chamada neurofisina e nessa forma são secretados à circulação. Existe uma grande similaridade entre as neurofisinas de bovino, suíno e equino. A

meia-vida da AVP é de poucos minutos quando está livre, mas sua união à neurofisina a mantém por mais tempo (Tabela 6).

A ocitocina e a vasopressina são nonapeptídeos que têm 7 aminoácidos em comum. Nos vertebrados não-mamíferos é produzido um único hormônio chamado vasotocina, considerado como o peptídeo neuro-hipofisiário mais primitivo, com a seguinte sequência:

Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>

Na maioria dos mamíferos, a vasopressina contém arginina na posição 8, o que determina o nome de arginina-vasopressina (AVP):

Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH<sub>2</sub>

No suíno, a vasopressina se diferencia, em que o aminoácido 8 é a lisina (lisina-vasopressina):

Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH<sub>2</sub>

As duas Cys das moléculas desses hormônios se unem, mediante uma ponte dissulfeto, ciclizando a molécula.

#### Vasopressina ou Hormônio Antidiurético

A vasopressina (AVP) é liberada por estímulo da dopamina e da acetilcolina, e inibida por serotonina e GABA (ácido gama-aminobutírico). A secreção da AVP é controlada por osmorreceptores localizados no sistema nervoso central, os quais são sensíveis aos níveis de Na<sup>+</sup> e outros íons (K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>) e por barorreceptores localizados no arco aórtico (átrio). O principal determinante da liberação de AVP é a osmolaridade do plasma. Abaixo de determinado limiar, a secreção de AVP é inibida para permitir a saída de água do rim. Acima de determinado limiar, AVP é liberada da neurohipófise para causar a reabsorção de água no rim. Calcula-se que quando a AVP está em concentrações plasmáticas entre 5 a 10 pmoles/L está causando máxima

TABELA 6 – CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE HORMÔNIOS  
NEURO-HIPOFISIÁRIOS

Hormônio	Espécie	Valor (pmol/L)
Vasopressina	cão (basal)	0,5-6,0
	cão (desidratação)	7,7 ± 1,5
	cabra (basal)	1,3 ± 0,2
Ocitocina	cadela (lactação)	15-66
	vaca (pré-ordenha)	1,6 ± 0,6
	cabra (basal)	4,5 ± 1,0

antidiurese. Normalmente, a AVP é liberada quando o volume sanguíneo varia mais que 5 a 10 %. Sob circunstâncias normais, o volume sanguíneo sofre variações não maiores de 1-2 %, muito distantes, portanto, do sinal liberador de AVP através dos barorreceptores. Daí que a osmolaridade plasmática seja mais determinante do que a pressão sanguínea para a liberação de AVP. O peptídeo natriurético atrial (atriopeptina) tem ações sistêmicas que se opõem às de AVP e foi proposto como um modulador que atua no cérebro para inibir a secreção de AVP.

A ação da AVP é aumentar a reabsorção renal de Na<sup>+</sup> e, portanto, de água nas células dos túbulos distais e coletores (ação antidiurética) mediante o aumento intracelular de cAMP. Quando não há AVP esta porção do néfron é impermeável à água e se forma um filtrado hipotônico na urina, que normalmente alcança uma osmolaridade de 8 mOsm/L. A AVP também causa um aumento da pressão sanguínea em resposta a uma diminuição do volume sanguíneo (por exemplo, na hemorragia e na desidratação) mediante a constrição dos capilares. O estímulo é captado pelos barorreceptores do átrio ao notar uma diminuição na pressão. A AVP também tem outros

efeitos sistêmicos: aumenta a glicogenólise hepática, aumenta a liberação de ACTH na hipófise anterior, tem efeitos sobre o comportamento animal e participa na oviposição nas aves, nas quais têm mais propriedades ocitócicas. O mecanismo das ações extrarrenais de AVP é independente do cAMP, sendo utilizado o cálcio, mediante os receptores V1, enquanto os receptores renais V2 operam com cAMP. Alguns agentes, como barbitúricos, éter, clorofórmio, morfina, acetilcolina e nicotina, bem como sensações como a dor, causam liberação de AVP, o que provoca diminuição da formação de urina. Por sua parte, o etanol causa o efeito oposto, isto é, inibe a liberação de AVP e causa diurese.

#### Transtornos da vasopressina

Tumores não-funcionais da hipófise podem causar compressão dos hormônios neuro-secretores e diminuição da secreção de AVP, o que resulta em aumento da excreção de urina. Nesses casos, o animal apresenta outros sintomas relacionados com hipopituitarismo, tais como caquexia, depressão, cegueira, atrofia gonadal e hipoglicemia. A falha na secreção de AVP ou em sua ação sobre as células-alvo causa diabetes insípida.



A falha pode ser devido a neoplasias, lesões traumáticas, por exemplo, hemorragia, proliferação glial do sistema neuro-hipofisiário ou a defeitos bioquímicos herdados sobre a biossíntese de AVP ou das neurofisinas. Os animais com diabetes insípida excretam grandes volumes de urina hipotônica que obrigam a ingestão de grandes quantidades de água (polidipsia) para evitar a desidratação e a hiperosmolaridade dos fluidos corporais. No cão, tem sido observada a síndrome de ADH (SIADH) ou síndrome de Schwartz-Bartter, consistente em um excesso de AVP, que se caracteriza por uma hiponatremia.

### Ocitocina

A estrutura da ocitocina (OXT) muda nos aminoácidos 3 e 8 com relação à vasopressina, os quais são isoleucina e leucina, respectivamente:

Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>

A secreção da OXT é estimulada via neurogênica (amamentação, ordenha, parto, dilatação cervical ou vaginal, estímulo clitoridiano), sendo a acetilcolina estimulante e a adrenalina e a noradrenalina, inibidores. Os níveis de OXT têm variações durante o ciclo ovárico em vaca, ovelha e cabra, aumentando depois do pico pré-ovulatório de LH e diminuindo depois da regressão do corpo lúteo. Na égua, o comportamento dos níveis de OXT é parecido ao da mulher: menores na metade da fase luteal e maiores antes do estro e depois da ovulação. Os estrógenos ováricos estimulam a liberação de OXT pituitária, enquanto a progesterona a inibe. Têm sido encontrados outros fatores não reprodutivos, como estresse e osmolaridade plasmática, que afetam a liberação de OXT.

A ação da OXT é a contração do miométrio durante o parto. O termo ocitócico provém do grego e significa “parto rápido”. A OXT também causa a contração das células

mioepiteliais da glândula mamária durante a lactação, a qual facilita a descida do leite. O estrógeno é necessário para a ação da OXT, pois estimula a síntese de receptores para OXT, isto é, os estrógenos aumentam a resposta do útero à OXT. A progesterona, por sua vez, inibe esta resposta e, então, durante a gestação a resposta do útero à OXT está muito reduzida. A adrenalina, secretada no estresse, inibe a descida do leite da glândula mamária por bloquear a ação da OXT, mediante a inibição de sua secreção na neuro-hipófise e também, possivelmente, por bloquear os receptores da OXT nas células mioepiteliais.

A OXT não tem função aparente no macho, embora pareça estar envolvida no transporte dos espermatozoides no trato reprodutor masculino. O corpo lúteo também secreta OXT, estando envolvida no processo da luteólise na maioria dos mamíferos. A OXT ovárica, a qual se secreta sem neurofisina, tem receptores no endométrio, e sua ação estimula a biossíntese de prostaglandina F<sub>2α</sub>. A síntese dos receptores de OXT no endométrio é estimulada por 17β-estradiol.

### HORMÔNIOS DA GLÂNDULA ADRENAL

A primeira referência sobre as glândulas adrenais aparece em 1563, no livro *Opúsculos Anatômicos*, de Eustáquio. Inicialmente foram vistos como órgãos ocos, razão pela qual foram chamados de “cápsulas atrabíliarias”. Em 1629, Jean Riolan propôs o nome de cápsulas suprarrenais, ou seja, acima dos rins; e em 1732, Winslow propôs o termo de adrenais, isto é, ao lado do rim. Em 1651, Bartholinus descreveu a medula adrenal diferenciando-a do córtex adrenal e, em 1846, Ecker descreveu as zonas reticular e fasciculada do córtex adrenal. A zona glomerular foi descrita por Arnold, em 1866.

A função adrenal começou a ser entendida com a descrição feita por Thomas

Addison, em 1855, da doença que leva seu nome, observando casos de destruição da glândula. Brown-Séguard, um ano depois, demonstrou que a adrenalectomia é mortal. Em 1839, Bergman tinha mostrado a relação da medula adrenal com o sistema nervoso, e, em 1856, Vulpian afirmou que as células da medula podiam ser tingidas, diferentemente das células do córtex, pelo qual foram chamadas de células cromafínicas por Stilling, em 1889.

O efeito vasopressor das adrenais, descrito por Oliver e Schaefer, motivou uma série de pesquisas que terminaram com a identificação da adrenalina por parte de Abel, em 1899. Em 1904, foi realizada sua síntese química por Stoltz, sendo o primeiro hormônio a ser purificado e sintetizado.

Em 1949 o grupo de von Euler, na Suécia, mostrou que a noradrenalina também era um hormônio da medula adrenal, além de seu papel como neurotransmissor periférico do sistema nervoso simpático.

O ano de 1927 teve vários descobrimentos em relação à função adrenal. Rogoff e Stwartt conseguiram prolongar a vida de cães adrenalectomizados administrando extratos adrenais. Hartmann e seu grupo propuseram a presença de um hormônio no córtex das glândulas adrenais que chamaram de cortina, e Baumann e Kurland descreveram a hiponatremia e a hiperpotassemia em animais adrenalectomizados. Em 1932, Loeb mostrou que na doença de Addison (atrofia do córtex adrenal) estão diminuídas as concentrações de sódio e cloro.

Na década de 1930, foi realizada uma série de trabalhos para identificar os hormônios do córtex adrenal, em que se destacam Reichstein e Steiger. No ano de 1941 tinham sido identificados cerca de 30 esteroides com efeitos androgênicos e retentivos de sódio, dos quais 6 eram biologicamente ativos. Em 1940, Lang comprovou o efeito dos corticoides adrenais sobre o meta-

bolismo dos carboidratos ao provocar um estado diabético mediante injeção de extratos corticais. Em 1948, o descobrimento dos efeitos terapêuticos antiinflamatórios da cortisona levou à síntese química de vários compostos sintéticos com maior efeito que os naturais, entre os quais, a prednisona, a prednisolona e a dexametasona.

Em 1952, o grupo de Grundy conseguiu isolar, por métodos cromatográficos, um composto com simultâneos efeitos de retenção de sódio e excreção de potássio, que foi denominado de “eletrocortina” e posteriormente rebatizado como aldosterona. Em 1955, Wettstein sintetizou a aldosterona, e Corn descreveu o hiperaldosteronismo primário. Em 1961, Davis e Ganong, separadamente, comprovaram a relação entre o rim e a secreção de aldosterona apontando a renina, uma proteína secretada pelo rim, como o ponto de controle da secreção da aldosterona. A renina fora descoberta, em 1898, por Tigerstedt e Bergman.

### **Hormônios do córtex adrenal**

Nos mamíferos, as duas glândulas adrenais estão localizadas na cavidade abdominal crânio-medial aos rins, podendo ser separadas embriológica, morfológica e funcionalmente em dois órgãos distintos: (a) o córtex, que compreende 90 % da massa da glândula, e (b) a medula, com 10 % da massa total. O córtex adrenal deriva embriologicamente do epitélio celômico, ou seja, tem origem mesodérmica, como as gônadas. A medula, por sua vez, é de origem ectodérmica, provindo do esboço simpático da crista neural.

Os hormônios do córtex adrenal são compostos esteroides que têm ação sobre o metabolismo de glicídeos, proteínas, lipídeos e minerais, enquanto os hormônios da medula adrenal são catecolaminas e têm efeito nervoso simpático e sobre o metabolismo do glicogênio e dos lipídeos.

O córtex adrenal dos mamíferos envolve o tecido interno medular e está dividido em três zonas, que da periferia para o centro incluem:

(a) Zona glomerular, mais externa, com arranjo em forma de acinos, onde são sintetizados os mineralocorticoides. Em algumas espécies, como na ovelha, é bastante evidente, enquanto em outras espécies, como nos pequenos roedores, é difícil de distinguir

(b) Zona fascicular, cujas células estão arranjadas em colunas dando aparência de linhas radiais. É a zona de maior tamanho, fazendo 60 % do córtex, onde são sintetizados os glicocorticoides.

(c) Zona reticular, mais interna, adjacente à medula adrenal, consiste em uma camada de células arranjadas ao acaso com citoplasma densamente tingido e uma grande proporção de núcleos picnóticos, a qual revela abundante mitose. Esta zona produz principalmente andrógenos e, em menor grau, glicocorticoides, estrógenos e progesterona.

Quando as células estão inativas, aparecem vacuoladas e esponjosas devido à presença de lipídeos, especialmente colesterol, em seu interior. Quando há atividade secretória, ocorre depleção de lipídeos, colesterol e ácido ascórbico, e as células aparecem compactas.

Nas aves, as glândulas adrenais estão total ou parcialmente cobertas pelas gônadas, e o tecido medular está entreverado com o tecido cortical.

#### Biossíntese dos esteroides adrenais

Os esteroides adrenais contêm em sua estrutura básica um núcleo da molécula virtual ciclopentano perhidro-fenantreno, conformado por 3 anéis de 6 carbonos (anéis A, B e C) e um anel de 5 carbonos (anel D).

A molécula precursora dos esteroides é o colesterol, o qual deve estar em quantidades adequadas nas células. O colesterol provém principalmente do plasma, transportado por lipoproteínas de baixa densidade (LDL), embora ocorra biossíntese de colesterol no córtex adrenal a partir do acetil-CoA. A maioria do colesterol é esterificado e armazenado em gotas lipídicas citoplasmáticas.

Existem sete hormônios adrenocorticais reconhecidos que diferem em sua estrutura tão somente em três posições, no C-11, no C-13 e no C-17. Seis desses hormônios são considerados como derivados da corticosterona, e um, a aldosterona, é o único composto a conter um grupo aldeído no C-13, que está em equilíbrio com um grupo hidroxila no C-11 formando uma estrutura hemiacetalica.

A síntese de glicocorticoides é estimulada pelo ACTH da hipófise, hormônio que atua sobre as células do córtex adrenal mediante cAMP. A elevação nos níveis de cAMP ativa a enzima colesterol esterase, a qual hidrolisa ésteres de colesterol para disponibilizar colesterol livre, que deve entrar na mitocôndria para o processo de síntese de esteroides.

A primeira reação da via é a síntese de pregnenolona (Figura 6). Todos os hormônios esteroides derivam deste composto de 21 carbonos com ligações duplas em C-5 e C-6, que se constitui no principal regulador da síntese desses hormônios.

A formação de pregnenolona é catalisada por uma enzima mitocondrial, própria das zonas reticular e fascicular do córtex adrenal, a citocromo P450<sub>17 $\alpha$</sub> , também chamada de 17-hidroxilase/liase, que causa a ruptura oxidativa do fragmento de 6 carbonos no C-17 do colesterol, liberando isocaproaldeído e pregnenolona.

A partir da pregnenolona pode ser formada a progesterona mediante a enzima 3 $\beta$ -esteroide desidrogenase/ $\Delta^{4,5}$ -isomerase. A progesterona é o primeiro hormônio a ser produzido na rota de síntese dos hormônios esteroides.

A partir da pregnenolona ou da progesterona, várias vias são possíveis para sintetizar os demais esteroides com as seguintes enzimas:

- (a) 17-hidroxilase/liase,
- (b) 3 $\beta$ -esteroide desidrogenase/ $\Delta^{4,5}$ -isomerase,
- (c) 11 $\beta$ -hidroxilase e
- (d) 21-hidroxilase.

As hidroxilases deste sistema requerem O<sub>2</sub> molecular e NADPH. A progesterona é hidroxilada na posição 21, pela ação da 21-hidroxilase, para formar 11-deoxicortisterona ou DOC, composto que tem ação mineralocorticoide. Mais uma hidroxilação no DOC sobre o C-11 pela ação da 11 $\beta$ -hidroxilase produz corticosterona, que tem maior ação glicocorticoide.

Em geral, os corticoides hidroxilados na posição 17 têm maior ação glicocorticoide. As hidroxilações 11 $\beta$  e 21 parecem ter sido desenvolvidas em etapas evolutivas iniciais, encontrando-se em todos os vertebrados.

A síntese de cortisol, o glicocorticoide mais potente, requer três hidroxilações sequenciais no C-17, no C-21 e no C-11 (Figura 6). Se a posição 21 for hidroxilada antes, via progesterona, a posição 17 não é mais hidroxilada, e são sintetizados mineralocorticoides. Portanto, a rota mais frequente para a síntese do cortisol é mediante a 17 $\alpha$ -hidroxilação da pregnenolona.

A ação da 17 $\alpha$ -hidroxilase, necessária para obter cortisol a partir de pregnenolona ou de progesterona, é própria dos mamíferos. Por essa razão, a maioria desses animais pro-

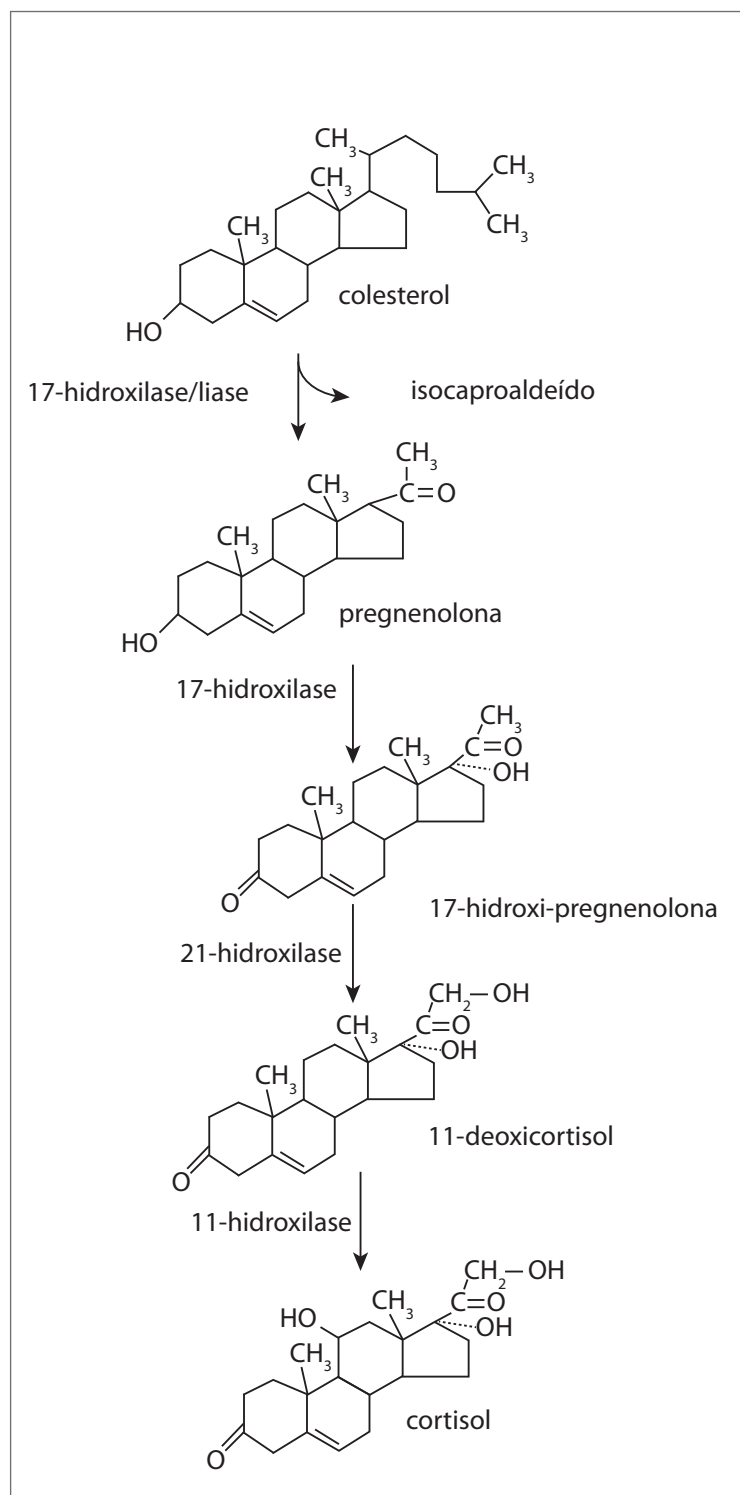


Figura 6 – Biossíntese do cortisol.

duzem mais cortisol do que corticosterona. O cortisol predomina no cão, no gato, no cavalo, no porco e no humano, enquanto que a corticosterona predomina no coelho, no rato e no camundongo (Tabela 7). Na vaca, os dois glicocorticoides têm quantidades similares. A relação cortisol/corticosterona é de 0,05 no coelho, de 1 na vaca, de 3 no cão, de 5 no humano, de 10 no gato, de 15 na ovelha e de 20 no cavalo. Nas aves, é produzida principalmente corticosterona, não se encontrando cortisol.

A biossíntese de mineralocorticoides ocorre em nível de retículo endoplasmático das células glomerulares do córtex adrenal, onde não está presente a 17 $\alpha$ -hidroxilase. A enzima 18-hidroxilase, que atua sobre a corticosterona, produz 18-hidroxicorticosterona, a qual se transforma em aldosterona por ação de uma desidrogenase que converte o hidroxila do C-18 em aldeído. Este grupo reage com o -OH do C-11 para estabilizar-se como hemiacetal (Figura 7).

TABELA 7 – NÍVEIS PLASMÁTICOS NORMAIS DE CORTISOL (NG/ML) EM ALGUNS ANIMAIS DOMÉSTICOS

<b>Espécie</b>	<b>Valor</b>
cão	17,8-23,2
gato	17,0 $\pm$ 2,8
ovelha	6,0 $\pm$ 1,0
cabra	8,0-19,0
touro	18,4 $\pm$ 0,9
vaca amamentando	9,4
vaca não lactante	4,5
vaca gestante	26 $\pm$ 3,0
porco	8,1
égua	13,7

## Metabolismo dos esteroides adrenais

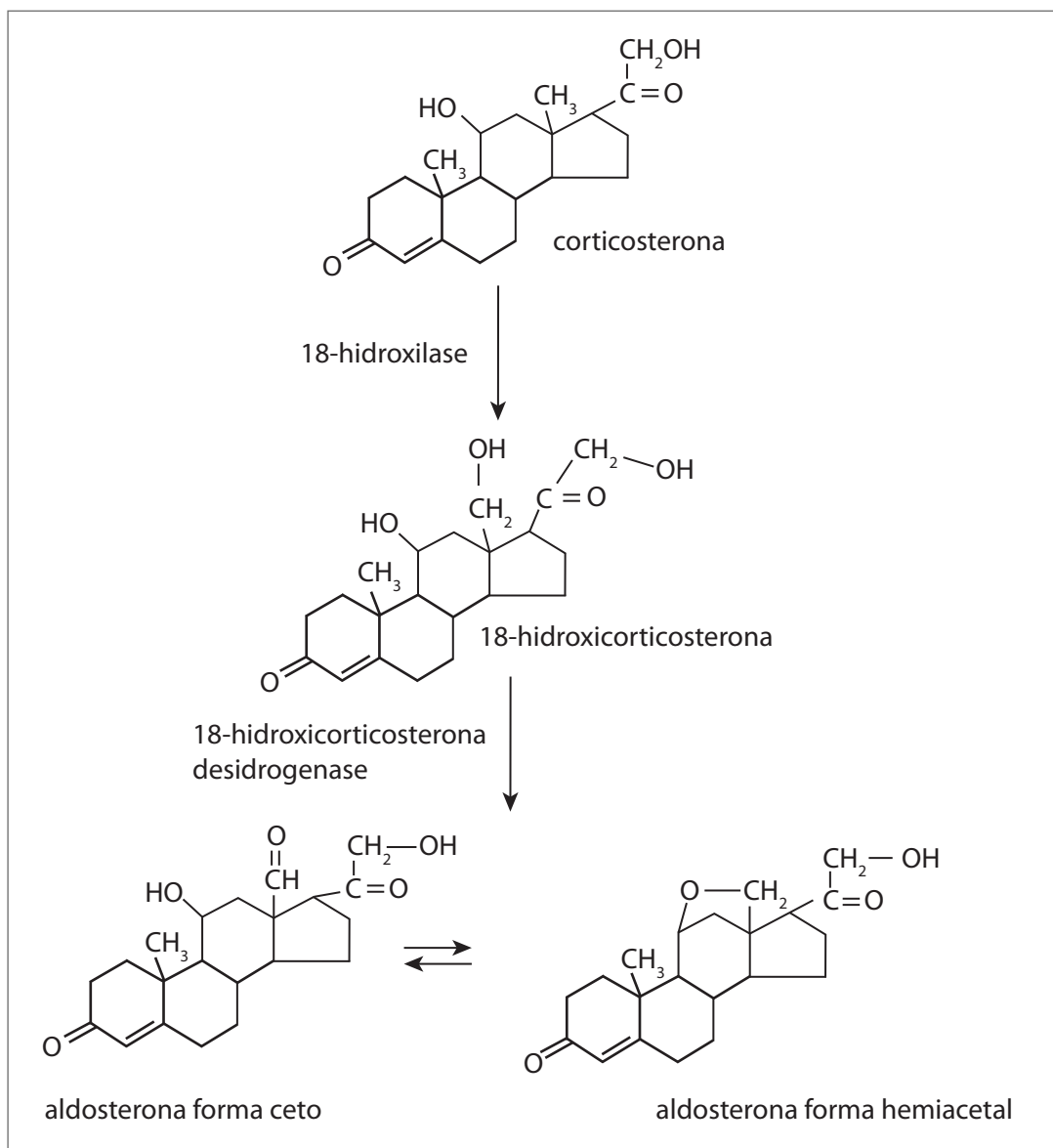
Os esteroides adrenocorticais são secretados à medida que são produzidos, isto é, o estímulo do ACTH para a síntese é também para a secreção.

Os esteroides corticais são transportados no sangue pela globulina transportadora de corticoides (CBG), também chamada de transcortina, uma glicoproteína com 26 % de carboidratos que tem alta afinidade por cortisol e corticosterona. A capacidade de transporte da CBG é limitada, sendo que pelo menos 20 % do cortisol devem ser transportados com a albumina, embora com menos afinidade que a CBG.

A CBG é sintetizada no fígado por estímulo estrogênico. Uma vez que a CBG tem também grande afinidade com a progesterona, os níveis desta proteína aumentam durante a gestação, diminuindo a proporção de corticoides livres e, portanto, diminuindo a atividade glicocorticoide. A forma livre de cortisol, aproximadamente 10 %, é a forma biologicamente ativa.

A aidez com que o corticoide se une a sua proteína transportadora é proporcional à meia-vida do hormônio. Assim, o cortisol, que se une fortemente a ela, tem uma meia-vida de 1,5 a 2 horas, enquanto que a corticosterona, que se une fracamente, tem uma meia-vida de menos de 1 hora. A aldosterona, que se une fracamente à albumina, tem uma meia-vida de 15 minutos.

A degradação metabólica dos corticoides ocorre no fígado e, em menor grau, no rim. Os grupos 3-ceto e 20-ceto são reduzidos a grupos hidroxila, e o anel A também é reduzido, perdendo a ligação dupla e ficando em forma tetraidro. Ocorre também uma conjugação com glicuronato ou com sulfato. Depois dessas mudanças, os corticoides se



**Figura 7** - Biossíntese da aldosterona.

tornam inativos e hidrossolúveis e se excretam pelo rim (75 %) ou pelo intestino (25 %).

A zona reticular do córtex adrenal sintetiza andrógenos, estrógenos e progesterona, sendo esta a fonte de esteroides sexuais nos animais castrados. Em animais saudáveis, a quantidade de andrógenos adrenais pro-

duzidos é ínfima em comparação com os produzidos pelas gônadas. Os andrógenos adrenais são a desidroepiandrosterona (DHEA) e a androstenediona, os quais causam retenção de nitrogênio (efeito anabólico proteico), P, K, Na e Cl.

Na fêmea, as células da zona reticular são a única fonte de andrógenos. Em neoplasias ou hiperplasias adrenocorticais, é observada virilização, com excreção de grandes quantidades de andrógenos na urina.

#### Regulação da síntese dos glicocorticosteroides

A síntese dos glicocorticoides é estimulada pelo ACTH hipofisiário, o qual, por sua vez, está regulado pelo CRH hipotalâmico, estando os dois relacionadas por regulação feedback negativa com os glicocorticoides. A síntese de glicocorticoides no córtex adrenal é mínima, ainda sem a estimulação do ACTH. O CRH é um peptídeo de estrutura similar à vasopressina. O ACTH é uma proteína de 39 aminoácidos com peso molecular de 4,7 kDa. Os primeiros 23 aminoácidos da ACTH são essenciais para sua atividade biológica e têm a mesma sequência em todos os mamíferos, enquanto os outros 16 variam conforme a espécie.

Existe um ritmo circadiano de liberação de CRH, o qual é afetado pela duração de horas-luz, pelo ciclo de alimentação, as horas de sono e o estresse. Na maioria das espécies, a produção de glicocorticoides é maior pela manhã e menor à tarde e à noite, tornando a elevar-se durante o sono. Nas espécies noturnas, o padrão de secreção é inverso. O cão e o gato não apresentam elevação matinal de glicocorticoides. No humano, a maior parte dos picos secretórios ocorre entre a meia-noite e o início da manhã.

A ativação dos centros hipotalâmicos através do córtex cerebral por estresse inespecífico (temperatura ambiental extrema, febre, hipoglicemia, inflamação, jejum, dor, traumas, medo) provoca aumento da síntese e liberação de ACTH, levando ao consequente incremento na atividade adrenocortical, principalmente da zona

fascicular. O ACTH não somente produz efeito sobre a síntese e liberação dos glicocorticoides, mas também tem algum efeito sobre a produção de aldosterona, especialmente sob situações de estresse e também estimula a lipólise no tecido adiposo. A ação do ACTH é rápida: poucos minutos depois de sua liberação, observa-se aumento de corticosteroides no sangue.

O mecanismo de ação de ACTH é através de receptores de membrana estimulando a adenilciclase, a qual provoca um aumento tanto nos níveis de cAMP quanto de cGMP. O cAMP ativa uma proteína-quinase que, por sua vez, ativa a enzima colesterol esterase, a qual atua sobre ésteres de colesterol (forma de armazenamento do colesterol) para dar colesterol livre. O cGMP também ativa proteínas-quinases, as quais estimulam as enzimas da esteroidogênese. Quando o ACTH atua sobre as células do córtex adrenal, observa-se uma depleção de colesterol e de ácido ascórbico. A depleção de ácido ascórbico não está bem entendida, mas acredita-se que atue fornecendo equivalentes redutores para as hidroxilações NADPH-dependentes na esteroidogênese.

#### Regulação da síntese dos mineralocorticosteroides

A regulação da síntese de aldosterona é diferente daquela dos glicocorticoides. Seus reguladores primários são o sistema renina-angiotensina e os níveis de potássio sanguíneo. Também estão envolvidos os níveis de sódio, o ACTH e mecanismos neurais. São necessários níveis elevados de ACTH, como no caso do estresse, para induzir a liberação de aldosterona. O estímulo aferente é provavelmente uma diminuição no fluxo renal (hipovolemia, desidratação, hemorragia, falha cardíaca) ou uma queda nos níveis plasmáticos de sódio. Esse estímulo resulta na liberação de renina nas células justaglomerulares do rim.

O sistema renina-angiotensina está relacionado com o controle da pressão sanguínea e o metabolismo dos eletrólitos. Duas proteínas estão diretamente envolvidas:

(1) A renina, enzima proteolítica produzida nas células justaglomerulares das arteríolas aferentes dos glomérulos do rim, por ação de vários estímulos: baixa pressão sanguínea ou diminuição do volume sanguíneo detectados por barorreceptores das próprias células justaglomerulares, hiponatremia, hipercalemia, estímulo de neurotransmissores  $\beta_1$ -adrenérgicos, vasopressina e prostaglandinas. As células da mácula densa dos túbulos distais do rim contêm quimiorreceptores que detectam concentrações de  $\text{Na}^+$  no fluido do túbulo, de forma que um aumento na concentração tubular de  $\text{Na}^+$  estimula a liberação de renina.

(2) O angiotensinogênio, globulina  $\alpha_2$  do plasma, sintetizada no fígado por estímulo de glicocorticoides e estrógenos e que é hidrolisada em pontos específicos pela renina, produzindo um decapeptídeo, chamado angiotensina I:

Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-NH<sub>2</sub>

A angiotensina I circulante sofre remoção de 2 aminoácidos do seu extremo N-terminal por ação da enzima conversora, glicoproteína presente no plasma, os pulmões e as células endoteliais, para formar um octapeptídeo, a angiotensina II. Este composto, com meia-vida de 1 minuto, é um potente estimulador da síntese de aldosterona na zona glomerular do córtex adrenal, além de ser vasoconstritor e causar elevação da pressão arterial. A angiotensina II possui receptores de membrana nas células glomerulares do córtex adrenal, os quais aumentam em número devido a concentrações elevadas de  $\text{K}^+$  e pela própria angio-

tensina II. O mecanismo de ação da angiotensina II envolve  $\text{Ca}^{2+}$  e fosfatidil-inositol.

A angiotensina II tem efeito feedback negativo sobre a síntese de renina e ativa dois pontos da via biossintética da aldosterona: (a) a conversão de colesterol a pregnenolona, e (b) a oxidação de corticosterona para produzir aldosterona. A angiotensina III, heptapeptídeo originado pela remoção de um aminoácido da angiotensina II, tem os mesmos efeitos que esta. As angiotensinases plasmáticas inativam as angiotensinas II e III. A secreção de aldosterona também é sensível a mudanças no nível sanguíneo de potássio. Pequenos aumentos deste eletrólito provocam estímulo em sua secreção, enquanto a diminuição do potássio reduz a secreção de aldosterona.

#### Efeitos metabólicos dos glicocorticoides

Todos os esteroides atuam em nível de núcleo nas células-alvo para realizar os efeitos metabólicos. A primeira etapa implica a união do esteroide com uma proteína receptora no citosol; depois, o complexo hormônio-receptor sofre translocação para o núcleo, onde estimula a transcrição de genes que codificam para enzimas específicas, as quais incluem enzimas da gliconeogênese. Estes receptores são específicos para cada esteroide, embora possa ocorrer união competitiva entre eles. Os glicocorticoides também podem interagir com receptores de membrana nos tecidos linfoides para exercer seus efeitos imunossupressores. Devido a essas etapas, a atividade do hormônio pode demorar de 30 minutos a algumas horas para fazer evidentes seus efeitos. Os efeitos dos corticoides podem ser impedidos por inibidores da transcrição (actinomicina D) ou da tradução (polimicina).



Os glicocorticoides, especialmente o cortisol, têm efeito metabólico sobre os glicídeos, os lipídeos e as proteínas. Também têm efeito redutor sobre o número de linfócitos e eosinófilos, bem como efeito inibidor sobre a cicatrização e o crescimento. O efeito primário sobre os glicídeos é o aumento da gliconeogênese e da síntese de glicogênio. Depois da adrenalectomia, observa-se hipoglicemia e depleção do glicogênio hepático. O cortisol inibe a utilização da glicose periférica e estimula o armazenamento de glicogênio, por estimular a enzima glicogênio sintetase. A ação do cortisol causa uma hiperglicemia que pode provocar glicosúria. O aumento da glicose sanguínea obedece ao estímulo da gliconeogênese, mediante ativação das enzimas-chaves desta via, ou seja, a piruvato carboxilase e a fosfoenolpiruvato carboxiquinase. Nos ruminantes com cetose, os glicocorticoides são usados como tratamento devido a sua ação hiperglicemiante.

O cortisol causa aumento do nitrogênio urinário, o que revela um aumento do catabolismo proteico. O nível dos aminoácidos no sangue se eleva e sua degradação aumenta, levando a maiores concentrações plasmáticas de ureia. O anabolismo proteico é inibido e, portanto, o crescimento se vê deprimido. O tratamento crônico com glicocorticoides provoca enfraquecimento muscular devido à perda de proteínas do músculo.

No tecido adiposo, os glicocorticoides estimulam a lipólise por facilitar a ação dos hormônios ativadores da lipase (glucagon, adrenalina, GH). A administração crônica de cortisol provoca hiperlipemia e hipercolesterolemia, além de uma redistribuição centrípeta da gordura corporal que provoca aumento das extremidades. A tendência à hiperglicemia causada pela ação dos glicocorticoides é contrabalançada pelo aumento na secreção de insulina, a qual, por sua vez, estimula a sín-

tese de gordura. Esse fato e o aumento do apetite provocado pelos glicocorticoides em nível central explicam a redistribuição centrípeta da gordura e a distensão abdominal quando se administram em forma crônica. A lipólise provoca aumento da oxidação dos ácidos graxos e, portanto, aumento de acetil-CoA, seu produto final. A acumulação de acetil-CoA é um estímulo para a gliconeogênese, pois este metabólito é ativador da enzima piruvato carboxilase.

No fígado, os glicocorticoides aumentam as enzimas que intervêm na desaminação e transaminação dos aminoácidos, os quais são as fontes para a biossíntese de nova glicose.

Outros efeitos importantes dos glicocorticoides são os seguintes:

(a) Efeito anti-inflamatório e antialérgico, um dos usos mais explorados na prática clínica, causando diminuição da hiperemia, da resposta celular, da migração de neutrófilos e macrófagos ao lugar da inflamação, da exudação, da formação de fibroblastos (e, portanto, de tecido conectivo) e da liberação de histamina. Acredita-se que os glicocorticoides estabilizam as membranas dos lisossomos impedindo a saída das enzimas hidrolíticas, evento observado na inflamação. O efeito estabilizador se estende à membrana plasmática, onde ocorre inibição da enzima fosfolipase A<sub>2</sub>, a qual libera ácido araquidônico, precursor de prostaglandinas e leucotrienos, compostos envolvidos na resposta à inflamação. Possivelmente também inibem a formação de quininas reduzindo a vasodilatação, a tumefação e a dor próprias da inflamação. Por sua ação sobre os fibroblastos, os glicocorticoides retardam a cicatrização.

(b) Efeito imunossupressor, por depressão das respostas imunológicas que acompanham as infecções e os estados alérgicos e anafiláticos. Ainda não está esclarecido o papel fisiológico deste fenômeno imunos-

supressor, mas parece ser um mecanismo para deixar disponível ao organismo proteínas que possam ser usadas para a gliconeogênese. A administração de doses elevadas de glicocorticoides deprimem os níveis de anticorpos circulantes, aparentemente por inibir a síntese de mRNA nos linfócitos e por aumento na degradação das imunoglobulinas já produzidas.

(c) Efeito sobre o trato gastrointestinal, ocasionando aumento na secreção de ácido clorídrico e de pepsina gástricos e de tripsina pancreática, diminuindo também a secreção de muco quando se administra em forma crônica, o que favorece o desenvolvimento de úlceras gastroduodenais.

(d) Efeito sobre os ossos, por reduzir a matriz óssea quando se administram de forma crônica. Isto se vê agravado pela diminuição da absorção de cálcio em nível intestinal e pelo aumento da excreção renal de Ca e P, facilitando a apresentação de osteoporoses e fraturas.

(e) Efeito permissivo sobre alguns hormônios, por exemplo, glucagon e adrenalina, os quais requerem da presença dos glicocorticoides para realizar sua atividade. O hiperadrenocorticismos causa inibição reversível da secreção de GH.

(f) Efeito sobre o equilíbrio hídrico melhorando a diurese. O tratamento prolongado de glicocorticoides pode levar à perda exagerada de sódio e água. A deficiência de glicocorticoides provoca redução do fluxo cardíaco, hipotensão e entrega deficiente de O<sub>2</sub> aos tecidos.

(g) Efeito sobre a placenta por parte dos glicocorticoides de origem fetal, que reduzem a síntese placentária de progesterona e aumentam a de estradiol, o que, por sua vez, promove a síntese e liberação de PGF<sub>2α</sub>, hormônio que sensibiliza o útero à ocitocina, provocando luteólise. Tal efeito com-

promete os glicocorticoides no desencadeamento do parto.

(h) Efeito sobre as células sanguíneas:

- Neutrofilia induzida por corticosteroides foi descrita na maioria das espécies animais, e é o resultado de diversos fatores como diminuição da migração de neutrófilos do sangue para os tecidos e para o *pool* marginal e aumento da liberação pela medula óssea.

- No estresse agudo físico ou emocional, a eosinopenia é atribuída aos níveis elevados de catecolaminas e de corticosteroides. O mecanismo da eosinopenia induzida por corticosteroide não está bem estabelecido. Vários mecanismos têm sido propostos, incluindo diminuição na liberação pela medula óssea, lise intravascular, sequestro em alguns órgãos do sistema fagocítico mononuclear (baço e fígado), e aumento da migração tissular. Esses efeitos são provavelmente mediados através da neutralização da histamina circulante induzida por corticosteroide, redução na liberação de histamina pelos mastócitos, e aumento da liberação de diversas citocinas como resultado da linfólise. Além disso, os esteroides podem induzir apoptose dos eosinófilos.

- A linfopenia induzida por corticosteroides pode ser atribuída à linfólise no sangue e nos tecidos linfoides, ao aumento do desvio de linfócitos do sangue para outros compartimentos do organismo, ou ambos. Além disso, os corticoides inibem a síntese de algumas citocinas (IL-1 e IL-2), impedindo uma resposta imune adequada (efeito imunossupressor).

- A elevação das concentrações de corticosteroides no sangue gera uma resposta monocítica, mas diferenças são observadas no tipo de resposta entre as espécies animais. Em cães, geralmente, ocorre monocitose, mas este fato é inconsistente em vacas, equinos e gatos. Em contraste, monocitopenia ocorre em humanos e animais de laboratório. A monocitopenia pode ser atribuída a um aumento do

desvio de células para o compartimento marginal, inibição da liberação pela medula óssea ou diminuição da produção, mas os mecanismos de monocitose ainda são desconhecidos. Acredita-se que, em cães, a monocitose pode ser resultado da mobilização das células do pool marginal para a circulação. Nas espécies em que ocorre monocitose induzida por corticosteroides, a resposta pode ser bifásica, isto é, monocitopenia na fase inicial do estresse seguida de monocitose.

#### Efeitos metabólicos dos mineralocorticoides

A aldosterona, mineralocorticoide mais importante, controla o volume e a composição catiônica do fluido extracelular, mediante a regulação do equilíbrio de  $\text{Na}^+$  e de  $\text{K}^+$ . Todos os corticosteroides são ativos na reabsorção de sódio e de cloreto nos túbulos renais e na excreção desses íons pelas glândulas sudoríparas e salivares e pelo trato gastrointestinal. No entanto, o mais potente de todos é a aldosterona, a qual é de 400 a 1.000 vezes mais ativa nesta ação do que o cortisol. Aproximadamente 30 % da aldosterona no sangue está em forma livre; 50 %, unida frouxamente à albumina; e 20 %, unida à transcortina.

A aldosterona atua principalmente sobre as células epiteliais do trato gastrointestinal e sobre os túbulos distais e coletores do rim, embora também possam ser encontrados receptores para aldosterona nos dutos salivares e nas glândulas sudoríparas. Os receptores de aldosterona também unem DOC e têm uma baixa afinidade (1-2 %) com cortisol. O esteroide sintético  $9\alpha$ -fluorocortisona se une fortemente aos receptores de aldosterona, tendo ação mineralocorticoide mais prolongada (Tabela 8).

Os antagonistas da aldosterona, como a espironolactona, também se unem aos receptores da aldosterona, bloqueando-os. A aldosterona atua, como os demais esteroides, em nível nuclear, incrementando a síntese de

enzimas que têm a ver com os processos de transporte ativo (bomba de  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  ATPase). O efeito provoca aumento na reabsorção de sódio e de água e na excreção de potássio,  $\text{H}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e amônio ( $\text{NH}_4^+$ ).

#### Corticoides sintéticos

Os corticoides sintéticos usam-se farmacologicamente como agentes anti-inflamatórios e em condições crônicas, como alergias e afecções da pele. Também estão indicados no hipoadrenocorticismismo, em tratamento de choque anafilático, para redução do edema cerebral ou para provocar imunossupressão.

Os corticoides sintéticos são mais potentes do que os corticoides naturais, o que tem sido explicado por várias razões: (a) maior afinidade pelo receptor citoplasmático; (b) maior capacidade do complexo esteroide receptor para atuar no núcleo; (c) menor taxa de degradação; (d) menor afinidade pela transcortina. Entre os corticoides sintéticos mais conhecidos estão prednisona, prednisolona, dexametasona,  $9\alpha$ -fluorocortisona, betametasona e triamcinolona.

A introdução de um núcleo de flúor no C-9 confere maior atividade retentiva de sódio, mas pouca atividade anti-inflamatória, enquanto a introdução de uma dupla ligação entre C-1 e C-2 lhe dá maior atividade anti-inflamatória (Tabela 8). Há inibidores esteroidais que atuam unindo-se ao receptor, como o caso da espironolactona (aldactone), que inibe a secreção de aldosterona. Também é o caso da progesterona, que pode ser antagonista dos glicocorticoides em alguns tecidos, o que explicaria a sensibilidade diminuída do cortisol nos últimos períodos da gestação. A prednisona inibe a secreção de LH (ICSH) em cães, provocando diminuição na secreção de testosterona.

## Transtornos do córtex adrenal

### Hipoadrenocorticismo (Doença de Addison)

O hipoadrenocorticismo é um transtorno caracterizado pela perda da capacidade secretória do córtex adrenal, com falha na produção de glicocorticoides e mineralocorticoides. É uma condição rara em cães e ainda menos comum em felinos. Em cães, a frequência estimada é de 1 caso para cada 2.000 a 3.000 cães. O hipoadrenocorticismo também é conhecido como Síndrome de Addison, em homenagem a Thomas Addison, primeiro a descrever em humanos um conjunto de sintomas associados à hipofunção adrenocortical, no ano de 1855. Esta síndrome é potencialmente fatal se não reconhecida e tratada imediatamente, especialmente em face de uma crise addisoniana aguda.

Pode ocorrer devido à atrofia idiopática bilateral (primária) em 75 % dos casos com etiologia aparentemente ligada à reação au-

toimune. Também pode produzir-se secundariamente a infecções, tuberculose, anemia perniciosa, diabetes mellitus, hipotireoidismo ou por causas iatrogênicas devido a tratamentos prolongados com glicocorticoides ou por excesso de mitotano em pacientes com hiperadrenocorticismo. A doença de Addison por efeito secundário a uma deficiência de ACTH é rara. Neste caso, não é afetada a produção de aldosterona e apresenta deficiência seletiva da produção de glicocorticoides. As cadelas são mais acometidas que os machos em proporção de 7:3 e a maioria dos animais têm entre 2 e 7 anos de idade. Algumas raças parecem ter maior risco, como Poodle, Pastor Alemão, Dogue Alemão, São Bernardo, Basset Hound, Bearded Collie, Rottweiler, Great Dane e West White Highland Terrier.

### Etiopatogenia

Cerca de 95 % dos casos de hipoadrenocorticismo canino são referidos como primários, uma vez que o problema está localizado

TABELA 8 – POTÊNCIA RELATIVA E MEIA-VIDA DE ALGUNS CORTICOIDES NATURAIS E SINTÉTICOS

Corticoide	Potência mineralocorticoide	Potência glicocorticoide	Meia-vida
Cortisol	1	1	60-90 min
Cortisona	0,8	0,8	60-90 min
DOC	20	0	60 min
Corticosterona	2	0,3	40 min
Aldosterona	400	0,3	15 min
Prednisona	0,7	4	12-36 h
Prednisolona	1	4	12-36 h
Dexametasona	2	30	35-54 h
Betametasona	0	30	35-54h
Triamcinolona	0	3	12-36 h
Fluorocortisona	400	10	12-36 h

na glândula adrenal. A perda de pelo menos 90 % do parênquima é necessária para que ocorra manifestação clínica. Na maioria dos casos, a causa é uma destruição idiopática ou imunomediada do córtex adrenal. Nos casos imunomediados é possível detectar infiltrados mononucleares em ambas as glândulas, bem como anticorpos antielementos da glândula adrenal. A ocorrência desta síndrome apresenta uma predisposição genética bem definida em cães da raça Poodle Standard e Bearded Collies, sendo identificado um padrão de transmissão recessivo. Outras causas menos comuns de hipoadrenocorticismismo primário envolvem a destruição da glândula por doenças infecciosas, doenças infiltrativas, assim como destruição secundária por hemorragias em coagulopatias.

O hipoadrenocorticismismo secundário é raro, estando associado à destruição ou perda da capacidade secretória de ACTH pela adeno-hipófise. O hipoadrenocorticismismo iatrogênico pode ser resultado do uso crônico de drogas como o mitotano e o trilostano empregadas no tratamento do hiperadrenocorticismismo, bem como outras drogas como etomidato, imidazólicos, metiraponas e mifepristona. Outra possibilidade de ocorrência iatrogênica é pela interrupção abrupta da administração de glicocorticoides após um longo período de uso desse tipo de medicamento. O uso crônico de corticoides exógenos leva à inibição da função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, resultando em uma falência inicial da função glandular, caso uma administração crônica seja interrompida de forma abrupta.

#### Sinais clínicos

O hipoadrenocorticismismo se manifesta em animais jovens ou de idade média, mas existem relatos em cães variando de 2 a 14 anos. A apresentação inicial pode variar de um colapso agudo com choque hipovolêmico e hipoperfusão generalizada até sinais

mais brandos, vagos e pouco específicos, como observado no hipoadrenocorticismismo crônico (Quadro 3).

A apresentação clássica de uma crise addisoniana aguda envolve colapso agudo, hipovolemia e desidratação intensa, vômitos, diarreia, dor abdominal, hipotermia com extremidades frias, e muitas vezes pode haver severa hemorragia gastrointestinal com melena e hematoemese. É muito sugestiva de hipoadrenocorticismismo a bradicardia, mesmo na presença de hipovolemia, ou ainda a ausência de taquicardia nestas situações. Este tipo de apresentação representa um quadro emergencial e extremamente delicado, mas a resposta a uma terapia adequada e bem empregada tende a ser favorável.

Animais com a doença na forma crônica apresentam uma história clínica de um “mal que vem e vai”, ou seja, parece existir uma doença que deixa o animal mal, cessa e retorna periodicamente. Nestes casos, observa-se o desenvolvimento dos sinais clínicos após exposição a situações de estresse, e existe o relato de que o animal melhora após administração de fluidos ou de corticoides. Os pacientes com hipoadrenocorticismismo crônico têm histórico de sinais vagos e nada específicos, envolvendo problemas gastrointestinais, renais ou neurológicos. Tendem a apresentar uma combinação de sinais como letargia, fraqueza, depres-

QUADRO 3 – PRINCIPAIS PROBLEMAS CLÍNICOS EM ANIMAIS COM HIPOADRENOCORTICISMO

Fraqueza*	Letargia*	Depressão*	Emese*
Anorexia*	Hematemese	Diarreia	Perda de peso
Inapetência*	Choque	Melena/ Hematoquesia	Poliúria
Desidratação*	Tremores	Convulsões	Polidipsia
Hipovolemia*	Hipotermia	Bradicardia	Enrijecimento muscular

\* Sinais mais comuns

são, inapetência, vômitos e diarreias, com a severidade dos sinais variando bastante de indivíduo para indivíduo. Pode haver poliúria e polidipsia por causa da natriurese induzida pela falta de aldosterona, mas, na maioria das vezes, essa não é a queixa principal dos donos. Outros sinais neuromusculares como megaesôfago, câimbras e tremores podem estar presentes. Além disso, indivíduos com deficiência glicocorticoide possuem uma taxa de filtração glomerular reduzida e sofrem de oligúria, provavelmente devido à secreção aumentada do hormônio antidiurético. A compensação vascular da hipovolemia fica prejudicada e é possível um colapso vascular. A deficiência de aldosterona resulta na perda de sódio, de cloreto e de água e no acúmulo de potássio e hidrogênio.

Os pacientes com a forma crônica tendem a mostrar-se hipovolêmicos, desidratados e com os demais sinais relacionados à apresentação aguda, porém em menor intensidade. A hipotensão observada em quase a totalidade dos pacientes com diagnóstico de hipoadrenocorticismo ocorre em razão da deficiente secreção de aldosterona, bem como da ausência do efeito pressórico dos glicocorticoides sobre os vasos.

#### Diagnóstico

Uma diversidade de alterações laboratoriais fica evidente em pacientes com hipoadrenocorticismo, contudo, perante um paciente suspeito, a simples detecção de um hemograma com presença de linfocitose e/ou eosinofilia, ou a ausência de um hemograma de estresse em um paciente que definitivamente não está bem, é um forte indicativo de hipoadrenocorticismo (Quadro 4). O eritrograma mostra anemia não-regenerativa, apesar de que às vezes a medula ainda consegue evidenciar alguma regeneração de acordo com a severidade da perda de sangue.

QUADRO 4 – PRINCIPAIS ANORMALIDADES CLÍNICOPATOLÓGICAS OBSERVADAS EM CÃES COM HIPOADRENOCORTICISMO

HEMATOLOGIA	
Anemia não-regenerativa	Ausência de linfopenia e eosinopenia em um animal sob estresse
Linfocitose	Eosinofilia
BIOQUÍMICA CLÍNICA	
Hipercalemia	Hiponatremia
Hipocloremia	Azotemia pré-renal
Hiperfosfatemia	Hipercalcemia
Hipoglicemia	Baixa pCO <sub>2</sub> e HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (acidose metabólica)
Hipoproteinemia	Hipoalbuminemia
URINÁLISE	
Densidade variando de diluída a concentrada	

A desidratação pode subestimar a magnitude da anemia por aumentar a concentração dos eritrócitos em um plasma hipovolêmico.

Ocorre anemia normocítica normocrômica em 20-30 % dos cães. Cerca de 20 % dos cães apresentam eosinofilia absoluta e 10 % apresentam linfocitose absoluta. Hiponatremia (83 % dos cães), hipercalemia (90 %) e hipocloremia (46 %) são achados típicos nos animais com deficiência de aldosterona. Tais anormalidades eletrolíticas em um cão com letargia, fraqueza, anorexia, vômito e/ou diarreia poderiam indicar hipoadrenocorticismo, embora não sejam específicas. A concentração do ACTH plasmático endógeno é necessária para que se possa diferenciar o hipoadrenocorticismo primário sem anormalidades eletrolíticas do hipoadrenocorticismo secundário. Cerca de 20 % dos cães com hipoadrenocorticismo estão hipoglicêmicos.

As alterações bioquímicas mais comuns envolvem a presença de azotemia, hiponatremia, hipercalemia e hipocloremia, sendo a hipercalemia e a hipoglicemia menos comuns. A hiponatremia e a hipercalemia são resultados diretos da deficiência de aldosterona, a qual tem como função estimular a reabsorção de sódio a partir da luz tubular do néfron distal ao mesmo tempo que estimula a excreção urinária do potássio. Desta forma, o paciente passa a reabsorver menor quantidade de sódio ao passo que acumula potássio no organismo. Apesar disto, muitas vezes é difícil demonstrar a hiponatremia (valores < 135 mmol/L) e a hipercalemia (> 5 mmol/L). Desta forma, a avaliação da relação sódio:potássio passa a ser bastante útil. Um valor considerado normal é uma relação Na:K > 30:1. Valores menores que 27:1 são sugestivos de hipoadrenocorticismo. Quanto mais baixa a relação, maior a chance de tratar-se de hipoadrenocorticismo. Da mesma forma, o íon cloreto fica bastante reduzido (< 100 mmol/L), acompanhando o sódio.

Essas alterações podem ser mascaradas por tratamentos iniciais como fluidoterapia. Muitos casos que não apresentam distúrbios eletrolíticos podem ser pacientes com quadros iniciais de hipoadrenocorticismo, em que ainda resta uma secreção residual de mineralocorticoides, ou em casos atípicos em que só há deficiente produção de glicocorticoides. Nestes casos, a administração de mineralocorticoides não é necessária inicialmente, mas pode tornar-se obrigatória à medida que a doença evolui em questão de semanas ou meses. Além disto, uma grande variedade de condições patológicas associadas ao sistema urinário digestivo ou ao fígado pode provocar alterações hidroeletrólíticas semelhantes às observadas no hipoadrenocorticismo, o que torna o diagnóstico um tanto desafiador, especialmente porque transtornos gastrointesti-

nais, renais ou hepáticos são muito mais comuns do que hipoadrenocorticismo. Outros fatores que podem alterar o perfil hidroeletrólítico são pancreatite, estágios finais de insuficiência cardíaca, efusões cavitárias, neoplasias e gestação. Outros dois fatores confundidores são a falsa hipercalemia induzida pela hemólise de amostras (liberação de potássio intracelular) e a hipercalemia da raça Akita.

O eletrocardiograma é uma ferramenta útil na avaliação do paciente com hipoadrenocorticismo, sendo um indicador sensível de hipercalemia, ao evidenciar alterações como aumento na amplitude da onda T, menor amplitude ou ausência da onda P, redução no intervalo QT e aumento no intervalo PR.

A hipoperfusão renal associada à hipotensão provocada pela Síndrome de Addison ocasiona a ocorrência de azotemia pré-renal e de hiperfosfatemia. Além disso, a perda urinária de sódio acaba tornando o interstício renal hipotônico, o que leva a dificuldades na reabsorção de água no néfron distal. Por esta razão, boa parte dos pacientes apresenta urina diluída na urinálise. Estes dois aspectos fazem com que muitos pacientes com hipoadrenocorticismo sejam erroneamente diagnosticados com doença renal primária severa. Hipoproteinemia e hipoalbuminemia podem ocorrer, por maior perda intestinal e menor síntese pelo fígado de albumina, assim como a hipoglicemia, consequência da menor gliconeogênese na falta de glicocorticoides. A magnitude da hipoproteinemia pode ser mascarada pela desidratação da mesma forma que o eritrograma.

Os exames de imagens são relativamente úteis por apresentarem algumas características compatíveis, mas não específicas na maioria das vezes. As radiografias evidenciam microcardia, redução nas áreas da veia cava caudal, micro-hepatia e redução do calibre da artéria pulmonar cranial. Megaesôfago tam-

bém pode ser evidenciado em radiografias. A ecografia é útil em demonstrar menor volume tanto de fígado quanto de baço, assim como uma reduzida espessura das adrenais, uma das principais diferenças entre um cão normal e um com hipoadrenocorticismo. No entanto, a maioria dos achados citados acima são evidências de hipotensão somente, não sendo exclusivas de hipoadrenocorticismo.

O diagnóstico definitivo do hipoadrenocorticismo se obtém ao demonstrar falta de resposta em um teste de estimulação com ACTH ou uma resposta fraca (cortisol pós-ACTH menor que 50 ng/mL). Amostras sanguíneas devem ser obtidas antes e uma hora após a administração de 5 µg/kg ou 250 µg/animal de cosintropina (ACTH sintético) para dosagem de cortisol. A dosagem de cortisol basal não fornece um diagnóstico definitivo, embora a concentração possa estar baixa (< 5 ng/mL). No animal normal, o ACTH provoca aumento significativo na secreção de cortisol. É fundamental que o teste seja realizado antes da administração de corticoides diferentes da dexametasona (prednisona, prednisolona, hidrocortisona), uma vez que estes corticoides sintéticos apresentam reação cruzada com o cortisol nos imunoenaios. Apesar de definir o diagnóstico, o teste não diferencia a origem do problema (primário, secundário ou iatrogênico). Na insuficiência adrenal primária, a produção reduzida de cortisol resulta na secreção aumentada do ACTH hipofisiário, não havendo aumento em resposta ao ACTH exógeno. Na insuficiência adrenal secundária por falta de ACTH, as células adrenocorticais atrofiadas são incapazes de responder à estimulação aguda com o ACTH exógeno. A dosagem sérica de ACTH pode distinguir a origem entre primária (concentração de ACTH > 200 pmol/L) e secundária (concentração de ACTH < 5 pmol/L).

A anamnese e a história clínica auxiliam na identificação de casos iatrogênicos (uso excessivo de mitotano ou trilostano para tratamento de HAC, ou descontinuidade de uso crônico de corticoides). A dosagem de aldosterona sérica antes e após a estimulação pelo ACTH pode auxiliar na determinação de pacientes com hipoadrenocorticismo primário (baixa concentração de aldosterona) e de pacientes com hipoadrenocorticismo secundário ou atípicos (concentração de aldosterona relativamente normal).

### Tratamento

O objetivo do tratamento é restabelecer a homeostase do animal e assim controlar os desarranjos metabólicos do paciente. A insuficiência adrenocortical aguda requer tratamento imediato. Animais em crise addisoniana necessitam de uma rápida intervenção, e muitas vezes o choque hipovolêmico pode evoluir para falência múltipla de órgãos e óbito se não for combatido rapidamente. O tratamento em longo prazo tem por objetivos manter o equilíbrio do sódio e do potássio no organismo, bem como evitar complicações secundárias à deficiência de glicocorticoides.

Os pacientes em crise addisoniana são suscetíveis à administração de fluidos, assim como à rápida estabilização do sódio, o que pode gerar uma série de sintomas neurológicos secundários a danos estruturais reversíveis no SNC. Um protocolo básico para intervenção é a administração de solução salina 0,9 % a uma taxa de 20-40 mL/kg/hora por via intravenosa nas primeiras 3 horas, seguida da administração subsequente na dose de no máximo 5 mL/kg/hora. O sódio deve ser monitorado, para garantir que não irá aumentar mais do que 10 a 12 mmol/L nas primeiras 24 horas, para não induzir lesões neurológicas (mielinólise). A terapia parenteral deverá ser mantida até que o paciente esteja hidratado



com a função gastrointestinal regulada e esteja bebendo e comendo sozinho, para iniciar terapia por via oral. Até lá algumas sugestões de protocolos envolvem a administração de succinato sódico de hidrocortisona (SSH) a 1 mg/mL em infusão contínua na dose de 0,5 mg/kg/hora. Como opção a este protocolo que exige a disponibilidade de uma bomba de infusão, pode-se administrar SSH em bolus na dose de 5 a 20 mg/kg, IV, a cada 6 horas. Outras opções com outros glicocorticoides envolvem a administração de succinato sódico de prednisolona na dose de 4 a 20 mg/kg, IV, seguido de fosfato sódico de dexametasona na dose de 0,05 a 0,1 mg/kg diluído no fluido que está sendo administrado IV ao longo de 12 horas, ou ainda a administração de um bolo de dexametasona na dose de 0,1 a 2 mg/kg, IV, seguida da administração de fosfato sódico de dexametasona na dose de 0,05 a 0,1 mg/kg diluído no fluido que está sendo administrado IV ao longo de 12 horas. Como a atividade mineralocorticoide desses glicocorticoides é reduzida, a administração de fludrocortisona (0,01 mg/kg, a cada 12 horas) pode ser tentada após controle dos vômitos.

A administração de glicose nos fluidos é necessária somente se houver hipoglicemia detectada e, nestes casos, a administração de fluidos com 2,5 % de glicose, IV, são suficientes (adicionar 25 mL de glicose 50 % a cada frasco de 500 mL de solução salina). A resposta glicêmica do paciente deverá ser monitorada. A correção da hipercalemia ocorre espontaneamente com a administração de fluidos IV. No entanto, nos casos onde houver uma hipercalemia muito pronunciada, pode-se adicionar bicarbonato de sódio (1 a 2 mEq/kg, de forma lenta, por via IV) ao fluido. Outra opção é administração de glicose e insulina regular por via intravenosa para redução do potássio, uma vez que a insulina estimula a captação de potássio pelas células. Administra-se 0,5 U/kg de insulina regular

com 3 g de glicose/unidade de insulina, sendo metade da dose de glicose administrada em bolo e o restante, ao longo de 6 horas, diluída na solução salina. Nestes casos, a monitoração da resposta glicêmica também se torna fundamental.

Após a estabilização inicial do paciente, ou naqueles casos em que o diagnóstico é feito em um animal clinicamente estável (sem vômitos ou diarreia), é necessário manter a reposição de mineralocorticoides e glicocorticoides para garantir a vida do animal. Os animais afetados apresentam uma redução na capacidade de modificar o balanço de sódio e água no organismo, e desta forma jamais se deve administrar uma dieta pobre em sódio a esses animais. Nos casos em que a fludrocortisona não está sendo efetiva sozinha, pode-se adicionar sal na dose de 0,1 g/kg/dia na dieta.

Os protocolos para tratamento médico do hipoadrenocorticismos envolvem a administração de mineralocorticoides semis-seletivos como a fludrocortisona em dose aproximada de 0,1 mg/5 kg de peso corporal do paciente (dividido em duas vezes por dia), associada à administração de prednisona de acordo com a necessidade (2,5 a 10 mg/dia, em dias alternados). Outra opção seria a administração de hidrocortisona na dose de 0,625 mg/kg – 3/4 a 2/3 da dose pela manhã e o restante à tarde – associada à administração de fludrocortisona na dose de 0,05 mg/5 kg de peso corporal (dividido em duas vezes por dia).

Recomenda-se a administração dos mineralocorticoides divididos em 2 vezes por dia para proteger o animal de vomitar a dose total, caso surja um problema gastrointestinal. A dose de glicocorticoides deve ser aumentada sempre que o paciente for passar por situações de estresse (visita ao veterinário ou à estética, passeios mais longos, viagens

de carro, afastamento dos donos). O paciente deve-se manter clinicamente estável, com uma qualidade de vida normal e mantendo o peso corporal estável. Animais com hipoadrenocorticismo atípico podem necessitar somente de glicocorticoides inicialmente.

O prognóstico destes pacientes é excelente, desde que se identifique a doença e se trate de forma adequada. Estes animais tendem a ter vidas normais, mas é importante alertar aos donos que as medicações jamais devem ser descontinuadas, e perante doenças não adrenais ou episódios de estresse, é fundamental aumentar a dose de glicocorticoide do paciente, uma vez que não apresenta nenhuma reserva funcional. A média de sobrevida de animais é de 5 anos após o diagnóstico.

#### Hiperadrenocorticismo (Síndrome de Cushing)

O hiperadrenocorticismo ou síndrome de Cushing é uma das endocrinopatias mais comuns no cão e ocasional no cavalo e no gato. Refere-se ao conjunto de anormalidades clínicas e bioquímicas que resultam da exposição crônica a concentrações excessivas de glicocorticoides. A doença foi descrita pela primeira vez em humanos por Harvey Cushing por volta de 1910, descrevendo uma série de pacientes que apresentavam sinais clínicos de hipercortisolismo, associado a pequenos tumores basofílicos na hipófise. Os níveis elevados de cortisol causam os sinais clínicos, mas a anormalidade pode estar nas glândulas adrenais (primária) ou na hipófise (secundária ou hipófise-dependente). O distúrbio pode ser causado também de forma iatrogênica pela administração prolongada e excessiva de corticoides sintéticos.

Em cães, os primeiros relatos datam da década de 1970 e, apesar de ser relativamente comum nas rotinas clínicas, o hiperadrenocorticismo é uma moléstia consi-

derada rara. A ocorrência em felinos é ainda menos comum, com pouco mais de algumas dezenas de casos descritos no mundo. O termo síndrome de Cushing aplica-se mais corretamente aos casos associados a tumores hipofisiários. O hiperadrenocorticismo acomete geralmente cães de meia-idade a idosos. As raças mais predispostas são Poodle, Dachshund, Yorkshire Terrier, Pastor Alemão, Beagle, Labrador e Boxer. Machos e fêmeas são acometidos na mesma proporção. O HHD é mais comum em cães menores (75 % tem menos de 20 kg de peso) enquanto o tumor adrenal é mais comum em cães com mais de 20 kg.

#### Etiopatogenia

O hiperadrenocorticismo (HAC) pode ser de ocorrência natural ou iatrogênico. No HAC de ocorrência natural, em cerca de 80 a 85 % dos casos, o problema é uma excessiva secreção de ACTH pela adeno-hipófise, caracterizando um hiperadrenocorticismo pituitário-dependente (HPD). Como resultado ocorre uma hiperplasia bilateral do córtex das adrenais, resultando em excessiva secreção de cortisol e, eventualmente, outros hormônios/precursos esteroidais. Considera-se que mais de 90 % dos cães com HPD apresentem tumores hipofisiários, geralmente adenomas, originários da adeno-hipófise. A peculiaridade da secreção de ACTH pela *pars intermedia* é que esta se encontra sob controle neural, principalmente através de inibição dopaminérgica. A secreção de ACTH pela adeno-hipófise está sob controle hipotalâmico pelo CRH.

As alterações patológicas observadas no HPD são basicamente três:

(1) Microadenomas (menores que 10 mm), que afetam mais de 80 % dos cães com HPD.

(2) Macroadenomas (maiores que 10 mm), que afetam cerca de 10 a 15 % dos cães com HPD. Apesar de apresentar crescimento lento, estes tumores comprimem o resto da glândula e às vezes se projetam dorsalmente para o hipotálamo, podendo levar a sinais neurológicos (raro). Podem ocorrer adenocarcinomas também, porém sua ocorrência parece pouco comum.

(3) Falha primária na resposta ao feedback negativo promovido pelo cortisol. Nestes casos não há uma neoplasia associada à maior secreção de ACTH e acredita-se que possa haver relação com desordens hipotalâmicas que venham a provocar uma hiperestimulação das células corticotróficas da adeno-hipófise, ou que exista uma hipersecreção de CRH pelo hipotálamo.

De qualquer forma, o HPD sempre está associado à ruptura do eixo de controle hipotálamo-hipófise-adrenal, uma vez que a maior produção de cortisol deixa de inibir a secreção de ACTH. Apesar desta maior taxa de secreção, como a liberação do ACTH é episódica, a concentração basal de cortisol está dentro do normal. Clinicamente torna-se menos importante definir a patologia hipofisiária, a menos que existam sinais neurológicos, ou estes venham a surgir durante o tratamento.

O hiperadrenocorticismismo por tumor adrenocortical corresponde a 15 % dos casos. Nesses casos ocorre excessiva secreção do cortisol independentemente do estímulo pelo ACTH, que suprime a secreção de CRH e ACTH. Metade dos tumores são benignos e a maioria são tumores unilaterais, caracterizando um hiperadrenocorticismismo adrenodependente (HAD). Os adenomas adrenocorticais são tumores pequenos e bem circunscritos, não invasivos e não metastáticos. Cerca de 50 % desses apresentam-se calcificados. Os carcinomas adrenocorticais são grandes, invasivos (veia frênico-abdominal, cava ab-

dominal, aorta, vasos renais), hemorrágicos e necróticos, muitas vezes produzindo metástases nos pulmões, fígado e rins.

Com a hiperprodução de cortisol pelo tumor, ocorre uma inibição da secreção de ACTH pela adeno-hipófise, uma vez que não há nenhuma anormalidade hipotalâmico-hipofisiária. Como consequência ocorre a atrofia do córtex da adrenal contralateral e do córtex ipsilateral não afetado pelo tumor. Isto se torna importante clinicamente quando se programa uma adrenalectomia unilateral como forma de tratamento, uma vez que o paciente torna-se um hipoadrenocorticóide a partir da retirada da adrenal tumoral.

Outras causas de HAC incluem tumores adrenais associados ao HPD, tumores adrenais bilaterais e síndromes de secreção de ACTH ectópico. A síndrome do ACTH ectópico é mais comum em humanos, com somente um relato em cães. Além dessas causas, o hiperadrenocorticismismo iatrogênico é motivo de apresentação de pacientes com sinais clínicos de hipercortisolismo. Cada animal apresenta uma sensibilidade diferente a uma mesma dose de glicocorticoides exógenos. Tratamentos prolongados e com doses maiores (doenças autoimunes e alérgicas) podem provocar mais facilmente sinais clínicos de hipercortisolismo, muitas vezes limitando a continuidade do tratamento inicial. Contudo, um paciente com hipercortisolismo iatrogênico, apesar de manifestar clinicamente o excesso de glicocorticoides circulantes, na verdade pode ser considerado um paciente com hipoadrenocorticismismo iatrogênico, uma vez que, se retirada a fonte exógena de corticoides, ambas adrenais estão atrofiadas e uma crise addisoniana pode se precipitar.

Além dos efeitos sistêmicos do excesso de glicocorticoides, inibem-se outras funções hipofisiárias e hipotalâmicas, resultando em hipotireoidismo secundário reversível

(por inibição da secreção do TSH), anestro nas fêmeas ou atrofia testicular nos machos (por inibição do FSH e LH) e baixa estatura em cães em crescimento (inibição do GH).

#### Sinais clínicos

O HAC é uma doença de progressão lenta e insidiosa, sendo difícil a detecção dos sintomas pelos proprietários, que acreditam muitas vezes que as anormalidades que o animal vem apresentando devem-se somente à idade (dificuldades para subir escadas ou transpor obstáculos, cansaço, ofego, ganho de peso). Além disto, animais com hiperadrenocorticismo não se apresentam clinicamente doentes. Apesar de ocorrer em cães de qualquer raça, Poodle, Dachshund e Terrier apresentam uma maior predisposição ao desenvolvimento de HAC. Cães de raças pequenas estão mais propensos a desenvolver HPD, enquanto cães de porte maior estão mais propensos a desenvolver HAD.

Com relação à idade, considera-se o HAC uma doença de cães de meia idade a idosos, como uma amplitude de ocorrência ampla, de 2 até 16 anos, com uma média de 7-9 anos para HPD e amplitude de 6 até 16 anos com média de 11-12 anos para HAD. É muito rara a ocorrência de HAC em cães com menos de 2 anos. As fêmeas parecem estar levemente mais predispostas ao desenvolvimento de HAC, especialmente na forma dependente da adrenal.

Difícilmente um cão com HAC irá apresentar todos os sinais clínicos esperados, podendo muitas vezes apresentar somente um ou dois (Quadro 5). A magnitude dependerá do tempo de progressão da doença, bem como de características individuais.

A poliúria observada no HAC em cerca de 85 % dos casos deve-se a três mecanismos integrados: 1) aumento do fluxo sanguíneo

QUADRO 5- SINAIS CLÍNICOS MAIS FREQUENTES EM CÃES COM HAC

Poliúria / polidipsia	Polifagia
Aumento de volume abdominal	Fraqueza muscular
Redução na tolerância a exercícios	Ofegação intensa
Letargia	Obesidade
Alopecia / rarefação pilosa	Calcinose cutânea
Anestro persistente / atrofia testicular	Intolerância ao calor
Acne (piodermatite / comedões)	Hiperpigmentação cutânea
Exoftalmia	Fragilidade vascular

renal, com conseqüente aumento da taxa de filtração glomerular; 2) inibição da secreção de ADH pelos valores elevados de cortisol; 3) interferência do cortisol na sensibilidade renal ao ADH. Com a maior perda hídrica e conseqüente desidratação, centros hipotalâmicos envolvidos com o controle da osmolaridade detectam o aumento de osmolaridade associada à desidratação e ativam o mecanismo da sede, com conseqüente polidipsia. Ainda assim, muitos pacientes não conseguem manter a hidratação e apresentam-se desidratados ao exame clínico.

A polifagia é um efeito clássico do cortisol, aumentando o apetite e sendo observado em mais de 90 % dos cães com HAC. No centro da fome no hipotálamo, o cortisol estimula a expressão do neuropeptídeo Y (NPY), uma potente substância orexígena. Como resultado, os pacientes com HAC apresentam um apetite intenso, voraz e insaciável. Muitas vezes roubar lixo, brigar com outros cães por causa de comida ou às vezes até pedir de forma agressiva pelo alimento são características detectadas na anamnese.

O abdômen pendular (*potbellied*) é o principal marcador clínico do HAC canino,

estando presente em mais de 80 % dos cães com HAC. Quatro justificativas explicam esse padrão morfológico: 1) a hepatomegalia secundária à síntese e o armazenamento exagerado de glicogênio hepático fazem pressão sobre a parede abdominal ventral; 2) o cortisol, apesar de lipolítico, quando em grandes quantidades, promove acúmulo de gordura intra-abdominal; 3) a maior produção de urina distende a bexiga, que não consegue ser esvaziada completamente a cada micção porque o músculo detrusor da bexiga está sofrendo catabolismo, deixando a bexiga flácida; 4) a musculatura abdominal encontra-se atrofiada e com tônus reduzido, não suportando a pressão das vísceras abdominais.

A fraqueza muscular é resultado direto do efeito do cortisol. Como esse é um hormônio gliconeogênico, parte de seus efeitos é mobilizar aminoácidos para a síntese de glicose no fígado. Como resultado ocorre um catabolismo da musculatura esquelética, levando o paciente a desenvolver dificuldades para transpor obstáculos, como subir escadas, entrar no carro ou subir em um sofá ou cama, associado a uma hipotonia muscular. Esses sinais são verificados em 75 a 85 % dos casos. Da mesma forma, a intolerância aos exercícios acompanha os sinais não só pela limitação muscular, mas também pela limitação respiratória e às vezes cardiovascular.

A maior taxa respiratória associada à queixa de ofego contínuo é decorrente de uma série de fatores associados ao HAC. O fígado encontra-se aumentado de volume, comprimindo o diafragma e limitando a capacidade de expansão da cavidade torácica. O cortisol também aumenta a deposição de gordura dentro do tórax, associado à proteólise da musculatura respiratória e à mineralização do pulmão observada nestes casos. Assim, a única estratégia para manter uma adequada ventilação é o aumento da frequên-

cia respiratória. Por essa razão, estes animais apresentam intolerância ao calor. Essas limitações em conjunto levam o paciente à fadiga fácil e letargia. Estes cães não toleram grandes caminhadas e às vezes a fraqueza muscular pode chegar ao ponto de não ter capacidade para se manter em estação. A letargia e a redução da atividade física reduzem o gasto calórico dos indivíduos, o que, associado à ingesta exagerada de alimentos, resulta em ganho de peso e obesidade.

Por causa da idade avançada e do sobrepeso identificados em uma proporção significativa de casos de HAC, muitos destes animais podem apresentar alterações articulares, como atroses e artrites. Contudo, o hipercortisolismo mascara os sinais relacionados a esses problemas por seus efeitos anti-inflamatórios. Além disto, o catabolismo promovido pelo cortisol em excesso pode muitas vezes predispor a rupturas de ligamento cruzado e luxações de patela, sem uma maior manifestação de dor ou desconforto frente ao problema. O tratamento do HAC pode muitas vezes “desmascarar” esses sinais, e o paciente pode passar a apresentar claudicação, posterior à normalização do cortisol. Os proprietários devem ser avisados disto antes do início do tratamento.

Com relação aos aspectos reprodutivos, ocorre uma maior secreção de andrógenos pela adrenal nos casos de HAC. Como resultado, elevadas concentrações de DHEA são secretadas para a circulação, sendo convertidas na periferia em androstenediona, causando um maior feedback negativo sobre hipotálamo-hipófise, que resulta em menor secreção de gonadotropinas LH e FSH. Nos machos, o resultado é uma discreta feminilização, associada a menor libido, atrofia testicular e menores concentrações de testosterona de origem testicular em cães. Nas fêmeas, o mesmo processo ocorre, e o resultado da

menor secreção de LH e FSH resulta em supressão do ciclo estral e anestro persistente. Em geral, o período de anestro corresponde ao tempo de evolução do HAC e pode ser um dado para estimar o tempo de evolução de doença. A maior produção de andrógenos adrenais promove uma virilização das fêmeas afetadas, algumas delas chegando a apresentar hipertrofia de clitóris.

#### Marcadores cutâneos do hiperadrenocorticismismo canino

Cães com HAC apresentam uma série de marcadores cutâneos, que podem estar presentes em diferentes graus de acordo com o tempo de evolução da doença e de características raciais e imunológicas. Os sinais cutâneos são bastante comuns e associados a prurido. A alopecia/rarefação pilosa observada nos cães com Cushing é um sinal bastante frequente relatado pelos donos e, na maior parte das vezes, é nitidamente visível um padrão de alopecia simétrica bilateral. Esse padrão é resultado da atrofia dos folículos pilosos promovida pelos efeitos catabólicos do cortisol. Cães com pelos mais grossos apresentam certa resistência à alopecia por ter folículos mais robustos. Observa-se uma atrofia do aparato pilosebáceo adjacente ao folículo e deposição de queratina nos folículos atrofiados (comedões). A ocorrência destes comedões é mais comum ao redor dos mamilos e da vulva, mas podem ocorrer em qualquer parte do tronco e abdômen. Este padrão de alopecia pode ser discreto, envolvendo somente extremidades de acidentes ósseos, bem como ser mais generalizada, afetando flancos, períneo e abdômen.

Um dos principais marcadores cutâneos do hiperadrenocorticismismo canino é a atrofia cutânea, resultado direto dos efeitos catabólicos do cortisol. O mesmo princípio que

leva à atrofia da musculatura ocorre também na pele, onde as proteínas constitutivas deste tecido (colágeno e elastina) passam a sofrer catabolismo em prol da gliconeogênese. A atrofia cutânea é um achado frequente nos pacientes afetados e fica bastante nítida na pele ventral do abdômen. Além disto, muitas vezes a pele demonstra-se com uma elasticidade maior que o normal em decorrência da atrofia, podendo chegar a romper-se por tração. Este afinamento cutâneo permite a fácil visualização dos vasos subcutâneos, que se encontram bastante dilatados, caracterizando a telangiectasia, o que, associado à apatia e pouca mobilidade dos cães com HAC, muitas vezes pode levar à formação de úlceras de decúbito. Essas lesões podem infectar-se e necessitam de cuidados intensivos, além de haver necessidade de tratamento do HAC para facilitar a resolução das lesões.

O fraco estado imunológico também predispõe a manifestação de demodicose e dermatofitose em cães adultos. Essas enfermidades são doenças comuns em filhotes e sua identificação em cães adultos pode indicar estados de imunossupressão como o HAC. Cerca de 30 % dos cães com HAC apresentam sinais de seborreia seca ou oleosa. Prurido moderado a intenso em um cão com HAC não tratado pode muitas vezes estar associado à escabiose.

A calcinose cutânea é uma alteração pouco comum, porém bem descrita associada ao HAC canino. Essas lesões formam placas firmes, irregulares sobre ou abaixo da pele, como se o tecido ósseo estivesse substituindo a pele normal. Essas lesões surgem na região temporal do crânio, linha média dorsal, pescoço, abdômen ventral e região inguinal. A calcinose representa uma calcificação distrófica, sendo que os mecanismos envolvidos ainda não foram completamente elucidados. Foi de-

monstrado que cães com HAC apresentam um hiperparatireodismo secundário, com os elevados valores de PTH podendo exercer algum papel com as anormalidades no metabolismo de cálcio e fósforo.

#### Diagnóstico

Durante a avaliação inicial de um paciente com suspeita de HAC é necessária a realização de análises laboratoriais, em que através da realização de hemograma, perfil bioquímico e urinálise, busquem-se evidências da existência do hipercortisolismo, assim como se deve pesquisar outras patologias responsáveis pelos sinais clínicos do paciente.

O hemograma de animais com HAC apresenta um perfil de estresse, com linfopenia ( $< 1.500/\mu\text{L}$ ) e eosinopenia ( $< 200/\mu\text{L}$ ), associado à neutrofilia branda a moderada e monocitose. A linfopenia é resultado da linfocitólise induzida pelos corticoides, ao passo que a eosinopenia se deve ao sequestro destas células na medula óssea. O aumento dos neutrófilos e monócitos na circulação deriva da reduzida marginalização e diapedese destas células por efeitos dos corticoides. No eritrograma, eventualmente, pode-se observar policitemia, bem como anemia, contudo não se observam alterações nas células vermelhas. A plaquetometria está elevada ( $> 400.000/\mu\text{L}$ ).

No perfil bioquímico, a principal alteração é o aumento na atividade sérica da fosfatase alcalina, observada em mais de 90 % dos casos. Cães com HAC apresentam uma isoforma da FA induzível por corticoides endógenos e exógenos, que pode chegar a mais de 10 vezes o limite máximo. Apesar disto, uma atividade normal da FA não descarta o diagnóstico de HAC. Por outra parte, o fígado de pacientes com HAC encontra-se bastante aumentado de volume como consequência do exagerado acúmulo de glicogênio hepático

secundário à maior gliconeogênese hepática. Esta tumefação hepatocelular causa aumento na atividade da enzima ALT, porém esse aumento é moderado ( $< 500 \text{ U/L}$ ). A tumefação hepatocelular também leva à colestase intra-hepática, estimulando um aumento adicional na atividade da FA.

A glicose sérica dos pacientes com HAC fica na faixa superior ( $120 \text{ mg/dL}$ ). Contudo, alguns pacientes podem apresentar glicemias maiores, com cerca de 5 a 20 % dos casos podendo vir a desenvolver diabetes mellitus secundária à exaustão pancreática pelo antagonismo que os glicocorticoides promovem sobre os efeitos da insulina. A hiperlipidemia secundária ao HAC é outro achado bastante comum, e os aumentos de colesterol e de triglicerídeos são atribuídos aos efeitos lipolíticos e anti-insulina dos glicocorticoides. Cerca de 10% dos cães com síndrome de Cushing possuem concentrações de colesterol normais ( $< 250 \text{ mg/dL}$ ), 15 % possuem concentrações de 250-300 mg/dL e 75 % possuem valores maiores que 300 mg/dL. Os indicadores de função renal, ureia e creatinina estão normais a reduzidos por causa da diurese induzida pelos corticoides. Contudo, a ureia pode estar próxima do limite superior pela proteólise exacerbada, e a creatinina abaixo de 0,7 mg/dL pela menor massa muscular.

A urinálise em pacientes com suspeita de HAC é uma importante ferramenta de avaliação geral. A densidade da urina é inferior a 1.015, sendo muitas vezes hipostenúrica ( $< 1.008$ ), desde que os cães tenham livre acesso à água. Se privados de água, a maioria dos cães consegue concentrar a urina, porém esta capacidade é reduzida. Em cães com macroadenomas comprimindo a neuro-hipófise, uma diabetes insípida central pode ficar evidente. Cerca de 50 % dos cães com HAC apresentam infecções ocultas do trato urinário, uma vez que, além da imunodepressão, a bexiga não é esvaziada completamente a cada

micção, permanecendo sempre um volume residual. Uma vez que os corticoides inibem a resposta inflamatória, o exame do sedimento urinário pode não apresentar piúria ou hematúria, motivo pelo qual se indica sempre a realização de urocultura nestes pacientes. Além disto, a bacteriúria pode não ser evidente pela diluição promovida pela poliúria. Proteinúria associada é observada em 50 % dos cães com HAC, sendo de leve a moderada, e secundária à hipertensão sistêmica promovida pelos corticoides. Glicosúria só fica evidente naqueles pacientes com HAC que desenvolvem diabetes mellitus secundária.

Com relação às dosagens hormonais, o HAC provoca interferência com diferentes testes endócrinos, muitas vezes causando confusão na interpretação destes parâmetros. Cerca de 70 % dos casos de HAC apresentam valores baixos de  $T_3$  e de  $T_4$ , como efeito da inibição da secreção de TSH pelos glicocorticoides. Apesar disto, este estado de hipotireoidismo secundário não deve ser alvo de reposição hormonal. Deve-se tratar o HAC, e se não houver normalização dos hormônios tireoidianos, pode-se iniciar um tratamento para hipotireoidismo. O PTH encontra-se aumentado em mais de 80 % dos cães com HAC como consequência da maior excreção urinária de cálcio. Além disto, o aumento no PTH pode ter relação com as calcificações distróficas observadas no HAC canino. A insulina sérica de pacientes com HAC está normal a aumentada, evidenciando a resistência periférica ao hormônio, ao passo que o hormônio do crescimento está reduzido nestes pacientes por causa de uma maior secreção de somatostatina pelo hipotálamo em face do hipercortisolismo.

Recomenda-se a realização de radiografias torácicas e abdominais de cães com HAC. Aumento de volume abdominal fica evidente em projeções laterolaterais, bem como ventrodorsais. Muitas vezes a grande deposição

de gordura intra-abdominal faz com que exista um bom contraste para identificação das estruturas. A identificação de adrenais calcificadas pode indicar a presença de tumores adrenais, uma vez que cerca de 50 % deles, sejam eles adenomas ou adenocarcinomas, costumam calcificar. A calcinose cutânea também pode ser detectada em radiografias. A bexiga muito distendida pode ser facilmente visualizada no exame radiográfico, algumas vezes com cálculos. A osteopenia promovida pelos corticoides pode ficar evidente quando se avalia a densidade dos corpos vertebrais em comparação aos processos vertebrais. Radiografias torácicas podem evidenciar metástases de tumores adrenais, bem como mostrar evidências de tromboembolismo pulmonar, uma complicação rara associada ao HAC canino, porém potencialmente fatal.

A ultrassonografia abdominal é um dos exames complementares que oferece mais informações sobre o paciente e é um importante exame a ser solicitado em pacientes com suspeita de HAC. Além de oferecer indícios suficientes para determinar a origem do HAC (hipofisiário ou adrenal), a avaliação ultrassonográfica da cavidade abdominal permite avaliar todos os órgãos abdominais e realizar desta forma uma abordagem mais sistêmica do paciente. Ecograficamente, o fígado dos pacientes com HAC aparece aumentado de volume, com parênquima homogêneo e hiperecogênico. A imagem dos rins evidencia sinais de calcificação da pelve renal, e muitas vezes a imagem ecográfica da bexiga apresenta sinais de infecção urinária ou cálculos. Pielonefrite é outra consequência do HAC que pode ser suspeitada após uma ecografia. As glândulas adrenais são de difícil visualização na ecografia. A glândula adrenal direita é mais difícil de ser localizada uma vez que está mais cranial e entre o rim direito, veia cava caudal e polo caudal do fígado. A glândula adrenal esquerda tem sua localização mais variável. Ecograficamente



as glândulas adrenais aparecem achatadas, bilobuladas, homogêneas e hipoeoicas comparadas aos tecidos circunjacentes. Alguns trabalhos avaliaram as dimensões das adrenais em cães saudáveis e em cães com HPD, porém não existem valores de referência tidos como normais para diferentes raças e portes. Apesar disso, adrenais com mais de 0,75 cm de espessura, especialmente a esquerda, apresentam uma elevada especificidade e sensibilidade para o diagnóstico de HAC pituitário dependente. Contudo, esse achado isolado não é suficiente para um diagnóstico definitivo da doença. A ocorrência do HPD está associada a um espessamento de ambas as glândulas adrenais de forma simétrica. Nos casos de tumores adrenais, observa-se uma das glândulas com dimensões aumentadas e perda da arquitetura normal e de suas características ecográficas. Os tumores apresentam-se heterogêneos e mais ecogênicos. Os adenocarcinomas muitas vezes podem aparecer císticos na ecografia. A formação de sombra acústica pode indicar a calcificação de um adenoma ou de um adenocarcinoma. Da mesma forma, a superfície lisa e regular ou rugosa e irregular pode dar pistas sobre o tipo de tumor. Nos casos de tumores adrenocorticais funcionais, observa-se uma atrofia da glândula contralateral, muitas vezes não observada nas ecografias rotineiras. Na presença de um tumor adrenal, órgãos como fígado, baço e rins devem ser avaliados em busca de metástases.

#### Testes endócrinos

Para o diagnóstico do HAC canino é utilizada uma variedade de testes hormonais, com o objetivo de determinar não só a causa da doença, mas também se a origem do problema é hipofisiária (HPD) ou adrenal (HAD). A diferenciação da origem do problema é importante, uma vez que pode determinar mudanças no protocolo terapêutico, bem como influenciar no prognóstico do paciente.

A dosagem isolada de cortisol basal não traz nenhum valor diagnóstico ao processo investigativo por diferentes razões: (1) cães não apresentam um ritmo circadiano bem definido de secreção de cortisol como observado em humanos, e desta forma a avaliação do cortisol basal, independentemente do horário do dia, não serve como indicador da função glandular; (2) não há, na maior parte do dia, um hiper-cortisolismo franco, uma vez que cães com HAC, independentemente da origem, passam praticamente todo o dia com a concentração de cortisol dentro da faixa de referência (5–60 ng/mL); (3) no HAC há uma maior frequência de pulsos de secreção, associada a uma maior amplitude destes picos. Apesar disso, a concentração basal pode permanecer dentro da faixa de referência no HAC, assim como cães saudáveis podem apresentar valores elevados de cortisol basal (> 60 ng/mL) se estiverem estressados ou nervosos.

O teste de estimulação com ACTH parte do pressuposto de que, após a aplicação do hormônio adrenocorticotrófico, há um aumento considerável na secreção de cortisol pelas adrenais. Tumores adrenais ou a hiperplasia bilateral das adrenais secundária a tumor hipofisiário respondem exageradamente à estimulação pelo ACTH. Este teste é bastante prático e uma excelente ferramenta diagnóstica, sendo menos afetado por doenças não adrenais ou estado de estresse do paciente, porém é menos sensível para o diagnóstico de tumores adrenais, uma vez que estes podem deixar de expressar receptores para ACTH durante a diferenciação tumoral. Em razão disto, resultados normais podem ser encontrados em 30 a 60 % dos casos de HAD, enquanto somente cerca de 5 a 15 % dos casos de HPD apresentarão resultados normais.

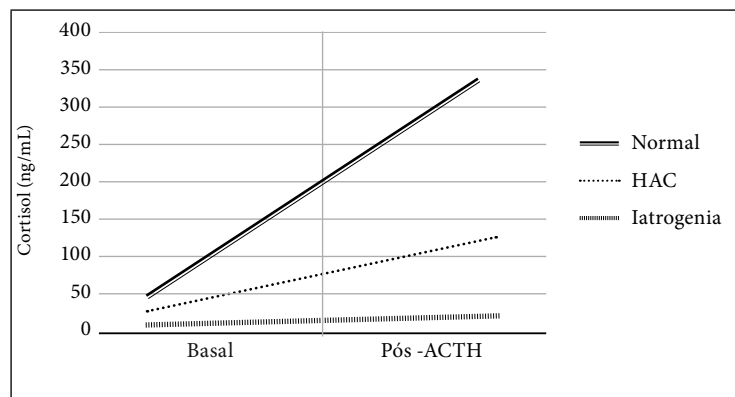
O protocolo mais utilizado envolve a coleta de amostra de sangue para determinação de cortisol basal, seguida da aplicação de 5 µg/kg de ACTH sintético (cosintropina 0,25 mg) por via intravenosa, cole-

tando-se nova amostra para dosagem de cortisol após uma hora da aplicação do ACTH. Cães saudáveis apresentam valores de cortisol pós-ACTH na faixa de 60 a 170 ng/mL. Valores maiores que 220 ng/mL são consistentes com diagnóstico de HAC (Figura 8). Uma limitação desse teste, além do custo, é que não permite a diferenciação entre HPD e HAD. Apesar disto, esse é o único teste que permite a comprovação de um HAC iatrogênico. Neste último não há aumento da concentração de cortisol após a aplicação do ACTH em decorrência da atrofia do córtex adrenal promovido pelo uso crônico de corticoides exógenos.

O teste de supressão por baixa dose de dexametasona (TSBDD) tem como base fisiológica que a administração de dexametasona em um cão normal provoca uma supressão da produção de cortisol por até 48 horas devido ao feedback negativo promovido na hipófise e no hipotálamo. A dexametasona é o esteroide de eleição para o teste, uma vez que não tem reatividade cruzada com o cortisol no imunoensaio. Desta forma, este teste avalia na verdade a responsividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. A premissa básica do HAC é que existe disfunção

desse eixo de controle tanto no HPD como no HAD, e em ambas as formas da doença, a administração de dexametasona não irá promover a supressão do cortisol plasmático. Este teste é um pouco mais complexo e longo em comparação ao teste de estimulação com ACTH, porém é o teste de triagem de eleição para diagnóstico de HAC, além de apresentar uma sensibilidade maior que 95 %.

O protocolo de realização do teste envolve a coleta de uma amostra de sangue para determinação de cortisol basal sérico, seguindo-se a administração de uma dose de 0,01 a 0,015 mg/kg de fosfato sódico de dexametasona por via intravenosa. Após essa aplicação sucedem-se mais duas coletas de sangue para dosagem de cortisol: uma após 4 horas da aplicação e outra após 8 horas da aplicação da dexametasona. A base da interpretação é que cães com HAC são resistentes ao feedback negativo no hipotálamo-hipófise. Um cão normal apresentará valores de cortisol pós-dexametasona menores que 10 ng/mL. Um valor de cortisol pós-dexametasona maior que 14 ng/mL num animal não estressado e sem doenças graves associadas é consistente com diagnós-



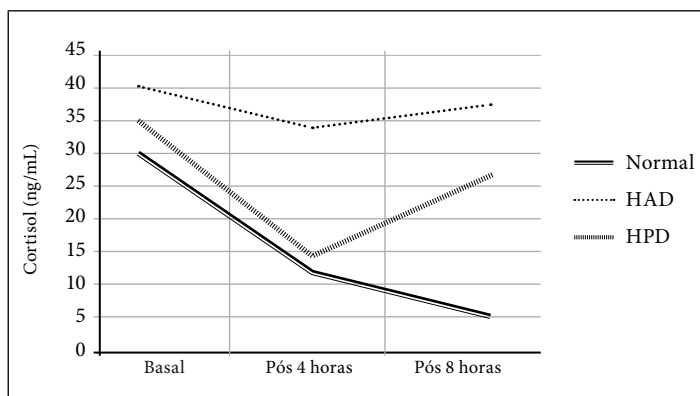
**Figura 8** - Gráfico ilustrativo das respostas ao teste de estimulação com ACTH em paciente normal, com hiperadrenocorticismos (HAC) de origem natural e com hiperadrenocorticismos iatrogênicos.

tico de HAC. O teste é muito mais sensível do que específico, e alguma proporção de falsos positivos será observada principalmente em face de estresse ou outros quadros patológicos como hepatopatias. Desta forma o que fecha o diagnóstico não é somente o valor de cortisol pós-dexametasona, mas o conjunto de sinais clínicos, alterações laboratoriais e ecográficas, além da resposta ao teste. Uma das limitações do TSBDD é que não permite o diagnóstico de cães com HAC iatrogênico.

Uma vantagem do TSBDD é permitir a diferenciação entre HPD e HAD através da coleta de sangue após 4 horas da administração da dexametasona. Mesmo ante o HAC, a dexametasona consegue promover um discreto feedback negativo sobre a hipófise, embora esse efeito seja muito rápido, uma vez que o sistema do citocromo P450 hepático está adaptado à metabolização de corticoides, eliminando rapidamente da circulação a dexametasona. Desta forma, nos casos de HPD, após 4 horas da aplicação da dexametasona é possível observar uma inibição da secreção de cortisol, interpretando-se como inibição um valor de cortisol < 14 ng/mL ou simplesmente um valor de cortisol pós 4 horas de dexametasona menor que

50 % da concentração basal de cortisol. Nos casos de HAD, o tumor não está sujeito a controle hipofisiário, e não se observa supressão no cortisol sérico após 4 ou 8 horas da aplicação da dexametasona (Figura 9).

Apesar de o TSBDD ser capaz de diferenciar entre origem hipofisiária e adrenal para o problema, nem sempre esse teste deixa clara essa questão. Nesses casos, três opções estão disponíveis para determinação da origem do problema. A primeira delas é o teste de supressão por alta dose de dexametasona (TSADD). Esse é similar ao TSBDD, mas a dose de dexametasona é de 0,1 mg/kg, sendo que alguns autores recomendam o uso de 1 mg/kg. O princípio é que uma dose maior de corticoide exógeno poderá demonstrar algum efeito inibitório sobre a secreção de ACTH nos cães com HPD, e conseqüentemente haverá uma redução no cortisol sérico após 4 horas da administração da droga. Cães com HAD já tem suprimida a concentração de ACTH, e a administração de altas doses de dexametasona não provocará nenhuma supressão apreciável de cortisol endógeno.



**Figura 9** - Gráfico ilustrativo das respostas a um teste de supressão por baixa dose de dexametasona em paciente saudável, com hiperadrenocorticismos adrenodependente (HAD) e com hiperadrenocorticismos pituitário-dependente (HPD).

Uma outra possibilidade para diferenciar HAD e HPD é a determinação do ACTH endógeno, uma vez que cães com HPD apresentam concentrações excessivas de ACTH (> 45 pg/mL) secundárias à atividade do adenoma hipofisiário, ao passo que cães com HAD apresentam valores de ACTH muito baixos (< 20 pg/mL), às vezes indetectáveis, em decorrência do feedback negativo sobre a hipófise promovida pelo cortisol secretado exageradamente pelo tumor adrenocortical. A coleta de sangue deve ser com EDTA, o sangue centrifugado e o plasma congelado em tubos plásticos, uma vez que o ACTH adere ao vidro. Além disto, todo este processamento deve ser feito no gelo para evitar a degradação do ACTH. Da mesma forma, o envio ao laboratório deve ser feito com a amostra congelada.

Outra possibilidade mais prática de diferenciação entre HPD e HAD são os exames de imagens (ecografia, ressonância, tomografia). A visualização de adrenais com parênquima e características ecográficas preservadas e com aumento bilateral é compatível com HPD, e a observação de massas adrenais é sugestiva de HAD.

A excreção urinária de cortisol é proporcional à concentração plasmática de cortisol. A relação cortisol:creatinina urinária (C/Cr) é bastante sensível, uma vez que animais com HAC apresentam C/Cr elevadas (> 10 até 1000), contudo é pouco específica, uma vez que qualquer fator estressante e uma variedade de doenças não adrenais podem provocar resultados semelhantes. Apesar disto, este teste tem um bom valor preditivo negativo caso a relação C/Cr seja baixa (< 10), sendo pouco provável a existência de HAC nesses casos. A coleta da urina deve ser feita em casa pelo proprietário para evitar estresse de hospitalização ou do ambiente hospitalar. A dosagem pode ser feita em uma

única amostra de urina, mas o teste terá mais validade se for feito em uma mistura de urinas coletadas em duas manhãs consecutivas e mantidas sobre refrigeração até análise, ou em uma mistura de diferentes micções durante o dia. Para uma única coleta de urina, a primeira micção da manhã é mais adequada por refletir a produção de cortisol durante um período maior (noite) no qual presumivelmente o cão não urinou.

### Tratamento

O tratamento dos pacientes visa controlar o hipercortisolismo e restabelecer o equilíbrio metabólico do paciente. São metas do tratamento a reversão dos sinais clínicos da doença, bem como devolver a qualidade de vida ao paciente e à família. Para atingir esse objetivo, diversas estratégias estão disponíveis. O tratamento médico é preferível nos casos de HPD, porém também é eficaz nos casos de HAD. Por outro lado, os tratamentos cirúrgicos são mais aplicados aos casos de HAD, mas também encontram aplicação nos casos de HPD. Além dos tratamentos discutidos abaixo, a irradiação da pituitária aparece como uma opção terapêutica para cães com HPD e com sinais neurológicos associados a macroadenomas.

### Tratamento médico

Uma série de medicamentos encontra-se disponível para o tratamento médico do HAC canino, sendo o mais efetivo o mitotano (Lisodren). Uma das formas criadas a partir do DDT foi o o,p'-DDD (mitotano), uma substância que pode destruir as células adrenais que produzem o cortisol em cães. Essa droga tem sido usada com sucesso em milhares de cães com síndrome de Cushing, mas é importante lembrar que essa medicação trata-se de um veneno e deve ser usada com cautela e

atenção. O mitotano apresenta um efeito adrenocorticolítico seletivo para as zonas fasciculada e reticular, com tendência a preservar a zona glomerulosa. Apesar de ser mais indicado para o tratamento do HPD, uma vez que o tratamento considerado de eleição para o HAD é cirúrgico, é possível observar um bom grau de sucesso terapêutico quando se aplica o tratamento com mitotano em pacientes com tumores adrenocorticais funcionais.

O tratamento com mitotano consiste em duas fases distintas. Uma fase de indução, em que o paciente recebe a medicação diariamente, e uma fase posterior de manutenção, na qual o objetivo é manter o controle obtido na fase de indução, com o paciente recebendo uma dose semanal da medicação. A fase de indução pode ser curta (cerca de 3-4 dias), assim como pode durar mais de duas semanas, especialmente quando se trata de tumores adrenocorticais. O que determina o fim da fase de indução é a resposta do paciente à medicação, e o principal sinal a ser monitorado para determinar o final da fase de indução é uma redução no apetite. Para que esse sinal seja bem observado, é interessante orientar o proprietário a manter durante dois dias seu animal recebendo cerca de 2/3 de sua refeição normal, duas vezes por dia para que ele fique ainda mais faminto. Isso deve ser mantido por apenas um curto período de tempo e não se recomenda o início desta terapia em cães com fraco apetite. Após esse período, começa-se a administrar o mitotano na dose de 25 mg/kg a cada 12 horas (1/2 cápsula a cada 12 horas para um cão de 10 kg) imediatamente após a refeição.

A medicação deve sempre ser administrada após as refeições, pois é absorvida melhor na presença de gordura no trato gastrointestinal. A chave para tratamento destes cães é observá-los enquanto comem e reconhecer quando é o momento correto de deixar de dar o mitotano. Enquanto o apetite for voraz, a medicação deve ser continuada.

Assim que perceber qualquer redução no apetite, a medicação deve ser interrompida. Outros sinais para cessar o uso diário da medicação são uma redução na ingestão de água, vômitos, diarreia e fraqueza. No entanto, a redução no apetite precede estes outros sinais preocupantes. A maioria dos cães responde a esta terapia em 5 a 9 dias (tumor hipofisiário) ou em 1 a 2 semanas (tumor adrenal). Sinais como anorexia, vômitos, prostração e diarreia, podem indicar hipoadrenocorticismos iatrogênicos, que deve ser evitado. Animais com tumores adrenais em tratamento com mitotano eventualmente precisam de doses maiores da medicação (75 a 100 mg/kg/dia) na fase de indução para que se obtenha efeito.

Nenhum cão deve receber mitotano por muito mais que 10 dias sem que seja acessada a função adrenal. Assim que o mitotano mostrar efeito, o cão não precisará mais de restrição alimentar. O mitotano deve ser administrado pelo resto da vida do animal, na fase de manutenção. A dose de manutenção inicial é de aproximadamente 50 mg/kg por semana (1 cápsula/semana para um cão de 10 kg). Essa dose poderá ser aumentada ou reduzida de acordo com os testes realizados após 1, 2 e 4 meses após início do tratamento. A dose semanal pode ser dividida em 2-3 doses, administradas em dias da semana pré-determinados, de modo que o intervalo entre as administrações seja o mais uniforme possível.

Assim que se obter sinais de controle da doença, deverá ser realizado um teste de estimulação com ACTH para determinar a reserva funcional da glândula adrenal. O ideal é que o cortisol pós-ACTH fique entre 10 e 50 ng/mL, e não entre 60 e 170 ng/mL, que é a faixa de resposta de um cão normal. Valores maiores que este intervalo podem indicar a necessidade de retomar a fase de indução, mas a clínica do paciente é sempre soberana. Uma

nova indução dura poucos dias. Valores muito baixos (< 10 ng/mL) indicam a necessidade de suspender o mitotano por algumas semanas, até que a glândula se recupere. Um novo teste em algumas semanas pode determinar a continuidade do tratamento com Lisodren.

Após 6 a 8 semanas do início da fase de manutenção é recomendada uma reavaliação do paciente. Nesta revisão uma boa melhora clínica deve ser evidente e a normalização dos principais sintomas pode ser observada. Contudo, a dose de manutenção para alguns pacientes pode-se tornar ineficaz em longo prazo, e uma nova fase de indução pode tornar-se necessária. Da mesma forma, em longo prazo, a dose de manutenção pode ser demais para dado paciente, e sinais de hipoadrenocorticismo poderão surgir com o passar das semanas/meses. Cerca de 5 a 20 % dos cães com HAC tratados com mitotano acabam desenvolvendo hipoadrenocorticismo primário durante a fase de manutenção e, exceto pela realização periódica de testes de estimulação com ACTH, não há como prever que animais irão desenvolver essa alteração.

Em alguns cães com HPD associado a macroadenomas, o uso do Lisodren e a consequente redução na produção de cortisol, podem provocar aumento de tamanho do tumor hipofisiário pela redução do feedback negativo que o cortisol promovia. Estes animais podem vir a apresentar sinais neurológicos como estupor, depressão, desorientação, perda de comportamentos aprendidos, anorexia, caminhar a esmo, pressionar a cabeça contra superfícies fixas (dor), andar em círculos, inclinação de cabeça, ataxia, cegueira, anisocoria e convulsões. Nestes casos, deve-se manter o uso do mitotano, a menos que o animal esteja com vômitos, anorético ou deprimido. Deve-se iniciar com prednisona ou prednisolona na dose de 2 mg/kg/dia ou dexametasona 0,1 mg/kg/dia e então iniciar uma redução gradual destes até que se resol-

vam os sinais neurológicos. Muitas vezes o cérebro se adapta ao crescimento do tumor. Caso não haja uma melhora, outras alternativas terão de ser avaliadas, como a radioterapia ou hipofisectomia. A sobrevida após o início do tratamento é de cerca de 30 meses.

O trilostano (Vetoryl) já foi considerado ideal no tratamento do HPD canino. Essa substância é um esteroide sintético sem nenhuma atividade hormonal, porém atua como um inibidor competitivo e reversível da enzima 3-beta hidroxisteroide desidrogenase, bloqueando a síntese de glicocorticoides, mineralocorticoides e esteroides. A segurança terapêutica promovida pelo trilostano é ímpar no sentido de inibir competitivamente a síntese de cortisol. Ou seja, em caso de overdose, basta interromper a administração para que o paciente volte a produzir corticoides endógenos. O trilostano é contraindicado para pacientes com insuficiência hepática, renal, gestantes, lactantes ou em fase de reprodução com intenção de gestação.

A dose de trilostano varia de 2 a 12 mg/kg administrado uma vez por dia de acordo com os comprimidos disponíveis. O monitoramento do tratamento é diferente, apesar de inspirar cuidados da mesma forma. Reavaliações são necessárias após dez dias, 4 semanas e depois a cada 3 meses do início do tratamento. Um teste de estimulação com ACTH após 4-6 horas da administração do trilostano deverá apresentar um cortisol < 50 ng/mL, uma vez que o efeito da medicação dura menos de 24 horas. Alguns animais precisarão tomar a medicação duas vezes por dia para controlar os sinais clínicos. Nesses casos, um teste de estimulação com ACTH deverá mostrar uma concentração de cortisol sérico > 90 ng/mL após 24 horas da última administração do trilostano. Ajustes de dose podem ser feitos com base nos testes de estimulação com ACTH, sendo recomendada a realização do primeiro teste após cerca de 14 dias do início do tratamento.

Da mesma forma que com o mitotano, o uso crônico da droga pode levar a hipoadrenocorticismo primário, porém a maioria dos casos irá melhorar com a retirada do trilostano. No entanto, poderá haver necrose de córtex adrenal. Nesses casos será necessária uma terapia mais agressiva para tratamento do hipoadrenocorticismo e controle do desequilíbrio hidroeletrólítico. Nestas situações, a remissão dos sinais clínicos de HAC pode durar por muito tempo, mas eventualmente irão recidivar em muitos casos. A experiência quanto à expectativa de vida de cães com HAC tratados com trilostano ainda é limitada, mas evidências apontam para uma mesma expectativa de vida quando comparada com o uso do mitotano.

A seleginina (Anipril) é um inibidor da enzima monoamina oxidase (MAO) e pode inibir a secreção de ACTH por aumentar o tono dopaminérgico no eixo hipotalâmico-hipofisiário. Sabe-se que, na zona intermédia da hipófise, a secreção de ACTH está basicamente sob controle dopaminérgico, e uma menor secreção de dopamina aumenta a secreção de ACTH, ou seja, a dopamina atua como um hormônio inibidor da secreção do ACTH, em um sistema semelhante ao de controle da secreção da prolactina na adeno-hipófise. Contudo, os corticotrofos adeno-hipofisiários, que são a maioria (pelo menos 80 % dos corticotrofos hipofisiários), respondem majoritariamente ao CRH. A dose inicial é de 1 mg/kg/dia, e caso não ocorra melhora dos sinais clínicos, aumenta-se a dose para 2 mg/kg/dia. Caso não haja melhora, não é recomendado manter o tratamento. Da mesma forma, o uso da seleginina é contraindicado para o tratamento de cães com HPD portadores de diabetes, pancreatite, insuficiência cardíaca, renal ou outra doença severa. Além disso, não deve ser administrada em conjunto com outros inibidores da MAO, opioides ou antidepressivos tricíclicos.

A seleginina não tem nenhum efeito adverso severo e pode ser uma opção para aqueles animais que estão com diagnóstico confirmado, mas para os proprietários não há problema, e desta forma nenhum sinal adverso seria bem tolerado ante outros tratamentos. O controle é basicamente clínico, uma vez que testes de estimulação por ACTH ou TSBDD falham em mostrar redução significativa em face do uso dessa droga.

O cetoconazol é um agente imidazólico antifúngico com propriedades inibitórias sobre a síntese de glicocorticoides e apresenta-se como uma opção terapêutica para o tratamento do HAC de uma forma geral. A dose inicial é de 5 mg/kg/bid por uma semana para testar a tolerância à droga. Depois se deve aumentar a dose para 10 mg/kg/bid, por mais 14 dias. Um teste de estimulação por ACTH determinará a eficácia do tratamento, usando os mesmos critérios usados no tratamento com mitotano. Se o cortisol pós-AC-TH permanecer maior que 50 ng/mL, a dose deve ser aumentada para 15 mg/kg/bid. A medicação deve ser usada pelo resto da vida, e quanto maior a dose, maior a chance de sinais adversos como anorexia, vômitos, diarreia, icterícia e insuficiência hepática. Além disto, cerca de 30% dos animais falham em evidenciar melhora clínica dos sinais de HAC.

A ciproeptadina é uma droga com propriedades antisserotonina, anti-histamina e anticolinérgicas. Como a secreção do ACTH pode ser estimulada por elevadas concentrações de serotonina, a ciproeptadina pode reduzir a secreção de ACTH pela hipófise. Contudo, a resposta a essa medicação é variável, com poucos sucessos relatados.

A mifepristona (RU486) inibe a ligação de cortisol no seu receptor na hipófise, resultando no bloqueio do efeito feedback do ACTH, melhorando em 50 % dos pacientes com tumor adrenocortical, mas não HDD,

porque nesse caso o excesso de ACTH e do cortisol superam o bloqueio do receptor.

#### Tratamento cirúrgico

Cães com HAD têm os melhores prognósticos quando o tumor é completamente removido cirurgicamente, sendo esta abordagem considerada ideal. No entanto, estes pacientes nem sempre são bons candidatos à cirurgia, uma vez que, na maioria dos casos, são pacientes obesos, hemodinamicamente prejudicados, com dificuldades de cicatrização e idosos. A adrenalectomia é uma cirurgia delicada em decorrência da localização das glândulas adrenais e de seu íntimo contato com os grandes vasos abdominais (aorta e veia cava), além dos vasos renais e artéria frênicoabdominal. Soma-se a isso que o espaço retroperitoneal destes pacientes, onde se localizam as glândulas adrenais, é repleto de gordura, dificultando a abordagem. Boa parte destes pacientes encontra-se hipertenso, e qualquer hemorragia no transoperatório pode tornar-se catastrófica. Por essas razões, observa-se um elevado grau de complicações nestes procedimentos (cerca de 51 %), sendo que aproximadamente 30 % vão a óbito ou eutanásia no transoperatório.

Torna-se obrigatória a suplementação de glicocorticoides e também de mineralocorticoides no trans e pós-operatório, uma vez que o córtex contralateral estará atrófico secundário ao feedback negativo promovido pelo tumor, não respondendo de forma adequada ao estresse. Apesar de a inibição crônica da secreção do ACTH não cessar a produção de aldosterona, é necessário suplementar inicialmente com mineralocorticoides no trans e pós-operatório, uma vez que o ACTH é necessário para manter uma adequada função da zona glomerulosa, e o córtex contralateral poderá evidenciar insuficiência mineralocorticoide, que é somente passageira. Após a re-

tirada do tumor adrenal, o paciente torna-se hipoadrenocorticoide e a não correção deste problema levará a óbito. Com o passar do tempo, tanto glicocorticoides quanto mineralocorticoides vão sendo retirados e o animal passa a viver sem medicação.

Muitos veterinários questionam a aplicabilidade da adrenalectomia como tratamento seguro para o HAC canino pelo elevado grau de complicações. Diversos trabalhos evidenciam que o uso de um tratamento médico (mitotano, trilostano) é eficaz em controlar pacientes com tumores adrenais, com expectativas de vida semelhantes aos cães que sobrevivem à cirurgia. A média de sobrevivência dos cães operados é menor que 2 anos, com alguns vivendo mais de 4 anos, ao passo que a média de sobrevivência dos cães tratados com mitotano é de cerca de 30 meses, com alguns vivendo até mais de 8 anos. Não se conhece a expectativa de vida de cães com HAC não tratado após o diagnóstico. No caso de tumor hipofisiário, a hipofisectomia não é comumente realizada em cães.

#### Aldosteronismo

O aldosteronismo (síndrome de Conn) é a produção excessiva de mineralocorticoides e pode ser primário ou secundário. O hiperaldosteronismo primário refere-se a uma condição clínica derivada da produção excessiva de aldosterona, geralmente por um tumor adrenocortical ou uma hiperplasia adrenal bilateral. Como consequência do excesso de aldosterona na circulação, o paciente tende a apresentar retenção de sódio e maior excreção de potássio e hidrogênio. O resultado final é um quadro hipertensivo associado à alcalose metabólica. Esta condição clínica é mais comum em felinos do que em caninos. O hiperaldosteronismo secundário refere-se a qualquer situação clínica que



ative o sistema renina-angiotensina-aldosterona (insuficiência renal, insuficiência cardíaca, hipovolemia). Considera-se, porém, que nestas situações o hiperaldosteronismo é uma resposta fisiológica.

#### Sinais clínicos

A apresentação inicial pode ser derivada de problemas relacionados à fisiopatologia do processo, como, por exemplo, a hipertensão. Hipertensão crônica costuma estar associada a hemorragias retinianas ou sub-retinianas (retinopatia hipertensiva) que podem levar à cegueira ou a uma diversidade de sintomas neurológicos por hemorragias cerebrais secundárias à hipertensão. Sinais clínicos relacionados à hipocalemia são frequentes, como fraqueza, flexão ventral do pescoço e mioalgia secundária a miopatias hipocalêmicas. Muitos pacientes apresentam poliúria e polidipsia como consequência da hipocalemia. A avaliação cardiovascular desses pacientes evidencia hipertensão em praticamente 100 % dos casos e sopro cardíaco que pode ser detectado mediante ausculta pela indução de alterações cardíacas com a hipertensão. A palpação abdominal de alguns gatos acometidos pode evidenciar a presença de uma massa adrenal, se esta for grande o suficiente. A perda de peso é um sinal comumente relatado na história clínica.

#### Avaliação laboratorial e diagnóstico

Uma avaliação de rotina de pacientes suspeitos de hiperaldosteronismo deve incluir perfil hematológico, bioquímico e urinário, na tentativa de excluir outros problemas associados e excluir outros diagnósticos diferenciais. Apesar de a patofisiologia da doença envolver a retenção de sódio e a maior excreção de potássio, a detecção de hipernatremia é menos frequente que a detecção de hipocalemia, o principal marcador bioquí-

mico do hiperaldosteronismo. Nas rotinas em que a gasometria encontra-se disponível, uma elevação de bicarbonato evidencia alcalose metabólica secundária à maior excreção de íons  $H^+$  nos rins, juntamente com o  $K^+$ . Os demais parâmetros na bioquímica clínica tendem a ser pouco específicos, embora azotemia possa estar presente secundária a uma doença pré-renal, hipertensão secundária à doença renal ou nefropatia hipocalcêmica. A urinálise tende a evidenciar uma baixa densidade urinária ( $< 1.025$ ) e próxima de uma isostenúria (1.008–1.012). Exames de imagem (radiografia e ultrassonografia) podem ser úteis na identificação de massas adrenais.

O diagnóstico definitivo poderá ser firmado com dosagem sérica de aldosterona, que deve estar aumentada no hiperaldosteronismo. Contudo, a coleta da amostra de sangue para dosagem desse hormônio deve ser realizada antes de qualquer manejo terapêutico, como fluidoterapia ou medicações que reduzam a pressão arterial (diuréticos, anti-hipertensivos). Na tentativa de diferenciar um hiperaldosteronismo primário de um secundário, faz-se necessária dosagem sérica de renina. O hiperaldosteronismo primário estará associado a uma concentração elevada de aldosterona e baixa concentração de renina, enquanto, no hiperaldosteronismo secundário, a concentração de renina também estará elevada.

#### Tratamento

Antes de qualquer medida mais drástica, é fundamental obter-se um controle da hipertensão e da hipocalemia. O tratamento definitivo e que apresenta melhor prognóstico é a ressecção tumoral. A espironolactona é empregada no controle inicial da doença. Suas propriedades antagonistas ao receptor de aldosterona fazem com que essa medicação apresente efeito tanto na reversão da hipocalemia como no controle da pressão

arterial. Como o sistema de reabsorção de sódio e excreção de potássio é mediado pela atividade da bomba de sódio e potássio na membrana basolateral das células dos túbulos renais, a administração de uma dieta restrita em sódio bem como a suplementação oral de potássio podem auxiliar no controle da hipocalemia. Eventualmente o uso da espirolactona não reduzirá de forma efetiva a pressão arterial sistêmica, especialmente em gatos. Nesses casos, uma dose 0,625 mg/dia de anlodipino para gatos e 0,5 mg/kg/dia de maleato de enalapril para cães podem ser aplicados com objetivo de controlar melhor a hipertensão. O prognóstico é favorável quando é possível realizar a adrenalectomia com sucesso. Contudo, complicações já estabelecidas da hipertensão, como a cegueira, por exemplo, não são reversíveis.

### **Hormônios da medula adrenal**

A medula adrenal constitui 10 % da glândula adrenal. Funcional e anatomicamente é similar aos gânglios simpáticos, sendo enervada por fibras pré-ganglionares simpáticas, cuja ativação produz secreção de catecolaminas na medula adrenal. É realmente uma extensão do sistema nervoso simpático. Suas células constitutivas são chamadas cromafínicas devido a sua afinidade por determinados corantes histológicos. As células que produzem adrenalina possuem grânulos grandes e pouco densos, enquanto os secretores de noradrenalina possuem grânulos pequenos e densos. As fibras pré-ganglionares simpáticas liberam acetilcolina, que despolariza as células da medula adrenal e provoca a liberação de catecolaminas, isto é, as células cromafínicas parecem neurônios simpáticos pós-ganglionares sem fibras.

### **Biossíntese das catecolaminas**

As catecolaminas dopamina, noradrenalina e adrenalina são 3,4-di-hidroxi-derivados da feniletanolamina, sintetizadas nas células cromafínicas da medula adrenal, bem como em algumas células especializadas de coração, fígado, rins, gônadas, e neurônios adrenérgicos do sistema simpático pós-ganglionar e do sistema nervoso central. O principal produto é a adrenalina, que constitui cerca de 80 % das catecolaminas secretadas pela medula adrenal, embora existam variações interespecíficas (Tabela 9). A adrenalina é a única catecolamina que não é sintetizada por outro tecido fora da medula adrenal. As demais catecolaminas são sintetizadas também pelos neurônios adrenérgicos e dopaminérgicos.

Os precursores das catecolaminas são os aminoácidos tirosina (Tyr) ou fenilalanina (Phe). A Phe é convertida em Tyr por ação da Phe hidroxilase (Figura 10), enzima de ampla distribuição no organismo. A Tyr ingressa nas células cromafínicas, onde é hidroxilada pela Tyr hidroxilase, enzima alostérica que controla a biossíntese das catecolaminas e tem como sua coenzima a tetraidropteridina, para formar DOPA (di-hidroxi-fenilalanina). A Tyr hidroxilase é inibida pelas próprias catecolaminas. Posteriormente a DOPA é descarboxilada por uma enzima presente em todos os tecidos no compartimento citosólico, a DOPA-descarboxilase, a qual tem como coenzima o piridoxal-fosfato, para formar dopamina, primeira catecolamina a ser sintetizada na via. Para produzir as demais catecolaminas, a dopamina deve entrar nos grânulos cromafínicos de secreção, onde a dopamina  $\beta$ -hidroxilase catalisa sua conversão à noradrenalina (norepinefrina). Esta enzima é uma oxidoreductase que usa ascorbato como doador dos elétrons, tendo um átomo de  $\text{Cu}^+$  como sítio ativo e fumarato como modulador. Encontra-se na fração particulada do grânulo

TABELA 9 – CONCENTRAÇÃO DE CATECOLAMINAS NA MEDULA ADRENAL E RELAÇÃO ADRENALINA/ NORADRENALINA

Espécie	Catecolaminas (mg/g de tecido)	Relação Adrenalina/ Noradrenalina
Suíno	2,2	1,04
Felino	1,0	1,19
Ovino	0,75	2,03
Bovino	1,8	2,45
Canino	1,5	2,70
Equino	0,84	4,00
Coelho	0,48	4,00
Humano	0,6	4,88

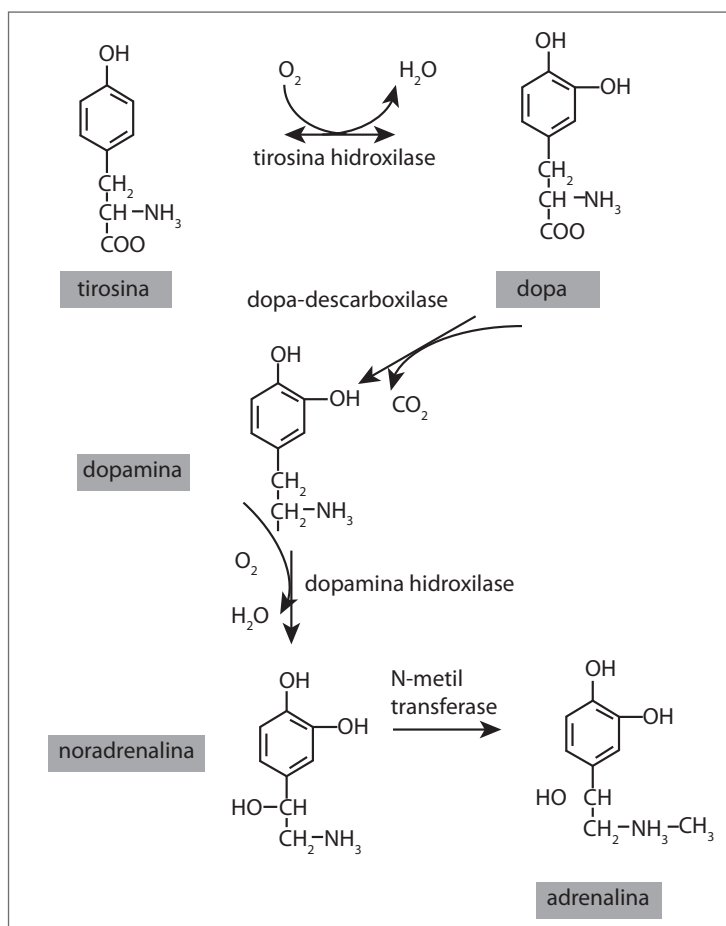


Figura 10 - Biossíntese de adrenalina.

lo. Finalmente, uma enzima solúvel presente no citosol, a feniletanolamina-N-metil transferase, catalisa a N-metilação da noradrenalina para formar adrenalina. A síntese desta enzima é estimulada por glicocorticoides que alcançam a medula adrenal via sistema portal intra-adrenal e podem concentrar-se até 100 vezes mais do que na circulação periférica. Por essa razão, a adrenalina não pode ser sintetizada em lugares extra-adrenais.

A adrenalina sintetizada pode armazenar-se nos grânulos de secreção. A estimulação neural resulta na fusão das membranas granular e plasmática, liberando catecolaminas por exocitose, em um processo dependente de  $Ca^{2+}$  estimulado por agentes colinérgicos e  $\beta$ -adrenérgicos e inibidos por agentes  $\alpha$ -adrenérgicos. As catecolaminas secretadas pela medula adrenal não podem reingressar como podem fazê-lo nos nervos simpáticos para armazenar-se de novo. Têm uma meia-vida muito curta (cerca de 2 minutos). O sinal para a síntese de catecolaminas provém da acetilcolina, neurotransmissor que se libera nas fibras pré-ganglionares, diante de estímulos no SNC (frio, hipoglicemia, estresse). A acetilcolina provoca despolarização da membrana plasmática das células cromafínicas, causando um fluxo de  $Ca^{2+}$  ao interior das células. O aumento de cálcio intracelular atua junto com ATP para causar a liberação de catecolaminas das células cromafínicas por exocitose. A metabolização das catecolaminas está a cargo das enzimas catecol-O-metil transferase, que atuam sobre as catecolaminas circulantes, e a monoamino oxidase (MAO), que atua em nível intracelular. As catecolaminas transformadas são hidrossolúveis, biologicamente inativas e se excretam pela urina.

## Ações das catecolaminas

As diferentes e, em ocasiões, contraditórias ações das catecolaminas explicam-se pela presença de diferentes tipos de receptores nas células. Existem dois tipos de receptores adrenérgicos:  $\alpha$  e  $\beta$ . Os receptores  $\alpha$  são geralmente mediadores das ações estimulatórias da adrenalina e da noradrenalina sobre o músculo liso, enquanto os receptores  $\beta$  são mediadores de ações inibitórias sobre este tipo de músculo. Entretanto, sobre o músculo cardíaco os receptores  $\beta$  são estimulatórios: aumentam a força da contração e a frequência cardíaca. A estimulação dos receptores  $\alpha_1$  e  $\beta_1$  no músculo cardíaco aumentam a força de contração do coração.

Os receptores  $\alpha$  e  $\beta$  se subdividem em  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  e  $\beta_1$  e  $\beta_2$  em função das respostas e afinidades que possuem com determinados agentes agonistas e antagonistas (Quadro 6). Os 4 tipos de receptores encontram-se em diferentes tecidos-alvo e são intermediários de diferentes respostas da ação da adrenalina. Por exemplo, os receptores  $\beta$  encontram-se em músculo esquelético, fígado e tecido adiposo e são intermediários dos mecanismos reguladores do metabolismo do glicogênio e dos triglicerídeos: a ação da adrenalina causa glicogenólise e lipólise. O número e a afinidade dos receptores por seus respectivos agonistas pode variar mediante regulação “baixa” (diminuição do número de receptores ou da afinidade, devido à exposição prolongada ao agonista) ou bem mediante regulação “alta” (aumento do número de receptores ou da afinidade por diminuição na concentração do agonista).

Os receptores  $\beta$ -adrenérgicos são proteínas integrais de membrana que contêm 7 regiões hidrofóbicas de 20-28 resíduos de aminoácidos, o que sugere que atravessam a membrana 7 vezes. O sítio de união à adrenalina está na cara externa da membrana

QUADRO 6 – AGONISTAS E ANTAGONISTAS DOS RECEPTORES ADRENÉRGICOS E DOPAMINÉRGICOS

Receptores	Agonistas	Antagonistas
<i>Adrenérgicos:</i>		
$\alpha_1$ e $\alpha_2$	adrenalina, noradrenalina	fentolamina, tolazolina
$\alpha_1$	fenilefrina, metoxamina	fenoxibenzamina, prazosina
$\alpha_2$	clonidina, xilazina	ioimibina, idazoxan
$\beta_1$ e $\beta_2$	isoproterenol, adrenalina	propranolol, nadolol
$\beta_1$	noradrenalina, dopamina, dobutamina	metoprolol, atenolol
$\beta_2$	metaproterenol, albutanol	butoxamina, ICI 118551
<i>Dopaminérgicos:</i>		
$D_1$ e $D_2$	dopamina	butaclamol
$D_1$ e $D_2$	SKF 38393	SCH 23390
$D_2$	apomorfina, LY 141865	haloperidol, domperidona

plasmática. A ativação dos receptores  $\beta$  por parte da adrenalina causa ativação da enzima adenilciclase para aumentar a concentração intracelular de cAMP. Se esta ação ocorrer no hepatócito, o cAMP ativa a proteína-quinase A, por causar a dissociação dos pares de subunidades catalíticas e regulatórias desta enzima. As subunidades catalíticas livres são ativas para fosforilar em resíduos de Ser e Thr a fosforilase quinase b, inativa, para ativá-la. A fosforilase quinase b ativa, por sua vez, fosforila outra enzima: a glicogênio-fosforilase b, inativa, a qual se torna glicogênio-fosforilase a, ativa, que pode degradar glicogênio.

A ativação dos receptores  $\alpha$ -adrenérgicos conduz a um aumento da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico nas células-alvo: os receptores  $\alpha_1$ , mediante a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  dos depósitos intracelulares, e os receptores  $\alpha_2$ , mediante o aumento do fluxo do  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular. A ação dos receptores  $\alpha_2$  está associada, também, à inibição da adenilciclase em algumas células, como adipócitos, plaquetas e neurô-

nios adrenérgicos, enquanto a estimulação dos receptores  $\beta$  associa-se com a ativação da adenilciclase.

Os receptores de dopamina são classificados em função de sua ação sobre a adenilciclase: os receptores dopaminérgicos  $D_1$  ativam a adenilciclase provocando aumento de cAMP na células-alvo, enquanto os receptores  $D_2$  inibem a adenilciclase e, portanto, diminuem os níveis de cAMP nas células onde atuam.

As catecolaminas adrenérgicas causam vasoconstrição por ativar os receptores  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ . No entanto, pequenas quantidades de adrenalina causam vasodilatação no músculo esquelético e no fígado mediante receptores  $\beta_2$ . A adrenalina aumenta a frequência e o volume respiratórios através do relaxamento dos músculos bronquiais mediante receptores  $\beta_2$ . As catecolaminas podem inibir a contração do músculo liso intestinal por ativação dos receptores  $\beta_1$ , ou por inibição da liberação de acetilcolina no plexo de Auerbach (gânglios parassimpáticos) mediante receptores  $\alpha_2$ . A

noradrenalina causa piloereção ao estimular os receptores  $\alpha$  do folículo piloso.

A dopamina causa liberação do hormônio paratireoideo, mediante a ativação de receptores  $D_1$ . A ativação de receptores  $D_2$  conduz à inibição da secreção das seguintes substâncias: noradrenalina em neurônios adrenérgicos, aldosterona nas células glomerulares do córtex adrenal, prolactina na neuro-hipófise e renina nas células justaglomerulares do rim.

Sobre o metabolismo, as catecolaminas adrenérgicas têm vários efeitos: estimulam a glicogenólise hepática e muscular para aumentar os níveis de glicose plasmática através de  $\beta$ -receptores. Também estimulam a lipólise no tecido adiposo via receptores  $\beta_1$  para aumentar os níveis de ácidos graxos no plasma; portanto, são cetogênicas ao estimularem a mobilização de lipídeos. Por outro lado, inibem a secreção de insulina através de  $\alpha$ -receptores.

#### As catecolaminas e a integração dos hormônios do metabolismo

A homeostase metabólica, nos animais, está regulada principalmente por seis hormônios. Além das catecolaminas, estão envolvidos glucagon, insulina, glicocorticoides, somatotropina (GH) e hormônios tireoidianos.

As gorduras armazenam cerca de 80 % da energia do organismo, as proteínas contêm cerca de 20 % da energia, e o glicogênio e a glicose fornecem 0,5 % da energia armazenada. Entretanto, o modo como a energia é aproveitada pelas células é na forma de glicose, existindo mecanismos hormonais que regulam o nível de glicose sanguínea para ficar sempre em torno de 4-5 mM, com variações dependendo da espécie. Esses mecanismos incluem a ação combinada dos hormônios insulina, glucagon e adrenalina, especialmente sobre o fígado, o músculo esquelético e o tecido adiposo. A insulina favorece o ingresso de glicose

nas células estimulando também sua conversão para glicogênio e triglicerídios. O glucagon provoca glicogenólise, gliconeogênese e oxidação de ácidos graxos para diminuir o gasto de glicose pelos tecidos e utilizar corpos cetônicos, os quais são produzidos na mobilização e posterior oxidação dos ácidos graxos.

A adrenalina prepara os músculos, os pulmões e o coração para um aumento da atividade física quando o animal enfrenta uma situação de estresse. O estímulo viaja via nervosa para liberar catecolaminas na medula adrenal. Fisiologicamente, a adrenalina causa aumento da força de contração e da frequência cardíaca, aumenta a pressão sanguínea e dilata as vias respiratórias, eventos que contribuem para aumentar a disponibilidade de oxigênio nos tecidos. Metabolicamente a adrenalina causa: (a) aumento da disponibilidade de glicose mediante estímulo da glicogenólise (ativando a enzima glicogênio fosforilase) e da gliconeogênese, e mediante inibição da síntese de glicogênio (inativando a enzima glicogênio sintetase); (b) aumento da produção de ATP no músculo através do estímulo sobre a glicólise muscular; (c) aumento da disponibilidade de ácidos graxos livres, mediante o estímulo da lipase, que promove a hidrólise de triglicerídios no tecido adiposo. Os efeitos da adrenalina são reforçados pelo aumento da secreção de glucagon e pela diminuição da secreção de insulina.

#### Transtornos da medula adrenal

As células cromafínicas da medula adrenal podem sofrer tumores neuroendócrinos, de cor café avermelhado que são denominados feocromocitomas (do grego tumor obscuro). Esses tumores se apresentam em cães e ocasionalmente em cavalos, mas não têm sido observados em gatos. Embora secretem grandes quantidades de catecolaminas, os feocromo-

citomas são considerados tumores benignos, de difícil diagnóstico no exame clínico normal, sendo geralmente achados de necropsia. Apesar de descrito em diversas espécies de mamíferos domésticos e em humanos, o feocromocitoma é uma neoplasia bastante rara, associada a outros tumores mesenquimais ou a outros tumores endócrinos, como os que levam ao desenvolvimento de HPD, carcinomas de tireoide e hiperplasia de paratireoides. Em humanos, os feocromocitomas secretam mais noradrenalina do que adrenalina, mas esta informação não é encontrada nos tumores adrenomedulares de cães e gatos. Os diversos efeitos da maior secreção de catecolaminas no sangue são oriundos da interação e potência de ativação dos diferentes tipos de receptores  $\alpha$  e  $\beta$  dispersos pelos diferentes tecidos.

#### Sinais clínicos

A média de idade na apresentação inicial é em torno de 10 anos, mas relatos variam de 1 a 15 anos. Aparentemente não há predileção sexual. Cerca de 50 % dos feocromocitomas são invasivos localmente e apresentam taxas de metástases (fígado, pulmões, linfonodos, baço, ossos, e SNC) na ordem de 15 a 30 %. O diagnóstico de feocromocitoma é bastante desafiador, e cerca de 48 % dos casos podem ser descobertos na necropsia. O diagnóstico ainda em vida é importante, uma vez que se podem evitar as complicações limitantes à vida causadas pelos feocromocitomas.

A maioria dos sinais clínicos observados em cães com feocromocitomas são secundários aos efeitos biológicos das catecolaminas (Quadro 7). Contudo, alguns sinais podem ser secundários à invasão local de estruturas pelo tumor (rins, veia cava, artéria aorta, canal medular), o que pode levar de forma mais drástica à trombose da veia cava caudal ou hemorragia intra-abdominal aguda. Os

sinais clínicos podem ser brandos e aparentemente ausentes, até graves como colapso circulatório. Da mesma forma, os sinais podem ser agudos, episódicos, ou podem ser crônicos e progressivos dependendo da natureza secretora do tumor (intermitente ou contínua), da quantidade e do tipo de catecolamina secretada e da existência ou não de invasão de estruturas.

QUADRO 7 – PRINCIPAIS SINAIS CLÍNICOS EM PACIENTES COM FEOCROMOCITOMAS

Perda de peso	Anorexia
Depressão	Fraqueza
Colapso	Agitação
Insônia	Dispneia
Ofegação	Tosse
Intolerância ao exercício	Cianose
Epistaxe	Convulsões
Paraparesia	Ataxia
Midríase	Poliúria
Distensão abdominal	Polidipsia
Vômitos	Diarreia
Hipertensão	Taquiarritmia

As queixas comuns envolvem perda de peso, anorexia e depressão, assim como os sinais respiratórios. A taquicardia e as arritmias são efeitos diretos das catecolaminas. As mucosas podem estar hiperêmicas ou pálidas por causa de hemorragias e vasoconstrição (até um terço dos casos). Distensão abdominal pode estar presente, secundária à ascite por obstrução vascular ou como resultado de hemorragias. Alguns animais poderão evidenciar massas abdominais palpáveis. A avaliação retiniana pode evi-

denciar sinais de retinopatia hipertensiva. Apesar de comum, a hipertensão sistêmica (pressão sistólica > 160 mmHg e pressão diastólica > 100 mmHg) não tem a sua verdadeira incidência determinada, podendo estar associada com distúrbios concomitantes, e não com o feocromocitoma. A paralisia dos membros posteriores pode ser secundária ao tromboembolismo ou decorrente de problemas neurológicos primários.

### Diagnóstico

Os exames laboratoriais não trazem muitas informações úteis ao diagnóstico, apresentando alterações inespecíficas, como hemograma de estresse associado a trombocitopenia ou trombocitose, elevada atividade das enzimas hepáticas, hipoalbuminemia e hipercolesterolemia. Muitos casos apresentam azotemia e hiperfosfatemia indicando disfunção renal e proteinúria relacionada a glomerulopatia hipertensiva. Animais com HPD associado a feocromocitomas podem ter este fator confundidor com a tendência de se atribuir todos os sinais clínicos ao hiper cortisolismo. Aspirados com agulha fina podem ser úteis na identificação de feocromocitomas e na diferenciação das massas adrenais de outras origens, apesar do risco de o trauma com a agulha aumentar ainda mais a pressão.

O diagnóstico definitivo de um feocromocitoma é bastante difícil, mas clinicamente é possível determinar um feocromocitoma diante de uma massa adrenal, diferenciando-o de tumor adrenocortical ou aldosteronoma e de outras causas potenciais de hipertensão. Os exames de imagens, como a ultrassonografia, radiografias, tomografia computadorizada e ressonância magnética são de grande valia na determinação da presença destas massas adrenais, bem como do grau de invasão dos tecidos adjacentes, e na busca por metástases pulmonares, linfáticas ou hepáticas.

Apesar de existirem métodos para determinar catecolaminas no plasma, bem como seus metabólitos (metanefrina, normetanefrina e ácido vanililmandélico) na urina, estes testes não são aplicados rotineiramente na prática veterinária, tanto pelas dificuldades relacionadas ao estresse (o animal estressado aumentará a concentração de catecolaminas no plasma) quanto pelas dificuldades envolvendo coleta de urina ao longo de 24 horas. No entanto, a principal limitação é a ausência de valores de referência tanto das catecolaminas quanto de seus metabólitos para cães e gatos. Uma possibilidade é o teste de supressão pela clonidina, que uma vez na circulação poderia suprimir a secreção de catecolaminas via sua ação sobre receptores  $\alpha_2$ . Como os feocromocitomas secretam de forma independente de aferências neurais, a secreção de catecolaminas não é afetada pela administração de clonidina. No entanto, flutuações na taxa de secreção das catecolaminas pelo tumor podem interferir nos resultados do teste, levando a viés de interpretação.

### Tratamento

A adrenalectomia é o único tratamento definitivo, e profissionais experientes deverão ser solicitados a fazer este procedimento pelo elevado grau de infiltração dos tumores e pela hipertensão que causa hemorragias transoperatórias. Muitas vezes faz-se necessária a nefrectomia do rim adjacente, bem como ressecção de parte da veia cava caudal. O manejo prévio da hipertensão pode ser obtido com uso de drogas  $\alpha$ -antagonistas como a fenoxibenzamina (0,2–1,5 mg/kg, VO, duas vezes por dia) ou a prazosina (0,5–2,0 mg/kg, VO, duas a três vezes por dia). A administração de  $\beta$ -bloqueadores (propranolol) para controle de arritmias não deve ser realizada sem uso adicional de  $\alpha$ -antagonistas sob risco de redução intensa do débito cardíaco.



O prognóstico depende muito das características de invasividade, tamanho e comportamento biológico do tumor, além do êxito trans e pós-operatório imediato. A sobrevivência após a cirurgia pode estender-se de 18 meses a 2 anos, apesar das características malignas dos feocromocitomas e da elevada frequência de metástases.

### **A glândula adrenal e o estresse**

Um dos efeitos mais notórios no animal adrenalectomizado é a incapacidade para resistir às condições adversas, isto é, para adaptar-se ao estresse. O estresse é definido como resposta biológica ou conjunto de reações obtidas quando um indivíduo percebe uma ameaça a seu equilíbrio. Exemplos de agentes estressores são fome, dor, calor, frio, ansiedade, medo, aglomeração, reclusão, lactação, exercício, cirurgia, anestesia, antecipação da alimentação, desmame, transporte, subnutrição, entre outros. O conjunto de respostas do organismo é uma tentativa de restabelecer a homeostase que permite a manutenção de seu equilíbrio interno essencial a sua existência.

Em 1936, Selye estudou o fenômeno da adaptação nos animais e descreveu a Síndrome Geral de Adaptação, que compreende três fases:

1. A reação de alarme, na qual o organismo reage fisiológica e metabolicamente diante de uma situação inesperada de intranquilidade para manter o equilíbrio (homeostase). É a fase de reconhecimento do estímulo estressante.
2. O estado de adaptação, no qual o organismo mantém seu equilíbrio metabólico diante da nova situação de estresse. É a fase de defesa biológica contra o estímulo estressante. O conjunto de respostas de defesa do organismo leva a mudanças biológicas para aliviar a ame-

aça percebida. A resposta ao estresse pode ser em vários níveis: comportamento, resposta do sistema nervoso autônomo, resposta do sistema neuroendócrino e resposta imunológica.

3. O estado exaustivo, que ocorre se o animal não conseguir manter o equilíbrio e não se adaptar à nova situação, caso no qual pode até ocorrer a morte. É o último estágio de resposta ao estímulo que determina se o animal está sofrendo estresse ou apenas tendo um episódio estressante breve sem nenhum impacto significativo ao seu bem-estar. Se o agente estressor permanecer, passa à fase de esgotamento, na qual começam a falhar os mecanismos adaptativos e se inicia um déficit energético, pois as reservas corporais se esgotam.

Na primeira resposta de comportamento, o animal evita o estímulo estressante. Assim, um predador pode ser evitado escapando, ou um ambiente quente pode ser evitado procurando sombra ou lugares mais frescos. Porém, os animais podem encontrar situações que limitam a resposta, como, por exemplo, animais mantidos em confinamento.

A resposta do sistema nervoso autônomo é a segunda resposta de defesa do animal diante de uma situação de estresse. Cannon, em 1929, propôs essa resposta como luta ou fuga (*fight or flight*). O sistema nervoso autônomo é ativado por centros da medula espinal, tronco cerebral e hipotálamo. Durante a situação de estresse, a estimulação dos nervos simpáticos da medula adrenal secreta grandes quantidades de adrenalina e noradrenalina na circulação sanguínea. Esses hormônios têm os mesmos efeitos que os causados pela estimulação simpática direta, embora de forma mais prolongada, 1 a 2 minutos depois de terminar a estimulação. Assim, os órgãos são estimulados por duas vias simultâneas: diretamente pelos nervos simpáticos e indiretamente pelas catecolaminas. Os efeitos da ativação do sistema nervoso autônomo promovem mudanças

sobre frequência cardíaca, pressão sanguínea, atividade gastrointestinal, excreção de urina, secreção pancreática, sudorese, glicemia e lipomobilização. Estas respostas autonômicas afetam muitos sistemas biológicos, e seus efeitos são relativamente de curta duração, sem ter impacto significativo no bem-estar do animal.

Em contraste aos efeitos do sistema nervoso autônomo, os hormônios secretados pelo sistema neuroendócrino (hipotálamo-hipófise) têm um efeito prolongado. A resposta neuroendócrina mais conhecida ao estresse é a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), iniciando com a liberação do hormônio liberador de corticotropina (CRH) pelo hipotálamo, e posteriormente liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) pela hipófise, para resultar na secreção dos hormônios glicocorticoides da glândula adrenal. Além desses efeitos, ocorre a secreção de vasopressina (ADH), ocitocina, prolactina, hormônio somatotrópico (GH) e hormônio estimulador da tireoide (TSH), que atuam promovendo o aumento da produção e secreção de ACTH e de  $\beta$ -endorfinas.

O organismo na situação de estresse percebe o estímulo e o transmite através do tronco cerebral para o hipotálamo, provocando a liberação de CRH. O CRH é secretado para dentro do plexo capilar primário do sistema portal hipofisiário na eminência média do hipotálamo e depois é levado para a hipófise anterior, que promove a liberação de ACTH e  $\beta$ -endorfina. O aumento da síntese e liberação de ACTH leva a um aumento da atividade adrenocortical, principalmente na zona fascicular. O ACTH possui ação rápida, promovendo o aumento de glicocorticoides no sangue, poucos minutos depois de sua liberação. O ACTH também estimula a lipólise e exerce algum efeito sobre a produção de aldosterona.

Os glicocorticoides, em conjunto com as catecolaminas da medula adrenal, estimu-

lam a glicogenólise, a lipólise e o catabolismo de proteínas, alterações metabólicas destinadas a restabelecer a homeostase, através da produção e mobilização de substratos energéticos durante o estresse. Entretanto, se o estresse é prolongado, os glicocorticoides atuam de forma destrutiva nos tecidos, inibindo o crescimento somático e ósseo.

O aumento da incidência de enfermidades em animais com estresse pode ser atribuído à supressão de seu sistema imunológico. Um dos exemplos mais comuns é o aumento de doenças respiratórias em bovinos transportados, o que é atribuído a uma supressão do sistema imune causada pelo estresse do transporte. Estabelecer uma relação entre o efeito do estímulo estressante e o sistema imunológico não é fácil. Porém, a explicação desse tipo de resposta está diretamente associada aos efeitos do cortisol, o qual causa atrofia significativa do tecido linfóide e diminui a produção de linfócitos T e de anticorpos.

O efeito negativo do estresse sobre o desempenho reprodutivo é bem conhecido, mas os exatos mecanismos que controlam esse efeito não estão esclarecidos. Vários estudos evidenciam que as alterações hormonais decorrentes de estresse causam problemas reprodutivos como baixa taxa de fertilidade, atraso na puberdade, aumento da mortalidade embrionária, anestro e ciclo estral irregular. O estresse altera as funções reprodutivas através de três níveis do eixo hipotálamo-hipofisiário-gonadal: no hipotálamo inibe a secreção de hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH); na hipófise inibe a liberação dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH); e nas gônadas diminui a secreção de esteroides sexuais. O CRH tem sido considerado mediador dos efeitos antirreprodutivos provocados pelo estresse através de sua ação no hipotálamo, inibindo a secreção de GnRH.

Atualmente, um dos grandes desafios em veterinária é avaliar clínica e laboratorialmente o estresse. Uma alternativa é monitorar os sistemas de defesa imune. O problema tem sido o limitante técnico de medir esses sistemas sem estressar o animal. Indicadores sanguíneos para avaliar o estresse incluem o cortisol, a glicose, a fructosamina e as globulinas. No hemograma, o clássico quadro de estresse com neutrofilia e linfopenia também se menciona. Uma alternativa útil para minimizar o estresse da coleta de amostras é fazer a determinação de corticoides fecais.

O cativeiro é um fator estressante ao animal, sendo que algumas espécies não conseguem adaptar-se, desenvolvendo a chamada síndrome de má-adaptação, na qual ocorre um processo de anorexia que pode levar à morte.

Em animais domésticos, tem sido demonstrado que alguns fatores estressantes levam à queda da produção, transtornos reprodutivos, distúrbios de comportamento e alterações fisiológicas importantes. Em vacas leiteiras, o estresse calórico leva a uma diminuição na produção e na qualidade do leite devido ao menor consumo de matéria seca, com balanço energético negativo prolongado e aumento do intervalo entre partos, devido à falta de manifestação de estro e diminuição da ovulação. É conhecida a maior resistência ao calor das raças zebuínas (*Bos indicus*).

Em suínos, a restrição alimentar, uma forma de manejo adotada para evitar que as fêmeas cheguem com sobrepeso ao final da gestação, causa o aparecimento de comportamentos anormais. Como os animais ficam saciados por menos tempo, ficam inquietos, roendo barras de ferro e engolindo ar (aerofagia). Nos cavalos, observa-se que o exercício provoca liberação de renina, com o consequente aumento nos níveis de aldosterona.

É evidente que a resposta ao estresse é uma interação entre diversos fatores e even-

tos biológicos, que naturalmente apresentam grande variação entre animais, o que impede uma aproximação confiável para avaliar o bem-estar animal.

## HORMÔNIOS DA GLÂNDULA TIREOIDE

A tireoide como órgão foi descrita por Galeno, que lhe atribuiu funções lubrificantes para a laringe. Thomas Wharton, em 1656, descreveu em seu livro *Adenographia* uma glândula dupla, que chamou de tireoide devido a sua forma (do grego *thyreos*, escudo oblongo e *eidōs*, forma). Apesar de estar equivocado ao pensar que eram duas, ao invés de bilobulada, fez uma acertada descrição de sua vascularização, peso e consistência. Em 1830, Prevost postulou, pela primeira vez, que o bócio humano era devido à falta de iodo na água, baseado nas observações de Coindet (1820), e recomendou o uso de água iodada para prevenir a doença. Posteriormente, Chatin concluiu que o déficit de iodo era a principal causa de bócio, conclusão que foi inicialmente criticada por seus contemporâneos. Koestl, em 1855, na Áustria, propôs pela primeira vez a utilização do sal iodado, prática que persiste até hoje no mundo inteiro.

A primeira observação de que a tireoide afetava o metabolismo foi feita por Hadden, em 1882, que descreveu os sintomas do mixe-dema causado por hipotireoidismo, acrescentando que havia diminuição da excreção de ureia e ocorria melhora quando se administravam extratos de tireoide. Depois, Müller, em 1893, estudando o bócio exoftálmico, concluiu que a tireoide acelerava a oxidação dos alimentos, aumentando o metabolismo. Em 1895, Baumann descobriu a presença de iodo na tireoide, unido a globulinas. Posteriormente, Oswald demonstrou que o conteúdo de iodo estava em relação direta com o colóide folicular e chamou de tireoglobulina uma proteína iodada isolada do colóide.

Em 1914, Kendall isolou um hormônio tireoidiano e lhe deu o nome de tiroxina. Harrington, em 1926, estabeleceu que a tiroxina é derivada do aminoácido tirosina e que contém 4 átomos de iodo e dois anéis fenólicos. Kendall também fez estudos sobre os efeitos fisiológicos da tiroxina. Harrington e Salter, em 1930, demonstraram que a tiroxina se encontra unida à molécula de tireoglobulina. O grupo de Gross, analisando cromatograficamente amostras de soro, encontraram outra substância iodada diferente da tiroxina que chamaram tri-iodotironina, e postularam que a tiroxina perdia iodo nos tecidos periféricos e que a tri-iodotironina era a forma ativa do hormônio tireoidiano.

### Estrutura da tireoide

A tireoide é uma glândula bilateral presente em todos os vertebrados, que tem a peculiar característica de captar iodo. É originada a partir do epitélio do piso da faringe. A forma e o tamanho da tireoide variam nas diferentes espécies, mas geralmente é bilobu-

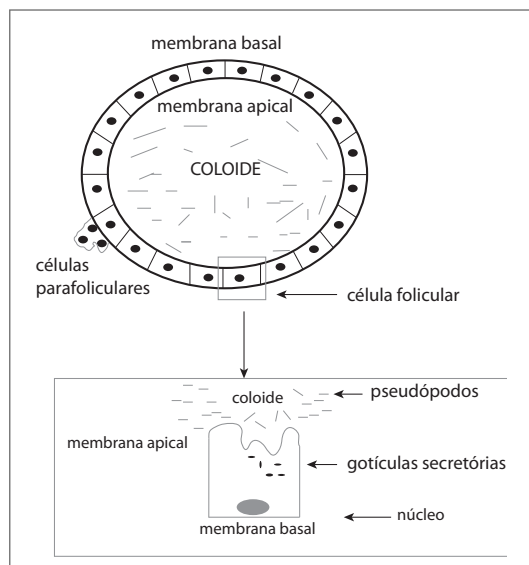
lada. Está localizada lateralmente sobre a traqueia, abaixo da laringe. Nos bovinos, pesa 21-36 g; nos suínos, 12-30 g; nos equinos, 20-35 g; nos ovinos, 4-8 g; e no cão, 4 g.

O istmo, região que conecta os dois lóbulos, é a que mais varia entre as espécies. No porco e no humano, o istmo é grande e piramidal, na vaca tem forma de uma larga faixa, enquanto no cavalo, na ovelha, na cabra, no cão e no gato, o istmo é uma estreita banda quase imperceptível.

Aproximadamente 50 % dos cães adultos têm tireoides acessórias embutidas na gordura sobre a aorta pericardial, as quais podem ser localizadas mediante fixação de iodo radiativo. As tireoides acessórias geralmente aparecem como nódulos em número de 1 a 5, de 1-2 mm de diâmetro. Não possuem células C, secretoras de calcitonina, e sua origem é a crista neural. As tireoides acessórias respondem a TSH e são completamente funcionais.

A unidade anatômica e funcional da tireoide é o folículo tireoidiano (Figura 11), o qual está rodeado de células epiteliais ou células foliculares, que são de tamanho variado (25 a 250 µm de diâmetro). No interior dos folículos, está o coloide, secreção clara e viscosa que contém tireoglobulina, uma glicoproteína contendo oligossacarídeos formados por hexosamina, galactose, manose e outros glicídeos, além de aminoácidos iodados ou iodotirosinas, tais como a monoiodotirosina (MIT) e a di-iodotirosina (DIT), e compostos derivados ou iodotironinas, como a tri-iodotironina ( $T_3$ ) e a tetraiodotironina ou tiroxina ( $T_4$ ). As duas últimas são os hormônios tireoidianos (TH).

O epitélio do folículo é de tipo cuboidal. Se a glândula estiver muito ativa, tem aparência colunar. Os espaços entre os folículos têm, além do parênquima, as células parafoliculares ou células C, fonte do hormônio calcitonina, associado com o metabolismo do cálcio.



**Figura 11** - Estrutura do folículo tireoidiano.

O coloide é sintetizado pelas células foliculares, as quais são ricas em grânulos citoplasmáticos e possuem microvilosidades e pseudópodos em sua membrana apical, do lado do lume do coloide. Embutidas na tireoide estão as glândulas paratireoides, que secretam o hormônio paratireoideo (PTH). Na tireoidectomia é praticamente inevitável a remoção das paratireoides, o que provoca hipocalcemia severa.

### Biossíntese dos hormônios tireoidianos

Na tireoide, são sintetizados três hormônios, a 3,3',5'-tri-iodotironina ( $T_3$ ), a 3,5,3',5'-tetraiodotironina ou tiroxina ( $T_4$ ) e a calcitonina. Os dois primeiros são sintetizados nos folículos e têm a ver com a regulação do metabolismo de glicídeos, lipídeos e proteínas, bem como com o crescimento e diferenciação celular, enquanto a calcitonina, sintetizada nas células C, tem a ver com o controle hormonal dos níveis de cálcio no sangue.

A biossíntese dos hormônios tireoidianos nos folículos é única no sentido de que a montagem final é realizada extracelularmente, no coloide do folículo. A molécula de  $T_4$  contém 65,3 % de seu peso em iodo, enquanto a molécula de  $T_3$  contém 58,5 %. Para isso, contribui o fato de o peso molecular do iodo ser dos mais altos entre as biomoléculas (128).

Depois que o iodo é captado e oxidado pelas células foliculares, é incorporado aos resíduos de tirosina, os quais são muito abundantes na tireoglobulina, para formar MIT e DIT. O iodo na forma de MIT e DIT perfaz 70 % do iodo tireoideo. Essas duas iodotirosinas podem formar enzimaticamente os hormônios tireoidianos mediante o acoplamento por condensação oxidativa de 2 DIT para dar  $T_4$ , ou uma DIT e uma MIT para dar  $T_3$  (Figura 12). Esta condensa-

ção, que requer energia, ocorre na interface coloide-membrana da célula folicular, sendo suscetível de ser inibida por sulfas, tiourea e ácido para-aminobenzoico (PABA). Em condições de fornecimento normal de iodo, a relação  $T_4/T_3$  na tireoglobulina é de 4-7, relação que pode diminuir em condições de deficiência de iodo.

A tireoglobulina é de grande tamanho, com peso molecular 660 kDa, tendo 5.650 resíduos de aminoácidos. Dez por cento do seu peso está representado por oligossacarídeos, 3 % por tirosina (170 resíduos) e 0,5 % por iodo. É sintetizada exclusivamente pelas células foliculares tireoidianas. A tireoglobulina sintetizada sai via aparelho de Golgi por exocitose para o interior do coloide. Depois, ela é captada de novo pela célula folicular desde o coloide mediante pinocitose por estímulo da TSH, onde é hidrolisada nos lisossomos para liberar MIT, DIT,  $T_3$  e  $T_4$ . As iodotirosinas MIT e DIT são deiodadas para reciclar o iodo na glândula, enquanto que as  $T_4$  e  $T_3$  saem à corrente circulatória por difusão simples.

A  $T_4$  é predominante em todos os animais, embora a  $T_3$  seja o hormônio biologicamente ativo. Do total de hormônio liberado, 90 % é  $T_4$ , e 10 % é  $T_3$ . Existe alguma deiodação de  $T_4$  na tireoide para formar  $T_3$  reversa ( $rT_3$ ), a qual é inativa, mas a maioria da deiodação de  $T_4$  ocorre nas células-alvo dos HT.

### Transporte e metabolização dos hormônios tireoidianos

Os hormônios  $T_3$  e  $T_4$  liberados no sangue são conjugados a proteínas plasmáticas transportadoras, principalmente à globulina transportadora de tiroxina (TBG) e, em menor grau, à pré-albumina e à albumina. Cerca de 0,5 % dos HT estão no sangue em forma livre, biologicamente ativa, em equilíbrio com a fração conjugada. No gato, o rato, o coelho e

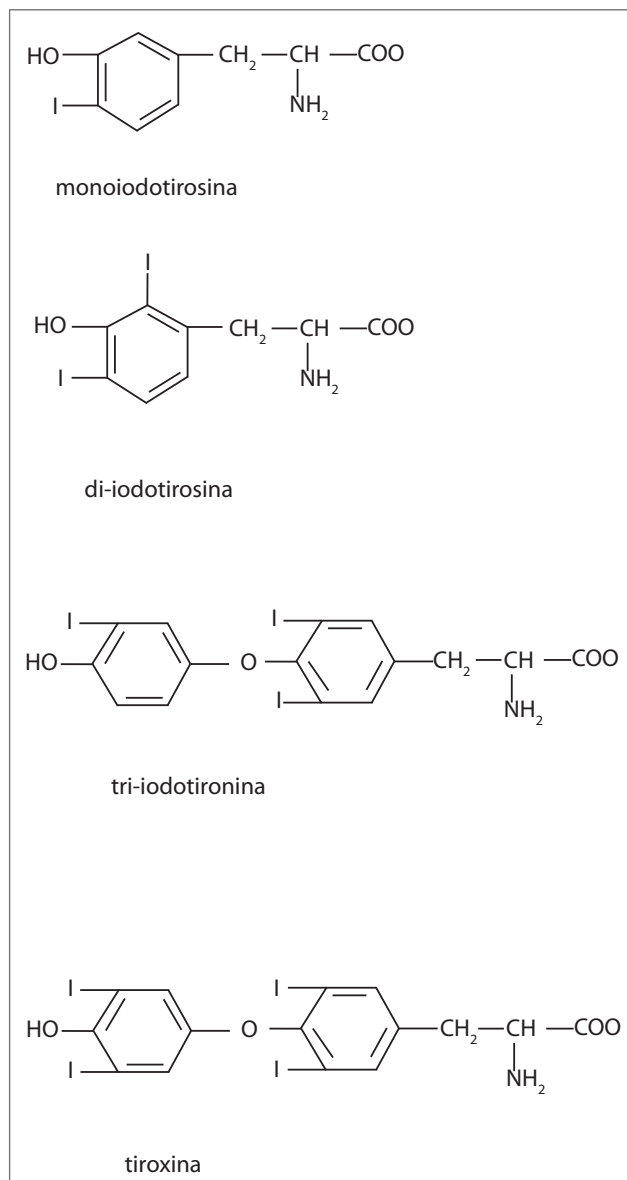
a galinha, não existe TBG, sendo que a maioria dos HT são transportados pela albumina. A união dos HT às proteínas transportadoras diminui sua perda pelos rins e aumenta sua meia-vida, servindo de importante reservatório dos hormônios. Por outro lado, as proteínas transportadoras têm papel regulador dos níveis hormonais funcionais.

A TBG capta cerca de 75 % da  $T_4$ , e sua união pode ser estimulada com esteroides sexuais e inibida com salicilatos. A afinidade da  $T_3$  pela TBG é menor, o que lhe permite maior facilidade de difusão aos tecidos. Aproximadamente 15 % da  $T_4$  está associada à pré-albumina, não havendo união da  $T_3$  a esta proteína. A albumina une  $T_3$  e  $T_4$  com muito menor afinidade do que a TBG.

A  $T_3$  é o hormônio ativo na célula-alvo, enquanto que a  $T_4$  funciona como uma forma de reserva. Grande parte da  $T_4$  é deiodada à  $T_3$  por uma deiodase específica, que contém selênio em sua estrutura, principalmente no fígado, o rim, e nos órgãos-alvo, processo de grande importância porque a  $T_3$  é o hormônio que exerce a maior parte da ação tireoidiana do organismo. A potência da  $T_3$  é 3-4 vezes maior que a  $T_4$ , e seus efeitos metabólicos são mais rápidos. A  $T_3$  é também o metabólito que controla a secreção de TSH.

A inativação das iodotironinas ocorre por deiodação, por conjugação com glicuronato ou com sulfato, ou por oxidação, processos que ocorrem em nível hepático e, em menor grau, em nível renal.

Em determinadas condições metabólicas, a  $T_4$  pode também sofrer uma deiodação específica nos órgãos-alvo, na posição 5 da  $T_4$  mediante a enzima 5'-deiodase para ser convertida em 3,3',5'-tri-iodotironina ou  $T_3$  reversa ( $rT_3$ ), a qual é biologicamente inativa. Esse mecanismo pode servir para atenuar os efeitos metabólicos dos HT, especialmente em



**Figura 12** – Biossíntese dos hormônios tireoidianos.

situações de subnutrição, doença febril, danos hepático ou renal, ou em animais neonatos.

A meia-vida da  $T_4$  é de 7 dias, e da  $T_3$ , de 2 dias. Devido à maior facilidade de penetração da  $T_3$  nas células, este hormônio tem menor meia-vida e se encontra em menor quantidade no plasma. A relação  $T_4/T_3$  no plasma sanguíneo é de 20 ou mais (Tabela 10).

TABELA 10 – VALORES DE REFERÊNCIA DE T<sub>3</sub> E T<sub>4</sub> (NG/ML)  
NO PLASMA SANGUÍNEO

Espécie	T <sub>4</sub>		T <sub>3</sub>	
	Média	Intervalo	Média	Intervalo
Canino	15,1	15-36	0,85	0,48-1,54
Equino	16,3	9,5-23,8	0,77	0,31-1,58
Felino	20,2	11,8-29,5	0,64	0,39-1,12
Bovino	62,2	36-89	0,92	0,41-1,7
Ovino	44,1	29,5-61,5	0,99	0,63-1,5
Caprino	34,5	30-42,3	1,45	0,88-1,9
Suíno	33,2	17-46,8	0,89	0,43-1,4

### Funções dos hormônios tireoidianos

O grande interrogante até hoje em razão da ubiquidade dos hormônios tireoidianos é saber se seus efeitos são consequência de uma ação primária direta sobre as células de quase todo o organismo ou se são o resultado de interações dos hormônios com constituintes celulares. Os HT atuam sobre muitas células-alvo no organismo. A seguir, algumas das ações mais importantes desses hormônios.

#### Sobre o metabolismo

Uma das funções mais importantes da glândula tireoide é o controle que exerce sobre o consumo de O<sub>2</sub> e a geração de calor, esta última de especial importância nos animais homeotermos. Em geral, o efeito é de aumentar o metabolismo basal. Os hormônios tireoidianos aumentam o consumo de oxigênio nos tecidos cardíaco, hepático, muscular, renal, glândulas salivares, pâncreas e leucócitos. O mecanismo íntimo pelo qual a atividade hormonal tireoidiana aumenta o gasto energético celular ainda está sob discussão. Vários auto-

res sustentam que o incremento do consumo de O<sub>2</sub> é devido a um estímulo na bomba de sódio, pois tal consumo é bloqueado *in vitro* na presença de ouabaína, composto inibidor dessa bomba. Inibidores da síntese de proteínas ou de mRNA também causam diminuição no consumo de O<sub>2</sub>, assim, é possível os hormônios tireoidianos exercerem sua ação através da síntese proteica.

Os hormônios tireoidianos incrementam a utilização de glicose pelas células melhorando a absorção de glicose desde o lúmen intestinal, o que leva a um aumento da glicose circulante. No hipertireoidismo, a hiperglicemia decorrente desta situação provoca hipersecreção insulínica, levando eventualmente a um esgotamento das células β do pâncreas e posterior diabetes. Em um quadro diabético, os hormônios tireoidianos agravam a situação de hiperglicemia, não somente por aumentar a absorção de glicose intestinal, mas porque incrementam a glicogenólise no fígado.

Os hormônios tireoidianos também estimulam a síntese proteica. Porém, quantidades excessivas (hipertireoidismo) a inibem, provo-

cando aumento do catabolismo proteico e incremento na excreção de nitrogênio na urina. No hipotireoidismo, ocorre efeito anabolizante, particularmente sobre as proteínas tissulares e plasmáticas, mas o efeito é catabolizante sobre as restantes proteínas extracelulares.

Os hormônios tireoidianos também têm influência sobre os processos tanto de biossíntese quanto de mobilização e degradação dos triglicerídeos. Quantidades altas de HT aumentam o processo degradativo, com diminuição dos depósitos graxos e dos níveis plasmáticos de triglicerídeos, fosfolípidos e colesterol.

#### No crescimento e no desenvolvimento

Os hormônios tireoidianos, junto com a somatotropina e a insulina, são essenciais para o crescimento e o desenvolvimento. A barreira placentária permite a passagem de hormônios tireoidianos, de forma que o feto não precisa da produção intrínseca destes hormônios para seu crescimento, sendo absolutamente dependente da fonte materna. Nos neonatos, a concentração de  $T_4$  é maior que nos adultos, pelo qual tem sido sugerido que, nessa idade, existe um estado de hiperatividade funcional. Nos vertebrados de sangue quente, os hormônios tireoidianos são considerados um pré-requisito para o crescimento normal. Embora o papel principal para esta função seja assumido pela somatotropina, os hormônios tireoidianos têm efeito sobre o crescimento máximo. O mecanismo de ação dos hormônios tireoidianos sobre a maturação, o crescimento e o desenvolvimento é desconhecido. Provavelmente esteja relacionado com a transcrição da mensagem genética no mRNA e com a biossíntese ribossomal de proteínas essenciais para o crescimento dos tecidos.

Os hormônios tireoidianos estimulam específica e irreversivelmente a maturação es-

quelética. A sensibilidade entre os diferentes ossos aos HT é muito variável, ao ponto de que um excesso destes hormônios pode causar uma desmineralização óssea considerável.

#### Na termorregulação

A atividade tireoidiana é importante na aclimatação dos animais homeotermos, aqueles com temperatura corporal constante, diante de extremos na temperatura ambiental, sendo de menor importância nos animais poicilotermos, cuja temperatura corporal varia em função da temperatura ambiental.

Em casos de hipotireoidismo, os animais se tornam mais sensíveis ao frio, ao mesmo tempo que ocorre hipertrofia da glândula. É possível que esta mudança expresse modificações aos requerimentos calóricos a fim de conseguir maior eficiência na regulação térmica.

Na adaptação ao frio, é observado um incremento na interconversão de  $T_4$  para  $T_3$  nos tecidos periféricos, o que permite dispor com maior rapidez do hormônio biologicamente ativo para compensar os requerimentos calóricos.

Os processos de hibernação têm um componente tireoidiano em seu controle, pois nesse estado o metabolismo basal dos animais diminui. O incremento na calorigênese provocado pelo frio também pode ser obtido pela ação das catecolaminas e a hiperatividade muscular, desaparecendo com a anestesia. É possível que os hormônios tireoidianos não iniciem o fenômeno, mas atuem de modo permissivo sobre as catecolaminas.

#### Outras funções

Os glicocorticoides inibem a atividade tireoidiana. Porém, as situações estressantes modificam em diverso grau a resposta



tireoidiana. Assim, se a resposta adrenocortical ao estresse falhar ou for insuficiente, pode ocorrer ativação do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide.

Os hormônios tireoidianos provocam manifestações similares à atividade simpática, isto é, taquicardia, hipertensão arterial sistólica, aumento da pressão do pulso, incremento no gasto cardíaco e menor tempo de circulação.

Em nível renal, os hormônios tireoidianos aumentam o volume de filtração glomerular e os tempos médios de filtração para diferentes substâncias.

Finalmente, os HT contribuem para o funcionamento normal do sistema nervoso central. Na deficiência de HT, o animal se torna incoordenado, mentalmente deficiente e letárgico. Nesses casos, ocorre diminuição da mielina nas fibras nervosas e redução da vascularização do SNC. No animal jovem, os neurônios podem sofrer dano irreversível se faltarem os HT. Por outro lado, o excesso de HT ocasiona efeitos estimulatórios sobre o SNC e o animal se torna hiperativo e irritável.

### Mecanismo de ação dos HT

A  $T_3$  é a forma ativa dos HT nas células-alvo. A  $T_4$  é rapidamente deiodada nas células-alvo para formar  $T_3$  ativa ou  $rT_3$  inativa, dependendo das necessidades da célula. O mecanismo geral de ação proposto para os hormônios tireoidianos está baseado na existência de receptores nucleares com maior capacidade de união pela  $T_3$  do que pela  $T_4$ . O complexo hormônio-receptor estimula, por algum mecanismo ainda desconhecido, a atividade da RNA polimerase DNA-dependente para provocar um incremento na síntese de mRNA e, portanto, de proteínas, as quais geralmente são enzimas específicas que afetam o metabolismo.

Tem sido observado também que os hormônios tireoidianos estimulam a atividade ATPásica da membrana celular estimulando a bomba de sódio, o que também aumenta o consumo de  $O_2$ . A ouabaína, composto inibidor da bomba Na-K, inibe também o efeito hormonal sobre o consumo de  $O_2$ . A ideia de que os hormônios tireoidianos produzem aumento do consumo de  $O_2$  e da calorigênese, mediante desacoplamento da fosforilação oxidativa na mitocôndria, tem sido sugerida por vários autores, embora outros argumentem várias evidências contrárias, tais como: (a) outros desacoplantes, como o 2,4-dinitrofenol, carecem das ações fisiológicas dos hormônios tireoidianos; (b) inibidores da síntese proteica, como a puromicina, inibem a ação calorigênica dos hormônios tireoidianos, o que sugere que esta ação é mediada por proteínas (enzimas); e (c) o efeito desacoplante somente é observado com elevadas concentrações, não-fisiológicas, de hormônios tireoidianos *in vitro* ( $10^5$  M).

### Regulação da função tireoidiana

A secreção dos hormônios tireoidianos é estimulada pelo hormônio estimulante da tireoide (TSH) ou tireotropina, produzido na adeno-hipófise. A liberação do TSH é, por sua vez, estimulada pelo hormônio liberador da tireotropina (TRH), produzido no hipotálamo e transportado pelo sistema portal hipotálamo-hipófise (Figura 13).

A homeostase da secreção tireoidiana obedece a uma regulação feedback negativa mediante a inibição exercida sobre os hormônios hipotálamo-hipofisiários pelos próprios hormônios tireoidianos livres.

O TRH carece de especificidade de espécie. Aparentemente seus efeitos são mais notórios sobre a liberação do que sobre a síntese de TSH, pois os efeitos não são modificados com

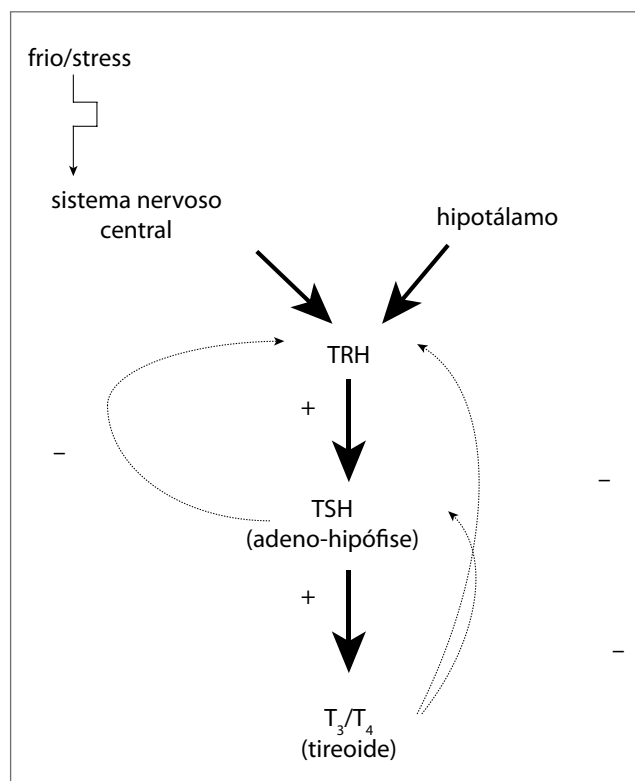
inibidores da síntese proteica. A ação do TRH sobre as células hipofisiárias se estende à secreção de GH e prolactina, mediante a estimulação do sistema adenilciclase-cAMP e a promoção da entrada de  $Ca^{2+}$ . A somatostatina, peptídeo hipotalâmico que inibe a secreção de GH, também inibe a secreção de TRH, seja ela provocada pelo frio, pelo estresse ou por um ritmo circadiano do TSH, tendo a noradrenalina como neurotransmissor (receptores  $\alpha$ ).

O TSH ativa a tireoide, isto é, provoca aumento da captação de iodo, aumentando também a iodação de Tyr e a hidrólise de tireoglobulina. O TSH promove a alongação das microvilosidades e a formação de pseudópodos das células foliculares. Essas projeções se estendem dentro do coloide para fagocitar, de forma indiscriminada, gotas coloidais que se fusionam aos lisossomos, onde atuam enzimas proteolíticas que liberam iodotironinas da tireoglobulina.

O TSH incrementa a biossíntese de tireoglobulina e, portanto, de  $T_3$  e  $T_4$ , processo que vem acompanhado de um aumento no consumo de  $O_2$  e da glicólise, bem como de um incremento no conteúdo de RNA e na produção de  $CO_2$  e de ácido láctico nas células foliculares. A administração prolongada de TSH provoca aumento no número e no tamanho das células foliculares e incremento da vascularização da tireoide. As células tomam aspecto colunar, e o lume folicular diminui devido ao aumento da endocitose do coloide.

Embora o TSH estimule os níveis de AMP cíclico, não se pode afirmar que este seja o mediador da ação do TSH, pois, quando se aplica cAMP em células hipofisiárias *in vitro*, não são reproduzidas as ações deste hormônio.

A resposta da tireoide ao TSH é modificada pelo nível de iodo. Quando o consumo de iodo é alto, a ação do TSH se inibe, diminuindo o tamanho e a atividade das células foliculares. Quando o consumo de iodo é



**Figura 13** – Regulação da função tireoidiana.

baixo, ocorre hipertrofia compensatória da glândula, aumentando o número, o tamanho e a resposta a TSH das células foliculares.

Existem dois mecanismos feedback negativo de alça longa que os HT exercem sobre a secreção de TSH: um lento, que atua sobre o hipotálamo; e outro rápido, que atua sobre a adeno-hipófise. Também existe um mecanismo de alça curta no qual o TSH inibe a secreção de TRH, bem como uma autorregulação do TSH e do TRH sobre suas próprias secreções (alça ultracurta).

## Transtornos da função tireoidiana

Os transtornos da glândula tireoide são mais comuns nos pequenos do que nos grandes animais. Nestes últimos tem maior importância a deficiência nutricional de iodo que pode levar a sinais clínicos compatíveis com hipotireoidismo.

### Hipotireoidismo

O hipotireoidismo é uma doença endócrina comum de cães e rara em gatos, sendo desafiadora no diagnóstico. Entretanto, depois de diagnosticada e adequadamente tratada, a doença apresenta um excelente prognóstico. Na condição de endocrinopatia mais comum de cães, estima-se que a prevalência esteja em torno de 0,2 a 0,6 % da população de cães. Algumas raças apresentam maior predisposição, apesar de ser uma doença comum em qualquer raça. Os cães afetados são de meia-idade a idosos, com idade média de 7 anos ao diagnóstico. No entanto, em alguns casos o diagnóstico pode ser feito em cães jovens. Alguns estudos evidenciaram maior risco em fêmeas castradas do que em machos, apesar de que, em geral, a ocorrência da doença parece ter distribuições similares entre machos e fêmeas. Cães de raças maiores tendem a desenvolver os sintomas mais jovens, assim como as raças predispostas.

### Etiopatogenia

O hipotireoidismo pode ser consequência de transtornos primários da tireoide ou secundário por lesão hipotalamo-hipofisária. Em cães adultos com hipotireoidismo espontâneo, a grande maioria dos casos pode ser considerada como primária. O processo é lento e progressivo, levando a total destruição do parênquima glandular ao longo de meses a anos de evolução. No entanto,

acredita-se que sinais clínicos de hipotireoidismo só se tornem claros quando 75 % do parênquima glandular estiver afuncional. Podem ser diferenciadas duas causas de hipotireoidismo primário: a tireoidite linfocítica e a atrofia idiopática.

A tireoidite linfocítica nos cães é parecida com a doença de Hashimoto nos humanos, estando associada a aspectos genéticos. O processo representa uma alteração autoimune em que ocorre ataque à glândula tireoide e seus componentes, resultando em infiltração linfocítica, macrófágica e plasmocítica no parênquima glandular com consequente substituição dos folículos por tecido conjuntivo fibroso. Parece ser mais comum em certas raças como a Boxer. A dosagem de autoanticorpos antitireoglobulina (TgAA) pode auxiliar na identificação de cães com o processo de tireoidite em andamento, porém sem sinais clínicos evidentes.

A atrofia idiopática é de etiologia desconhecida, embora seja conhecido que não está envolvida a secreção de TSH. É responsável por praticamente todos os outros casos de hipotireoidismo primário não causados por tireoidite. Caracteriza-se pela degeneração do tecido glandular, que é substituído por tecido adiposo sem presença de nenhum tipo de infiltrado inflamatório. Muitos autores consideram que a atrofia idiopática de tireoide pode na verdade ser um passo bastante avançado da tireoidite linfocítica, e no momento da avaliação não haveria mais infiltrados inflamatórios, uma vez que o processo autoimune teria ocorrido há muito tempo. Essa hipótese é sustentada pela idade mais jovem com a qual os animais apresentam a tireoidite linfocítica em comparação com cães com atrofia de tireoide. Ocorre em cães principalmente das raças Doberman, Pinscher, Beagle e Golden Retriever.

Outras causas envolvidas no hipotireoidismo primário podem incluir tumores destrutivos, iatrogenia após tratamento de hipertireoidismo felino ou de tumores tireoidianos caninos e defeitos congênitos ou por deficiência de iodo na alimentação, caracterizando o bócio. No hipotireoidismo primário há abundante secreção de TSH num esforço para compensar a falha tireoidiana.

O hipotireoidismo secundário ou central por lesões hipotálamo-hipofisárias é pouco comum. Nesses casos, a reduzida secreção de TSH resulta na falta de estimulação adequada da glândula tireoide, sendo observados folículos distendidos cheios de coloide com células foliculares planas, que refletem a degeneração e atrofia do epitélio glandular. Essa forma de apresentação da doença representa cerca de 5 % dos casos de hipotireoidismo espontâneos. As causas mais comuns de reduzida secreção de TSH seriam associadas a tumores hipofisários, deficiência congênita de TSH, hipofisectomia ou secundário a uso crônico de glicocorticoides ou em face do hiperadrenocorticismos. A deficiente produção hipotalâmica de TRH não foi descrita em cães, apesar de bem reconhecida em humanos.

O hipotireoidismo congênito é uma anormalidade rara em medicina veterinária, mas essa apresentação pode estar sendo subestimada uma vez que a maioria dos filhotes afetados nascem mortos ou vivem pouco tempo após o nascimento, não se identificando a causa da morte. O processo patológico envolve processos como hipoplasia, aplasia e disgenesia. Os cães que sobrevivem desenvolvem um quadro típico reconhecido como cretinismo. Os animais tendem à baixa estatura e apresentam malformações (disgenesia epifisária, atraso na maturação epifisária, macroglossia, macrocefalia, retardo na erupção dos dentes), além de retardo mental. Artrites crônicas são comuns nos animais

que sobrevivem em decorrência das malformações ósseas. No processo diagnóstico de filhotes, deve-se ter em mente que a concentração sérica de  $T_4$  nessa categoria animal é cerca de 2 a 5 vezes maior que em adultos.

Diferentemente dos cães, nos quais o hipotireoidismo é considerado a doença hormonal mais comum, os felinos raramente desenvolvem esta doença. A ocorrência natural em gatos pode estar associada a um problema congênito (agenesia, disgenesia ou disormoniogênese). A tireoidite linfocítica, de forma semelhante à observada no cão, já foi descrita. Contudo, a causa mais comum de hipotireoidismo felino é a destruição ou retirada da tireoide após tratamento com iodo radioativo ou cirurgia para hipertireoidismo.

Os sinais clínicos observados em filhotes de gato com hipotireoidismo congênito variam de redução na taxa de crescimento após 4 semanas de vida a nanismo desproporcional, letargia, retardo mental, bradicardia, hipotermia, constipação e perda de peso. Além disso, orelhas pequenas, dificuldade na erupção dos dentes permanentes e retardo no fechamento das epífises podem ser observados. Felinos com hipotireoidismo congênito vivem menos que 4 meses, mas animais hipotireoideos com atividade deficiente da peroxidase podem desenvolver bócio e compensar a falta de hormônios no plasma, tornando-se adultos hipotireoideos. Gatos com início adulto da doença apresentam principalmente seborreia seca, pelos sem brilhos, além de letargia, depressão, ganho de peso, hipotermia e bradicardia. A ocorrência de mixedema também pode ser observada.

Em ruminantes, ocorre um defeito congênito na produção de tireoglobulina, proteína armazenadora de hormônios tireoidianos, causando hipotireoidismo. O processo se desenvolve por falhas na transcrição do mRNA da tireoglobulina.

O hipotireoidismo por falta de iodo pode ocorrer por falta de suplementação deste mineral no sal em regiões com solo carente de iodo. A falta de iodo impede a produção dos hormônios tireoidianos, mas não de tireoglobulina. Por efeito feedback negativo, ocorre aumento da produção de TSH pela hipófise, induzindo a produção de elevadas quantidades de tireoglobulina, aumentando o tamanho da glândula. Este aumento de tamanho da tireoide pode causar dificuldade respiratória e da deglutição, assim como estase sanguínea ao comprimir as veias jugulares.

Algumas substâncias conhecidas como bociogênicas, alteram a síntese, liberação ou ação dos hormônios tireoidianos. Entre eles estão os tiocianetos, produzidos no rúmen pela digestão de plantas com glicosídeos cianogênicos (trevo branco, gergelim, soja), a goitrina, presente nas plantas crucíferas do gênero *Brassica* (repolho, couve, brócolis) e a mimosina, aminoácido presente na leguminosa *Leucaena leucocephala*. O excesso de iodo por excesso de ingestão de algas secas ou de intoxicações com desinfetantes que contêm iodo na sua formulação causa bócio porque interfere na biossíntese dos hormônios tireoidianos.

As substâncias bociogênicas podem atuar em diferentes níveis do sistema de síntese dos hormônios tireoidianos (Quadro 8), tais como:

- Deficiência na captação de iodeto para o interior das células tireoidianas (tiocianetos).
- Deficiência na peroxidase que oxida os iodetos (excesso de iodo).
- Deficiente acoplamento das tirosinas iodadas à tireoglobulina (goitrina).
- Deficiência da proteólise da tireoglobulina nos lisossomos (excesso de iodo).

Existem ainda falhas enzimáticas, como distúrbios na  $T_4$ -deiodase, que podem ser de origem genética, observadas em humanos, em ovinos principalmente nas raças Corriedale, Merino, Romney Marsh e Dorset Horn, em caprinos da raça Saanen e em bovinos da raça Afrikander. O problema parece ter origem em um gene autossômico recessivo.

#### Sinais clínicos

Clinicamente os sinais do hipotireoidismo revelam diminuição da taxa metabólica. Apesar de um grande repertório de sinais clínicos atribuíveis ao hipotireoidismo, dificilmente se observam todos em um mesmo paciente. A magnitude da manifestação do hipotireoidismo irá depender do grau de atrofia/degeneração glandular, bem como do tempo de evolução da doença. O grande desafio para o clínico é identificar manifestações sutis de hipotireoidismo a ponto de fazer um diagnóstico precoce e evitar que maiores morbidades venham a surgir. A doença é lenta e insidiosa.

O animal hipotireoideo aumenta de peso, observa-se inativo, incoordenado, letárgico e com problemas para suportar o frio, procurando sempre lugares quentes. Também pode ser observada queda de pelo, em alguns casos com alopecia simétrica bilateral, hiperqueratose e hiperpigmentação, diminuição da frequência cardíaca, anemia e, no hipotireoidismo crônico, mixedema (acumulação de mucina na epiderme). Neste último caso, a mucina provoca acúmulo de água e causa um engrossamento da pele, mais evidente no rosto e na cabeça. No hipotireoidismo também é observada diminuição da libido e queda da concentração espermática nos machos, enquanto nas fêmeas podem ocorrer transtornos nos ciclos estrais, tais como anestro e aciclia, com diminuição da taxa de concepção. Os níveis plasmáticos dos HT podem cair

QUADRO 8 – SUBSTÂNCIAS BOCIÓGENICAS E SEU MODO DE AÇÃO

<b>Substância Bociogênica</b>	<b>Mecanismo de Ação</b>
Tiocianetos/Percloratos	inibem captação de iodo
Tiouracil/Propiltiouracilo	inibem síntese de tiroglobulina
Metiltiouracil/Tioureia	inibem a oxidação de iodeto
Sulfonamidas	inibem absorção de tirosina
Goitrina	inibe organificação do iodo
Iodo em excesso	inibe proteólise da tiroglobulina
<sup>131</sup> I em doses excessivas	destrói o tecido tireoidiano

para menos de 8 ng/mL, no caso da T<sub>4</sub> e para menos de 0,5 ng/mL no caso da T<sub>3</sub> (valores de referência: 15–30 e 1–2 ng/mL, respectivamente). O colesterol plasmático aumenta em forma significativa, às vezes ficando acima de 500 mg/dL (referência: 135–270 mg/dL). A hiperlipidemia que ocorre no hipotireoidismo pode provocar aterosclerose dos vasos coronários e cerebrais, danos renais e hepatomegalia. Também se observa doença vascular periférica, surdez e morte precoce.

Os sinais clínicos dermatológicos são os mais comuns, presentes em mais de 80 % dos casos, e dependem do tempo e grau de evolução da doença. Os HT são fundamentais ao adequado crescimento e à manutenção da pele e pelagem, e na sua ausência uma série de anormalidades tornam-se nítidas. Espessamento e descamação da pele, secundário à hiperqueratose, são bastante comuns, assim como pele e pelos secos. Cães com hipotireoidismo tendem a ficar permanentemente na fase telógena do ciclo piloso, levando à queda de pelos especialmente em áreas de maior atrito como face posterior das coxas, axilas, pescoço e laterais do tórax, evidenciando um típico padrão de alopecia endó-

crina não pruriginosa. Os HT são fundamentais para iniciar a fase anágena do ciclo folicular dos pelos. Alguns padrões de alopecia às vezes ficam bastante evidentes, como a alopecia da cauda, também chamada de “cauda de rato”, e a alopecia dorsal do nariz.

Prurido não é uma característica das lesões cutâneas associadas ao hipotireoidismo, a menos que ocorra piodermatite ou malasseziose. A resposta ao tratamento dessas infecções secundárias tende a ser pequena até que se trate o hipotireoidismo, motivo pelo qual muitos pacientes dermatopatas crônicos posteriormente se demonstram hipotireoideos. A “face trágica” é outra anormalidade associada ao hipotireoidismo canino derivada do acúmulo de mucopolissacarídeos e ácido hialurônico no tecido subcutâneo. Esse acúmulo é resultado do desequilíbrio entre a formação e a degradação destas substâncias por conta da falta de HT, resultando no mixedema. Pelos não afetados tendem a perder coloração e se tornar mais claros que o normal (discromia). A seborreia é outra anormalidade observada nestes cães, afetando em torno de 40% dos pacientes. A manifestação pode ser na

forma oleosa ou seca e causa um odor forte na pelagem dos animais.

Os sinais clínicos metabólicos são as alterações mais relatadas em cães com hipotireoidismo (até 85% dos casos) e envolvem letargia, fraqueza, ganho de peso e intolerância a exercícios como resultado da redução na taxa metabólica. O ganho de peso muitas vezes é bastante discreto e ao longo do tratamento observa-se redução do peso devido à resolução do mixedema. No entanto, cerca de 40 % dos cães hipotireoideos apresentam sobrepeso significativo ou obesidade.

Os sinais clínicos neuromusculares parecem ter relação com uma menor atividade da bomba de sódio-potássio. A avaliação histológica evidencia degeneração axonal e desmielinização. As neuropatias periféricas estão associadas ao acúmulo de mucina nos neurônios. No repertório de sinais neuromusculares, pode-se observar lesões de neurônio motor inferior (fraqueza generalizada, alterações súbitas de marcha, paraparesia, tetraparesia, ataxia, dismetria, associadas à propriocepção deficiente), doença vestibular periférica, megaesôfago e paralisia de laringe, miopatias e convulsões.

A deficiência dos HT prejudica a função do miocárdio. Além disso, os HT favorecem a resposta do coração às catecolaminas e estimulam hipertrofia cardíaca. A ocorrência de hipotireoidismo está associada positivamente com a apresentação de doenças cardíacas e induz a piora de cardiopatias já existentes, predispondo à falência cardíaca. A cardiomiopatia dilatada é associada ao hipotireoidismo, com uma reduzida capacidade contrátil que pode melhorar com o tratamento. O eletrocardiograma destes pacientes evidencia bradicardia sinusal, arritmias e picos baixos com complexos QRS pequenos, ondas T invertidas, que tendem a se normalizar com o tratamento.

No âmbito das anormalidades reprodutivas, anestro persistente, aumento no intervalo interestral, infertilidade, abortos, mortes prematuras das ninhadas e baixo peso ao nascer são alterações comuns em fêmeas. Nos machos, perda de libido e reduzida fertilidade são esperadas. Em fêmeas, o aumento do TRH secundário à baixa nos HT pode estimular a secreção de prolactina, e galactorreia pode ocorrer.

Outros sinais menos comuns podem ser observados no hipotireoidismo, tais como depósito de triglicerídeos na córnea e ceratoconjuntivite seca. Da mesma forma, problemas comportamentais como agressividade e hipercrecimento bacteriano intestinal levando à diarreia crônica por causa da menor motilidade intestinal já foram associados ao hipotireoidismo.

#### Diagnóstico

O diagnóstico definitivo de hipotireoidismo pode ser bastante frustrante e desafiador por uma série de interferências na avaliação das dosagens hormonais. No entanto, o diagnóstico é basicamente clínico, aplicando-se as dosagens bioquímicas e hormonais para confirmação ou exclusão da suspeita clínica. Nenhum teste endócrino é 100 % acurado, ainda mais quando se trata de HT, uma vez que doenças não tireoidianas e muitas medicações utilizadas em medicina veterinária têm capacidade de provocar a redução desses hormônios no plasma.

Um protocolo simples das etapas básicas na avaliação de um paciente suspeito de hipotireoidismo pode seguir os seguintes passos:

- Presença de sinais clínicos compatíveis com hipotireoidismo.
- Verificação de tratamentos com drogas que possam causar redução nos HT. Aguardar término destas medicações para avaliação hormonal.

- Excluir doenças não tireoidianas por exames complementares e quaisquer outros testes específicos necessários.
- Dosagem de  $T_4$  total e TSH.
- Se os resultados forem confusos, dosar  $T_4$  livre por diálise e/ou TgAA.
- Caso ainda não tenha sido possível estabelecer um diagnóstico, aguardar e retestar após algumas semanas ou estudar a possibilidade de um ensaio terapêutico.

Os exames rotineiros de patologia clínica são importantes na avaliação inicial de um paciente suspeito por permitirem uma investigação inicial de doenças não tireoidianas, bem como a observação de anormalidades clássicas associadas ao estado hipotireóideo. A alteração mais comum associada ao hipotireoidismo é a hiperlipidemia, especialmente por hipercolesterolemia, alteração presente em até 80 % dos casos. A falta de HT leva a uma menor síntese e degradação de lipídeos, predispondo ao acúmulo de colesterol e de triglicérides no plasma. A menor expressão do receptor de LDL por causa da redução nos HT é outro fator que leva à hipercolesterolemia. Apesar de outras doenças não tireoidianas também causarem aumento no colesterol, aumentos muito pronunciados são preditores de hipotireoidismo.

Na bioquímica sanguínea não existem outras alterações específicas para hipotireoidismo, mas são importantes na avaliação do paciente como um todo na busca por evidências de doenças não tireoidianas. Aumentos na atividade sérica das enzimas fosfatase alcalina e  $\gamma$ -glutamyl transferase são observados em até 30 % dos casos, pela maior deposição de gordura no fígado e consequente lipidose discreta. A creatina quinase, enzima indicadora de lesão muscular, pode estar aumentada em até 35 % dos casos de hipotireoidismo por miopatias secundárias ao hipotireoidismo. A fructosamina foi proposta como um indica-

dor com até 80 % de sensibilidade para hipotireoidismo. Aumentos discretos na sua concentração são causados por uma redução na renovação das proteínas, e não por causa de hiperglicemia. Em cães com hipotireoidismo, observam-se valores próximos ao limite superior de fructosamina (cerca de 300  $\mu\text{mol/L}$ ).

Na hematologia, uma anemia normocítica-normocrômica discreta pode ser observada em até 50 % dos casos de hipotireoidismo. Essa alteração deriva do menor consumo de oxigênio pelos tecidos, além do menor estímulo para eritropoiese. Uma anemia mais intensa indica maior tempo de evolução da doença.

#### Avaliação específica da tireoide

A avaliação da função da tireoide pode ser feita através da dosagem sérica dos HT e do TSH. Rotineiramente, o  $T_4$  total (livre + ligado a proteínas) e o TSH são utilizados como testes iniciais de triagem. Como cerca de 95 % dos casos de hipotireoidismo em cães são primários, a determinação de valores baixos de  $T_4$  total ( $tT_4$ ) e altos de TSH em um cão suspeito pode ser suficiente para confirmar o diagnóstico de hipotireoidismo. Contudo, observam-se valores baixos de  $tT_4$  por administração de algumas drogas comuns em medicina veterinária, bem como em determinadas doenças não tireoidianas (falsos positivos). Da mesma forma, estas condições podem afetar o TSH sanguíneo, tornando o processo diagnóstico confuso. Muitas vezes, o diagnóstico só será confirmado após a adequada resposta terapêutica do paciente.

Uma segunda linha de exames de avaliação da tireoide inclui a dosagem do  $T_4$  livre por diálise ( $dfT_4$ ), que é mais sensível e muito mais específica para diagnóstico de hipotireoidismo. O  $dfT_4$  é menos afetado por doenças não-tireoidianas e por determinadas drogas, apesar de ainda sofrer influência de acor-



do com a medicação e gravidade da doença. Além disso, no processo de diálise de separação do  $T_4$  das proteínas (um processo que leva de 24 a 48 horas em diálise de equilíbrio de temperatura), a passagem do dialisado por uma membrana de filtração elimina a interferência de autoanticorpos no imunoensaio.

É possível determinar a presença de autoanticorpos contra tireoglobulina (TgAA) no soro de pacientes com tireoidite linfocítica. No entanto, muitos animais com tireoidite não apresentam TgAA no momento da avaliação, de forma que a não identificação desses não significa ausência de tireoidite. No entanto, a detecção de TgAA indica que um processo patológico está em curso na tireoide, e num primeiro momento, o paciente pode estar apresentando valores normais de HT, porém com valores às vezes elevados de TSH, em uma tentativa do organismo de compensar uma função tireoidiana que começa a ficar débil como resultado do ataque do sistema imune à glândula.

Para diferenciar um caso de hipotireoidismo primário de um secundário, é útil realizar uma prova com TSH, administrando esse hormônio e observando o efeito sobre a concentração dos HT. No cão eutireoidiano e no hipotireoidismo secundário, o nível de  $T_4$  deve aumentar dobrando o valor de referência em 8 horas, enquanto nos animais com hipotireoidismo primário, os níveis de  $T_4$  não são afetados depois de administrar o TSH.

A administração de TRH seguida da dosagem de TSH para avaliação do eixo hipotálamo-hipófise em casos de hipotireoidismo secundário e a administração TSH seguida da dosagem posterior de HT não têm mais sido utilizados devido às dificuldades e aos custos de obtenção de TRH e TSH e ao risco de choque anafilático. Além disso, a disponibilidade atual de exames mais acurados como TSH e  $fdT_4$  tornou o diagnóstico de hipotireoidismo

muito mais prático. O  $T_3$  em sua forma livre ( $ftT_3$ ) ou total ( $tT_3$ ) também pode ser determinado no soro, porém oferece muito pouca informação sobre a função da tireoide, uma vez que cerca de 75 % do  $T_3$  circulante não foi produzido pela tireoide, mas sim é fruto de deiodação periférica do  $T_4$ .

Resultados antagônicos e limítrofes podem deixar margens para interpretações errôneas. Da mesma forma, alguns pacientes podem apresentar um quadro típico de hipotireoidismo, mas o proprietário não dispõe de recursos para os exames de diagnóstico. Nestes casos, pode ser interessante lançar mão de um ensaio terapêutico com fins diagnósticos. Para tal, pode-se determinar um objetivo de melhora esperada em face do tratamento, como, por exemplo, um crescimento piloso de pelo menos 50 % em 2 meses. A partir daí, inicia-se um tratamento com reposição de tiroxina, seguindo os mesmos passos do tratamento. Caso não tenha havido melhora dos sinais clínicos, o hipotireoidismo está descartado. Caso a meta tenha sido atingida, recomenda-se suspender a medicação. Se os sinais clínicos voltam a piorar ou surjam novamente, o hipotireoidismo está em vias de confirmação. A nova melhora nos sintomas confirma a deficiência de HT, devendo manter-se o tratamento.

## Tratamento

O objetivo do tratamento é resolver as anormalidades metabólicas, clínicas e clinicopatológicas associadas ao hipotireoidismo. Uma grande diversidade de produtos contendo HT está disponível no mercado, mas somente alguns são aprovados por órgãos internacionais para uso em cães, como Synthroid e Soloxine. Produtos à base de extratos de tireoide suína/bovina ou HT manipulados devem ser evitados por terem uma quantidade incerta e variável de HT em suas

preparações, o que acaba refletindo em um tratamento não tão adequado. Da mesma forma, a administração de produtos à base de  $T_3$  não é indicada, sendo a melhor opção terapêutica a administração de  $T_4$  (levotiroxina sódica), mimetizando a produção fisiológica da glândula. Nesta situação, a administração do  $T_4$  serve como um pré-hormônio, garantindo concentrações adequadas do  $T_3$  biologicamente mais ativo em todos tecidos do organismo, o que não acontece quando se usa o  $T_3$  no tratamento.

A frequência da administração do HT uma vez por dia é suficiente para garantir um excelente controle hormonal. Apesar de não haver um ritmo circadiano bem definido de secreção de TSH e HT em cães saudáveis, recomenda-se a administração da droga pela manhã. Uma recomendação importante é a administração da medicação em jejum, aguardando cerca de 45 minutos antes de oferecer a refeição ao animal. Isso melhora a absorção da droga, que é pobre no cão, ao permitir um contato mais íntimo da medicação com o epitélio intestinal. A administração junto com a comida pode retardar e prejudicar a absorção da medicação. A dose inicial de tratamento é de 22  $\mu\text{g}/\text{kg}$  uma a duas vezes por dia de acordo com a resposta de cada indivíduo. O tratamento inicial de uma administração diária é recomendável, e caso a resposta terapêutica seja fraca, pode-se considerar a administração duas vezes por dia.

As apresentações (uso humano) variam de 25 a 200  $\mu\text{g}$ . Desta forma, um cão de 40 kg de peso precisa de pelo menos 4 comprimidos de 200  $\mu\text{g}$ . Existe uma tiroxina sintética para uso em cães (Caninthrox) com apresentações de 0,2 a 0,8 mg.

Clinicamente é possível observar uma melhora clínica nas primeiras semanas de tratamento. A melhora nos parâmetros laboratoriais pode ser observada após um período de

um mês, sendo que rapidamente se observa redução nos valores de colesterol e de fructosamina. As manifestações cutâneas tendem a se normalizar em até 3 meses, e um novo crescimento piloso é evidente no primeiro mês. Uma perda de peso de pelo menos 10 % é esperada nos primeiros 3 meses. Os sinais neurológicos são os que mais demoram a reverter, podendo demorar até 6 meses.

O monitoramento do tratamento é feito através da dosagem de HT no plasma, especialmente o  $tT_4$ , o qual reflete bem se a administração está sendo adequada e se a medicação está atingindo um bom pico plasmático. A dosagem deve ser feita em torno de 6 horas após a administração da medicação. Alguns autores preconizam a dosagem de  $tT_4$  antes da administração da pílula para checar se o  $T_4$  está se mantendo estável durante todo o dia, podendo sugerir a necessidade de uso da medicação duas vezes por dia.

A dosagem de TSH pode ser útil, uma vez que após o início do tratamento ocorre a supressão dos valores desse hormônio. No entanto, nem todos cães hipotireoideos têm TSH elevado e muitas vezes um valor dentro do normal não significa que o animal está bem controlado. Além disso, a inclusão do TSH no monitoramento torna mais onerosa a avaliação.

Valores de  $tT_4$  após 4-6 horas da administração da medicação entre 25 e 45  $\text{ng}/\text{mL}$  são indicativos de boa absorção e bom pico na circulação, assumindo-se que se o paciente estiver respondendo bem, o tratamento está adequado. Valores menores que 25  $\text{ng}/\text{mL}$  podem indicar necessidade de aumento na dose ou frequência de acordo com cada caso. Da mesma forma, valores muito superiores a 50  $\text{ng}/\text{mL}$  podem indicar necessidade de redução na dose ou frequência no tratamento, apesar de que cães são relativamente resistentes à tireotoxicose (polifagia, poliúria,

polidipsia, vômitos, diarreia, agitação, ofego, nervosismo, hipertermia, taquicardia), com relatos indicando que a dose precisaria ser 20 vezes maior para provocar esses sintomas. A tireotoxicose reverte-se após alguns dias da retirada da medicação. A dose eficaz é bastante particular e ajustes podem ser necessários para cada paciente, a partir da dose inicialmente prescrita. O prognóstico é excelente, não sendo possível diferenciar animais saudáveis de pacientes hipotireoideos bem controlados.

### Hipertireoidismo

O hipertireoidismo é uma das doenças endócrinas mais comuns dos felinos, sendo rara sua ocorrência na espécie canina. A desordem é caracterizada como uma doença multissistêmica crônica por concentração elevada de HT na circulação. A primeira descrição desta doença em felinos foi realizada em 1979, e desde então cada vez torna-se mais comum nas rotinas clínicas. No entanto, apesar de a etiologia ser por hiperplasia adenomatosa da tireoide, a maior incidência da doença poderia estar sendo causada por exposição a fatores de risco ambientais ou a um crescimento da população felina associado ao maior cuidado dos proprietários e maior conhecimento da doença pelos clínicos.

### Etiologia

O hipertireoidismo está associado com hiperplasia multinodular, adenomas ou adenocarcinomas derivados das células foliculares que provocam níveis de HT muito elevados no sangue, podendo chegar até a 500 ng/mL de  $T_4$  e 10 ng/mL de  $T_3$  (referência em felinos: 15-30 e 0,3-0,9 ng/mL, respectivamente). A grande maioria dos felinos afetados pela doença (98 %) apresenta uma hiperplasia adenomatosa bilateral, ao passo

que a hiperplasia unilateral é observada em cerca de 30 % dos casos. A ocorrência de carcinomas tireoidianos é rara, respondendo por apenas 2 % do total de casos de hipertireoidismo. A estimulação prolongada da glândula endócrina e suas células secretoras predispõe a tumores por clones de células, que crescem mais rapidamente que o resto e são mais suscetíveis à transformação neoplásica. A tireoide atinge um tamanho duas ou três vezes superior ao normal, com hiperplasia das células foliculares e aumento na velocidade de secreção de 5 a 15 vezes.

Diversos estudos epidemiológicos retrospectivos tentaram evidenciar fatores de risco ao desenvolvimento de hipertireoidismo felino. O fator mais importante identificado foi o uso de ração comercial em lata como fonte exclusiva ou principal de alimentação, especialmente as rações à base de peixe, fígado e miúdos de aves, as quais apresentariam maiores concentrações de iodo. Também foram implicados como fatores de risco o forro plástico nas latas e as latas de abertura fácil. Outros fatores biogênicos também já foram implicados, como elevada ingestão de selênio (importante na regulação da tireoide), isoflavonas de soja e outras isoflavonas como genisteína e daidzen, constituintes comuns em dietas enlatadas. O exato papel dessas substâncias ainda não é bem compreendido.

As concentrações de TSH circulantes ficam inferiores ao normal, podendo mesmo ser nulas. Existem substâncias semelhantes ao TSH, anticorpos de imunoglobulina, que se ligam aos mesmos receptores de membrana que fixam o TSH. Essas substâncias induzem a ativação contínua do cAMP e ao hipertireoidismo. Esses anticorpos se desenvolvem em função da autoimunidade contra o tecido tireoidiano, conhecida como doença de Graves em humanos.

A ocorrência da doença afeta felinos com mais de 10 anos de idade, apesar de haver relatos em gatos jovens. A média de idade é de 12 anos. Não há uma predisposição racial ao desenvolvimento da doença, apesar de gatos Siameses e Himalaios terem sido identificados com menor predisposição ao desenvolvimento da doença. Estudos epidemiológicos revelam não haver predisposição sexual. Atualmente acredita-se que a prevalência do hipertireoidismo felino é de 1 caso para cada 300 felinos.

#### Sinais clínicos

O sinal clínico mais evidente em gatos hipertireóides (95 % dos casos) é o aumento de volume da tireoide fazendo com que a glândula passe a ser palpável, o que normalmente não é possível. A palpação de tireóides aumentadas não indica hipertireoidismo, uma vez que não necessariamente o aumento de volume está associado à excessiva secreção de HT, podendo tratar-se de hiperplasia da paratireoide. A palpação da tireoide deve estar concomitante com elevados valores de  $T_4$  plasmático.

O animal hipertireóide apresenta perda de peso, geralmente com apetite voraz, embora possa haver apetite normal, polidipsia, poliúria, aumento da frequência de defecação e do volume das fezes, aumento da atividade e inquietação, bem como intolerância ao calor, apresentando sudorese intensa e taquicardia. Há fraqueza muscular e fadiga extrema, com ocorrência de tremores. Um sintoma descrito em humanos é a exoftalmia (protusão dos globos oculares), em um terço dos pacientes, podendo levar a complicações da visão por ressecamento corneal por deficiente lubrificação.

Alguns sinais clínicos comportamentais ficam evidentes como hiperatividade, nervosismo, insônia e comportamento agressivo.

Às vezes a expressão facial do paciente demonstra um estado de alerta. Poliúria e polidipsia ocorrem em até 70 % dos casos devido a diversos fatores associados como perturbação da secreção de ADH pelos HT, *washout* medular (menor concentração de solutos na medula renal), polidipsia primária associada a distúrbios hipotalâmicos causados pelos HT, aumento da taxa de filtração glomerular e ainda coexistência de disfunções renais primárias em alguns casos.

Alopecia tende a ser mais observada em gatos de pelos longos pela intolerância ao calor secundária e de cuidados excessivos com a pelagem, levando muitas vezes à alopecia bilateral simétrica, ao passo que gatos de pelos curtos tendem a apresentar pelagem feia e embaraçada. A ocorrência de sinais gastrointestinais pode estar presente em até 50 % dos casos e caracteriza-se por vômitos ocasionais ou intermitentes (secundários à hipermotilidade e ao efeito direto dos HT sobre o centro do vômito) e por diarreia ou aumento do volume e da frequência fecal pela maior velocidade de fluxo intestinal e maior ingestão de alimentos.

Os HT apresentam efeitos cronotrópicos e inotrópicos positivos sobre o miocárdio, além de interagirem com o sistema nervoso autônomo, levando a uma maior ativação simpática. O resultado é a ocorrência de taquicardia (frequência maior que 250 batimentos por minuto) em até de 60 % dos casos, choque pré-cordial mais forte, murmúrios, arritmias e hipertensão. Muitas vezes essas alterações sobre a atividade do miocárdio acabam resultando em cardiomiopatia hipertrófica. Como consequência deste desarranjo, alguns animais podem desenvolver insuficiência cardíaca congestiva com alterações associadas como sopro, ritmo de galope, edema pulmonar (tosse, dispnéia, abafamento dos sons cardíacos), efusão pleural e até mesmo ascite. A cardiomiopatia

tireotóxica é reversível, mas alguns animais podem não responder desta forma e piorar após o tratamento.

### Diagnóstico

O diagnóstico do hipertireoidismo é fácil, uma vez que a detecção de valores elevados de HT em um animal suspeito é confirmativo. No entanto, como é fundamental a investigação de outras morbidades associadas, recomenda-se a realização de exames laboratoriais de rotina, bem como exames de imagens.

Em geral, exames de imagens não são necessários para o diagnóstico de hipertireoidismo, mas são indicadas radiografias torácicas em caso de dispneia, taquipneia ou abafamento de sons cardíacos, quando se pode observar cardiomegalia com eventual efusão pleural associada. Uma ecocardiografia pode indicar hipertrofia ventricular esquerda em até 70 % dos casos, bem como dilatação atrial esquerda (70 % dos casos) e hipertrofia de septo interventricular em até 40 % dos casos. No eletrocardiograma as alterações mais frequentes são taquicardia sinusal e aumento ventricular esquerdo.

Com o maior consumo de oxigênio e maior taxa de eritropoiese estimulada pelos HT e ativação beta-adrenérgica da medula, pode-se observar aumento no hematócrito e volume corpuscular médio, eritrocitose, macrocitose e maior concentração de hemoglobina. A ocorrência de um leucograma de estresse é um achado comum e esperado (neutrofilia, eosinopenia e linfopenia).

Na bioquímica sérica, o principal achado é a elevação da atividade sérica de uma ou mais enzimas hepáticas, especialmente a alanina aminotransferase (ALT), em cerca de 70 % dos casos. Aumento na atividade das enzimas AST, FA e LDH pode ser observado também. As alterações hepáticas que levam a

essas elevações estão associadas à má-nutrição, insuficiência cardíaca congestiva, hipóxia hepática e efeitos tóxicos dos HT sobre o fígado. Cerca de 20 % dos casos podem apresentar hiperglicemia moderada associada ao estresse. A fructosamina tende a ficar reduzida pelo maior *turnover* de proteínas, devendo-se ter cuidado para avaliar a fructosamina no controle de felinos diabéticos hipertireóidesos.

Cerca de 30 % dos casos podem apresentar elevação de ureia e creatinina por causa do maior catabolismo proteico e hipertensão. O fósforo pode estar elevado em até 30 % dos casos, porém não associado à azotemia, mas indicando perturbações no metabolismo dos ossos que tendem a osteogenia com a excessiva concentração de HT, apesar de não haver maiores alterações no cálcio plasmático. A urinálise evidencia densidade baixa, entre 1.015 e 1.035, devido à poliúria típica da doença, sem necessariamente estar associada a uma disfunção renal primária.

O diagnóstico do hipertireoidismo envolve, além dos sinais clínicos, a dosagem de  $T_3$  e/ou  $T_4$  total ou livre no plasma. A concentração plasmática de TSH deve estar baixa. A determinação da concentração sérica total de tiroxina ( $tT_4$ ) é suficiente para fechar o diagnóstico, sendo considerada o primeiro teste específico a ser realizado diante de suspeita de hipertireoidismo. No entanto, se houver sinais clínicos compatíveis, porém com valores de  $tT_4$  normais, pode-se mensurar novamente em 4 semanas, uma vez que é comum flutuação da concentração do  $T_4$  em animais hipertireóidesos, além do que a presença de doenças não tireoidianas pode causar redução na concentração sérica de  $T_4$  a valores dentro da faixa de normalidade.

Assume-se que a dosagem do  $fdT_4$  ( $T_4$  livre por diálise) é ainda mais sensível para o diagnóstico de hipertireoidismo, estando elevado em até 98 % dos casos. A determinação

do  $T_3$  sérico pode ser útil no processo diagnóstico, porém podem se encontrar valores normais de  $T_3$  em gatos hipertireóideos, devendo-se assumir o  $tT_4$  como primeira opção.

Testes de estimulação com TRH ou com TSH não são de uso rotineiro. No entanto, em alguns casos suspeitos pode ser necessário lançar mão de um teste de supressão com  $T_3$ . A aplicação desse teste deve ser reservada a casos suspeitos onde os valores de  $tT_4$  ou  $fdT_4$  não foram conclusivos e permaneceram próximos aos valores máximos considerados normais. A administração de  $T_3$  em um animal saudável ou com uma doença não tireoidiana provoca uma redução na concentração de  $T_4$  uma vez que o  $T_3$  irá promover um feedback negativo no hipotálamo sobre a secreção de TRH e TSH, o que não acontece em gatos hipertireóideos. O protocolo do teste recomenda a coleta de uma amostra de sangue para dosagem de  $tT_4$  e  $tT_3$ , passando-se posteriormente a administrar a dose de 25  $\mu$ g de tri-iodotironina sintética por via oral, a cada 8 horas por 3 dias consecutivos, coletando-se nova amostra de sangue após cerca de 2 a 4 horas da última administração de  $T_3$  para dosagem de  $tT_4$  e  $tT_3$ . Uma resposta normal é o  $tT_4$  suprimido (< 20 nmol/L) após os 3 dias de administração de  $T_3$ , ao passo que o  $tT_3$  deve estar aumentado (comprovando que a droga foi administrada corretamente). Animais hipertireóideos permanecem com valores de  $tT_4$  superiores a 20 nmol/L após a administração sequencial de  $T_3$ , sem observar a supressão do  $T_4$  basal.

## Tratamento

O tratamento do hipertireoidismo visa controlar os efeitos da hiperfunção glandular por meio de diferentes abordagens como remoção da glândula, destruição do tecido glandular, inibição farmacológica da síntese e liberação dos HT ou melhora dos efeitos dos HT em excesso nos tecidos periféricos.

Existe uma modalidade terapêutica, que é o tratamento com iodo radioativo ( $^{131}\text{I}$ ). Este tratamento é interessante e considerado tratamento de eleição quando disponível e financeiramente viável. O objetivo é destruir o tecido tireoidiano hiperativo através da administração de iodo radioativo. A glândula hiperfuncional capta o iodo radioativo, e a radiação gama destrói o tecido tireoidiano, levando ao controle da doença na grande maioria dos casos. Complicações como hipotireoidismo são relativamente raras (2 % dos animais submetidos ao tratamento).

Opções terapêuticas incluem tratamento médico ou cirúrgico. O Quadro 9 apresenta as principais vantagens e desvantagens de ambas as modalidades terapêuticas. Antes de se escolher que tratamento será empregado, é necessário considerar alguns fatores práticos e médicos como severidade da tireotoxicose, presença de outras doenças, idade do paciente e complicações potenciais, além do custo.

O tratamento médico mais disponível e considerado a droga de eleição para o tratamento do hipertireoidismo é o metimazol. Essa droga tem a capacidade de inibir a síntese de HT, sem inibir a captação de iodo ou a liberação de HT já formados. O objetivo da administração do metimazol ou outras drogas antitireóideas é reduzir a concentração dos HT a valores de referência. Essas drogas têm o efeito de inibir a incorporação do iodo nas moléculas de tireoglobulina, impedindo desta forma a formação adequada dos HT. O tratamento médico tem uma série de vantagens por não necessitar de internamento, anestesia em um paciente metabolicamente descompensado, além de não haver as complicações potenciais de tireoidectomia, apesar de não ser um tratamento curativo. O metimazol é administrado na dose de 5 mg/dia preferencialmente dividido em duas doses diárias para garantir melhores resultados.

QUADRO 9 - VANTAGENS E DESVANTAGENS DO TRATAMENTO MÉDICO E CIRÚRGICO PARA O HIPERTIREOIDISMO FELINO

Fator	Tratamento cirúrgico	Tratamento médico
Recorrência do hipertireoidismo	possível se não for empregada técnica adequada	comum dependendo do comprometimento do dono
Tempo para atingir eutireoidismo	depende do tratamento anterior	3 – 15 dias
Hospitalização	1 – 10 dias dependendo das complicações pós-operatórias	não necessária
Reações adversas	hipoparatiroidismo, paralisia do nervo laríngeo recorrente	anorexia, vômitos, diarreia, inibição da medula óssea, hepatotoxicidade
Custo	intermediário	significativo em longo prazo

No tratamento com metimazol, pode haver sinais adversos como anorexia, vômitos, diarreia, agranulocitose, anemia hemolítica, trombocitopenia, hepatotoxicidade e/ou prurido facial. Os efeitos colaterais hematológicos podem predispor à sepse e a hemorragias. Se a dose for excessiva, pode-se interromper o tratamento por cerca de 4 dias antes de retomá-lo com doses menores, no caso de efeitos colaterais gastrointestinais. Com efeitos colaterais hematológicos, hepáticos ou dermatológicos, é contraindicada a continuidade da administração do metimazol. Uma preocupante consequência de qualquer tratamento para o hipertireoidismo é o prejuízo ao funcionamento renal pela redução na taxa de filtração glomerular e menor fluxo sanguíneo renal secundário à redução no débito cardíaco em face da redução na concentração dos HT. Para monitorar o tratamento e controlar a ocorrência destes efeitos adversos potenciais, recomenda-se a reavaliação do paciente a cada duas semanas nos primeiros 3 meses, com avaliação de hemograma para detectar alterações hematológicas. A função renal e a mensuração do  $tT_4$  deve ser feita também a cada 2 semanas até

que se atinjam valores de  $T_4$  dentro da normalidade. Ajustes na dose do metimazol podem ser feitos de acordo com a resposta do paciente. Pacientes que venham a desenvolver azotemia podem ter a dose de metimazol ajustada para manter os valores de  $T_4$  levemente elevados. Em longo prazo, um paciente bem controlado necessita de revisões semestrais com dosagem de HT para checar a evolução do tratamento e permitir outros ajustes.

O inconveniente da aplicação de drogas antitireóideas no tratamento de felinos com hipertireoidismo é a necessidade de uso contínuo da medicação. Apesar de o metimazol ser a principal droga disponível no mercado, outras opções podem ser aplicáveis, como o propiltiuracil (não recomendado por causa dos fortes efeitos colaterais) ou o carbimazol (que é metabolizado a metimazol). Tratamentos médicos alternativos já foram propostos, como, por exemplo, o uso do ácido iopanoico, que, administrado na dose de 50 mg duas vezes ao dia, inibe a conversão de  $T_4$  a  $T_3$ . Geralmente não se observam efeitos colaterais, mas muitos gatos tornam-se refratários à droga ao longo do tempo. Outra possibilidade terapêutica proposta recentemente é

a injeção percutânea de etanol diretamente na tireoide, uma vez que o etanol estimula a coagulação necrótica e lise tecidual. A administração do etanol 96 % é feita guiada por ultrassom diretamente dentro da glândula com o paciente sob anestesia, preconizando-se o tratamento de uma glândula de cada vez. Uma complicação potencial do uso do etanol percutâneo é a paralisia de faringe, que pode ser transitória ou permanente. Caso a paralisia seja bilateral, pode ser fatal.

Drogas como o propranolol e atenolol são úteis no controle da taquicardia, taquiperneia, hipertensão e hiperexcitabilidade associadas ao hipertireoidismo. Apesar de não haver um efeito direto destes bloqueadores adrenérgicos sobre a síntese dos HT, o propranolol pode inibir a conversão periférica do  $T_4$  a  $T_3$ . Essas drogas podem ser usadas no tratamento ou na estabilização inicial do paciente. Contudo, o propranolol pode ser contraindicado em pacientes com histórico de asma ou insuficiência cardíaca congestiva por ser um bloqueador beta-adrenérgico não seletivo. Desta forma, prefere-se usar o atenolol, um agente bloqueador seletivo beta<sub>1</sub>-adrenérgico.

A tireoidectomia cirúrgica é o tratamento eletivo na maioria dos gatos com hipertireoidismo. Muitas vezes consiste no único tratamento curativo disponível na ausência de centros para radioterapia animal. A tireoidectomia pode ser realizada com uma baixa incidência de complicações, sendo um procedimento considerado rápido, simples, curativo e de custo baixo. Existem diversas técnicas cirúrgicas para a tireoidectomia (intracapsular, intracapsular modificada, extracapsular e extracapsular modificada). A técnica intracapsular é melhor para preservar as paratireoides apesar de haver a possibilidade de deixar-se resquícios de tecido hiperplásico, ao passo que a técnica extracapsular é mais efetiva no controle do hipertireoidismo, apesar de fre-

quentemente estar mais associada à retirada ou lesão acidental da paratireoide.

As concentrações de  $T_4$  tendem a ficar abaixo do limite de referência após a tireoidectomia bilateral por semanas a meses, mas se elevam até a faixa de referência após períodos variáveis de tempo. Não há necessidade de suplementação de tiroxina, uma vez que dificilmente ocorre hipotireoidismo permanente; no entanto, alguns autores recomendam o uso de 100 µg de tiroxina quatro vezes ao dia por dois meses após a tireoidectomia bilateral. Talvez a complicação mais comum após tireoidectomia seja a recorrência do hipertireoidismo, quer por hiperfuncionamento da glândula não removida ou por conta de tecido tireoidiano ectópico. O uso de tecnologias como captação de radioisótopos pode ser útil na identificação destes tecidos. Se há recorrência após a tireoidectomia bilateral, uma nova modalidade terapêutica deverá ser empregada. Todos os tratamentos para o hipertireoidismo felino podem levar à piora da função renal e nestes casos a administração de tiroxina pode ser considerada caso ocorra insuficiência renal azotêmica.

### **Distúrbios relacionados aos hormônios sexuais**

Nos distúrbios relacionados aos hormônios sexuais, diversas alterações especialmente dermatológicas podem ser observadas. Anormalidades na pelagem são causas comuns de preocupação de proprietários e frequentemente esses achados podem indicar estágios iniciais de determinadas doenças. Distúrbios relacionados aos hormônios gonadais são decorrentes de cistos ou tumores ovarianos nas fêmeas, ou tumores testiculares em machos. As repercussões cutâneas associadas a esses distúrbios envolvem como alteração patológica típica a alopecia atrófica, que é a causa mais comum de alopecia bilateral em cães. Observa-se um crescimento pilo-



so anormal, levando a uma fase anágena (fase de crescimento do pelo) mais curta e uma fase telógena (fase de repouso folicular onde não há crescimento) mais longa. O resultado é que os pelos ficam numa situação de dormência, com a atrofia/displasia folicular.

Na abordagem diagnóstica destes casos, é sempre importante ter em mente que as anormalidades dermatológicas estão associadas a outras alterações clínicas e laboratoriais. Além disso, uma série de diagnósticos diferenciais deve ser avaliada, uma vez que a alopecia pode ser decorrente de doenças dermatológicas parasitárias, alérgicas, endócrinas ou até neoplásicas. No entanto, a presença de alopecia simétrica bilateral sem histórico ou evidências clínicas de inflamação indica uma doença sistêmica. A ausência de prurido em uma alopecia simétrica bilateral, com pelos facilmente epiláveis e distúrbios variáveis de pigmentação da pele e dos pelos, é a apresentação clássica de atrofia dos folículos pilosos associada a distúrbios hormonais. Ainda assim, é importante levar em consideração causas não hormonais de alopecia, como a alopecia de diluição de cor e as displasias foliculares que podem ter uma apresentação similar. Neste sentido é fundamental uma boa avaliação clínica e um bom exame físico do paciente, além de exames complementares que deverão ser solicitados de acordo com os achados da história e do exame físico.

#### Tumores testiculares

Os tumores testiculares que afetam os cães são os sertoliomas, leidigomas e os seminomas. Os sertoliomas estão associados a sinais clínicos de hiperestrogenismo ou síndrome de feminilização, uma vez que são células produtoras de estrógenos. Os leidigomas estão associados a síndromes de masculinização, caracterizando hiperandrogen-

nismo. Clinicamente é importante avaliar os grupos de risco, uma vez que estes tumores são observados em animais com criptorquidia. Assim, dependendo da produção hormonal do tumor testicular, podem se esperar duas síndromes distintas: de androgenização e de feminilização.

#### Síndrome de androgenização

Cães com sinais de hiperandrogenismo ou síndrome de masculinização podem aparecer com alopecia simétrica bilateral. A causa está associada à presença de um leidigoma, porém já foi relatada androgenização secundária a um seminoma. Além da alopecia e eventual hiperpigmentação, cães com hiperandrogenismo apresentam seborreia oleosa como uma complicação dermatológica associada. Os andrógenos apresentam um efeito estimulatório sobre glândulas exócrinas e maior secreção de sebo cutâneo, bem como uma maior proliferação e secreção das glândulas da região perianal. A testosterona é um hormônio classicamente associado ao comportamento viril do macho, manifestada por agressividade e dominância. Do ponto de vista comportamental, é comum a queixa de agressividade, dominância e territorialismo mais evidentes, assim como uma libido exacerbada, evidenciada por masturbação, tentativa de montar fêmeas fora do estro ou até montar outros cães.

Uma avaliação ecográfica do paciente poderá evidenciar prostatopatias, como a hiperplasia prostática benigna, associada muitas vezes a cistos ou abscessos prostáticos. Pelo ultrassom também é possível avaliar a presença de massas tumorais nos testículos, bem como alterações do parênquima testicular, associado à degeneração/atrofia testicular. Clinicamente se podem detectar algumas dessas alterações na palpação testicular

e palpação prostática por toque digital anorretal, o que pode ser facilmente realizado em pacientes de porte médio a grande.

Muitas vezes a maior produção de andrógenos pelo tumor pode resultar em feedback negativo no hipotálamo, levando a menor secreção de GnRH e assim de LH e de FSH, o que leva à atrofia do parênquima não afetado. Muitas vezes o tumor não produz um andrógeno ativo, como a testosterona, mas sim um precursor androgênico como a androstenediona ou desidroepiandrosterona (DHEA). Estes precursores androgênicos não ativam de forma eficiente o receptor, porém na periferia esses precursores podem sofrer conversão a formas biologicamente mais ativas.

A determinação laboratorial do problema torna-se complicada. A determinação sérica de andrógenos dificilmente terá algum valor diagnóstico em virtude de diversos fatores como flutuações na secreção diária, interconversão entre hormônios esteroides, enorme variedade de produtos de secreção, até porque muitas vezes o distúrbio não está relacionado à excessiva secreção ou transformação de determinado hormônio, mas a alterações nos receptores que podem estar mais sensíveis a um dado hormônio. Do ponto de vista de patologia clínica, ocasionalmente se pode observar hiperlipidemia. A realização de biópsias de pele tende a evidenciar achados comuns a doenças endócrinas, como hiperqueratose ortoqueratótica, melanose epidérmica, atrofia de folículos e glândulas foliculares, folículos em telágeno e hiperqueratose perifolicular.

O diagnóstico definitivo muitas vezes só será firmado após a castração e posterior resolução dos sintomas. Cerca de 1 a 3 meses depois já é possível observar a redução do tamanho prostático, além da reversão da hiperplasia perianal. Da mesma forma, o crescimento piloso deve ser observado em até 3 a 6 meses. Os si-

nais comportamentais tendem a ser os primeiros a se reverterem, mas alguns animais podem manter o hábito da masturbação.

#### Síndrome de feminilização

A síndrome de feminilização é decorrente de um sertolioma produtor de estrógenos. Clinicamente as alterações cutâneas poderão estar associadas a sinais de feminilização como atração de outros machos, permissividade quanto à monta de outros machos, ginecomastia, pênis pendular, atrofia testicular, discromia e baixa libido. Laboratorialmente a maior produção de estrógenos pode ficar sugerida pela observação de anemia, trombocitopenia e leucopenia (pancitopenia) pelo efeito mielosupressivo associado aos estrógenos. As considerações quanto a dosagens hormonais nestes casos segue a mesma lógica quanto a andrógenos. Embora elevadas concentrações de estrógenos em cães com síndrome de feminilização possam ser detectadas, muitos cães clinicamente acometidos apresentam valores normais de estradiol, pois outros hormônios estrogênicos podem estar sendo secretados (estrona, estriol). Além disso, o defeito pode ocorrer secundário à conversão periférica de precursores androgênicos em estrógenos por maior atividade periférica da enzima aromatase. A castração deve ser tida como tratamento padrão deste tipo de paciente, especialmente se não houver evidências de metástase. Muitas vezes os testículos ficam retidos no tecido subcutâneo ou intra-abdominal. O uso de progestágenos como o acetato de megestrol e medroxiprogesterona, apesar de apresentar efetividade terapêutica por seus efeitos antiandrogênicos e antiestrogênicos, deve ser evitado, ou reservado a situações específicas, devido a seus efeitos deletérios.

## Distúrbios ovarianos

Os distúrbios ovarianos estão associados a quadros clínicos de hiperestrogenismo pela presença de cistos foliculares ou tumores ovarianos. Contudo, alguns tumores ovarianos mais raros, como o tumor de células de Sertoli-Leydig, que tem origem em remanescentes de células com potencialidade masculina que persistem depois dos estágios de desenvolvimento e diferenciação sexual durante a vida fetal, podem secretar andrógenos além de estrógenos. Em fêmeas, o hiperestrogenismo é manifestado por sinais clínicos como ciclos irregulares, ninfomania, edema vulvar (muitas vezes com corrimento vaginal serossanguinolento), ginecomastia, discromia intensa, alopecia simétrica e hiperpigmentação difusa.

A apresentação de sinais clínicos de hiperestrogenismo em cadelas jovens provavelmente está associada a cistos foliculares, ao passo que, em cadelas de meia idade a idosas, a origem do problema pode ser um tumor ovariano. Os tumores de células de Sertoli-Leydig podem apresentar intensa atividade estrogênica e/ou androgênica. O tratamento visa à eliminação da origem do problema, e a ovariectomia associada à histerectomia é altamente aconselhável.

## Alopecia X

Alopecia X é um termo genérico usado para classificar uma série de dermatoses sem maior envolvimento sistêmico, que se caracterizam por alopecia não-pruriginosa e hiperpigmentação. Esta condição é mais observada em cães Pomeranianos, Chow-Chow e Poodles adultos entre 1 e 5 anos de idade, tanto em machos como em fêmeas castrados e não castrados. A alopecia simétrica envolve o tronco, a face caudal dos membros posteriores, a re-

gião perineal e o pescoço. Além disso, alterações na qualidade da pelagem e coloração da pelagem ficam nítidas.

A origem do problema não é conhecida e uma grande variedade de sinônimos já foi relacionada a esta síndrome, tais como desbalanço de hormônios sexuais adrenais, dermatose responsiva ao hormônio do crescimento, hiposomatotropismo, dermatose responsiva à castração, hiperplasia adrenal congênita e pseudossíndrome de Cushing. Apesar disso, acredita-se que a Alopecia X tenha um componente hereditário associado à sensibilidade alterada dos receptores hormonais nos folículos pilosos.

O diagnóstico de Alopecia X é firmado após a exclusão de outras doenças hormonais como hiperadrenocorticismos e hipotireoidismo, bem como outras doenças dermatológicas. A biópsia de pele é fundamental, e o exame histopatológico tem mais utilidade por descartar outros quadros de apresentação similar como displasia folicular e alopecia sazonal do flanco. O resultado da avaliação histológica destes animais evidencia um padrão associado a endocrinopatias (discreta atrofia e acantose da epiderme e do epitélio folicular, hiperpigmentação, teleogenização dos folículos pilosos). Um achado bastante sugestivo, mas não patognomônico de Alopecia X, é a presença de “folículos em chama”, uma alteração caracterizada por projeções de queratina a partir do tricolema. Do ponto de vista laboratorial, nenhuma anormalidade clinicopatológica costuma estar presente. A resposta terapêutica fechará o diagnóstico na maioria dos casos.

Com base na possibilidade de tratar-se de um hiperadrenocorticismos atípico ou moderado, tem-se proposto a realização de um teste de estimulação por ACTH, com a dosagem não só de cortisol, mas também de precursores esteroidais como a androstenediona, DHEA e 17-hidroxiprogesterona, antes e após a administração de ACTH. Além

de onerosa, esta avaliação pode gerar dados bastante inconsistentes. A dosagem de estradiol, testosterona e progesterona antes e após administração de ACTH também já foi proposta como uma forma de avaliar a existência de uma hiperfunção adrenal e esteroidogênese anormal. Apesar de terem sido demonstradas elevadas concentrações de 17-hidroxiprogesterona em cães com Alopecia X, o papel desse hormônio na queda de cabelos é desconhecida. Cerca de 30 % dos casos apresentam baixas concentrações de GH.

Uma teoria relaciona a Alopecia X com a calvície androgenética de humanos. Homens jovens adultos podem desenvolver, de forma hereditária e dependente de produção e sensibilidade periférica a andrógenos, distintos padrões de alopecia do escalpo dependente da distribuição de receptores hormonais. Assim como a Alopecia X, a calvície humana não passa de um problema estético, e muitos donos, ao entenderem e aceitarem essa condição, não solicitam um tratamento para o problema. No entanto, algumas medidas terapêuticas podem ser tomadas, com sucesso terapêutico expressivo em algumas delas. Por exemplo, a castração pode resultar em novo crescimento piloso com cobertura pilosa total permanente ou temporária em até 75 % dos casos. A administração de GH na dose de 0,15 U pode ser feita por via subcutânea a cada 2-3 dias por até seis semanas, resultando em melhora clínica em alguns casos apenas. O uso de GH pode gerar diabetes e outras complicações, além de ser uma medicação controlada e de custo bastante elevado. O tratamento dos animais com mitotano ou trilostano, de forma semelhante ao descrito para o tratamento da síndrome de Cushing, pode ser útil, com relatos de sucesso decorrente da redução nos níveis de 17-hidroxiprogesterona e cortisol. No entanto, pacientes submetidos a esse tipo de terapia têm necessidade de monitoramento periódico pelo

risco de hipoadrenocorticismo, uma complicação potencialmente fatal e desnecessária ante um problema meramente estético.

A melatonina tem sido considerada uma das primeiras opções terapêuticas em cães com Alopecia X, uma vez que apresenta sucesso terapêutico em até 50 % dos casos, sem ocorrência de efeitos colaterais. A melatonina é um hormônio produzido pela glândula pineal durante a noite e apresenta um efeito anagênico nos folículos pilosos, além de afetar a secreção e o controle de vários hormônios sexuais. A dose é de 3 a 6 mg por animal de uma a duas vezes por dia, por até dois meses.

#### Alopecias secundárias à castração

Raramente se pode observar o surgimento de alopecia bilateral simétrica e discretas alterações como a hiperpigmentação em cães e cadelas castrados ainda quando jovens depois de determinado período de tempo, com início dos sintomas perto do começo da idade adulta. A distribuição da alopecia é bastante similar às descritas; trata-se unicamente de um problema estético, não havendo sinais de doenças sistêmicas. Além disso, pode haver clareamento da pelagem (discromia), e fêmeas tendem a apresentar vulva e mamilos infantis. O tratamento destas condições pode ser realizado através da reposição hormonal com estrógenos como o dietilbestrol ou andrógenos como a metiltestosterona. No entanto, a resposta clínica é variável e imprevisível, e estes esteroides sexuais apresentam uma série de efeitos colaterais como hepatotoxicidade no caso de andrógenos e mielossupressão no caso de estrógenos.

## REFERÊNCIAS

- BEHREND, E. N.; KEMPPAINEN, R. J. Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, v. 31, p. 985-1003, 2001.
- BERRIDGE, M. J. The molecular basis of communication within the cell. *Sci. Am.*, v. 253, p. 142-152., 1985.
- BERRIDGE, M. J.; IRVINE, R. F. Inositol phosphates and cell signalling. *Nature*, v. 341, p. 197-205, 1989.
- BRENT, G. A.; MOORE, D. D.; LARSEN, P. R. Thyroid hormone regulation of gene expression. *Annu. Rev. Physiol.*, v. 53, p. 17-36, 1991.
- BRUNSON, B. J. et al. Serum concentration of adiponectin and characterization of adiponectin protein complexes in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, v. 68, p. 57-62, 2007.
- CHMURZYNSKA, A.; ZAJAC, M.; SWITONSKI, M. Molecular evolution on the leptin exon 3 in some species of the family canidae. *Genetic Seletive Evolution*, v. 35, p. 573-580, 2003.
- CRAPO, L. *Hormones: the messengers of life*. New York: W. H. Freeman & Co, 1985.
- EINGENMANN, J. E. et al. Progesterone-controlled growth hormone overproduction and naturally occurring canine diabetes and acromegaly. *Acta Endocrinologica*, v. 104, p. 167-176, 1983.
- FAVIER, R. P. et al. Large body size in the dog is associated with transient GH excess at a young age. *Journal of Endocrinology*, v. 170, p. 479-484, 2001.
- FELDMAN, E. C. Hiperadrenocorticism. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- FELDMAN, S.R. Androgen insensitivity syndrome (testicular feminization): a model for understanding steroid hormone receptors. *Journal of American Academy os Dermatology*, v. 27, p. 615-619, 1992.
- GILMAN, A. H. G proteins and regulation of adenylyl cyclase. *JAMA*, v. 262, p. 1819-1825, 1989.
- ISHIOKA, K. et al. Diurnal variations of serum leptin in dogs: effects of fasting and re-feeding. *The Veterinary Journal*, v. 169, p. 85-90, 2005.
- ISHIOKA, K. et al. Plasma leptin concentration in dogs: effects of body condition score, age, gender and breeds. *Research in Veterinary Science*, v. 82, p. 11-15, 2007.
- ISHIOKA, K. et al. Canine adiponectin: cDNA structure, mRNA expression in adipose tissues and reduced plasma levels in obesity. *Research in Veterinary Science*, v. 80, p. 127-132, 2006.
- ISHIOKA, K. et al. Experimental and clinical studies on plasma leptin in obese dogs. *Journal of Veterinary Medicine and Science*, v. 64, p. 349-353, 2002.
- IWASE, M. et al. Canine leptin: cDNA cloning, expression and activity of recombinant protein. *Research in Veterinary Science*, v. 68, p. 109-114, 2000.
- JERICÓ, M. M. et al. Tumor ovariano de células de Sertoli-Leydig: relato de caso em cadela poodle com hiperadrenocorticismo. *Clínica Veterinária*, n. 28, p. 45-50, 2000.
- JEUSSETE, I. et al. Effect of ovariectomy and ad libitum feeding on body condition, thyroid status, ghrelin and leptin plasma concentrations in female dogs. *Journal of American Physiology and Animal Nutrition*, v. 90, p. 12-18, 2006.
- JEUSSETE, I. et al. Effects of chronic obesity and weight loss on plasma ghrelin and leptin concentration in dogs. *Research in Veterinary Science*, v. 79, p. 169-175, 2005.
- JEUSSETE, I. C. et al. Influence of obesity on plasma lipid and lipoprotein metabolism. *American Journal of Veterinary Research*, v. 66, p. 81-86, 2005.
- KENNELLY, P. J.; KREBS, E. G. Consensus sequences as substrate specificity determinants for protein kinases and protein phosphatases. *J. Biol. Chem.*, v. 266, p. 15555-15558, 1991.

- KOKTA, T. A. et al. Intercellular signalling between adipose tissue and muscle tissue. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 27, p. 303-331, 2004.
- KOOISTRA, H. S. et al. Secretion pattern of thyroid-stimulating hormone in dogs during euthyroidism and hypothyroidism. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 18, p. 19-29, 2000.
- KOOISTRA, H. S. et al. Pulsatile secretion pattern of growth hormone during the luteal phase and mild-anoestrus in beagle bitches. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 119, p. 217-222, 2000.
- KREBS, E. G. Role of the cyclic AMP-dependent protein kinase in signal transduction. *JAMA*, v. 262, p. 1815-1818, 1989.
- LAMMING, G. E.; WATHES, D. C.; PETERS, A. R. Endocrine patterns of the postpartum cow. *J. Reprod. Fertil*, v. 30 (suppl.). p. 155-170, 1981.
- LINDER, M. E.; GILMAN, A. G. G proteins. *Sci. Am.*, v. 267, p. 56-65, 1992.
- MCDONALD, L. E.; PINEDA, M. H. *Endocrinologia Veterinaria y Reproducción*. 4. ed. México: Interamericana /McGraw-Hill, 1991.
- NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Distúrbios da glândula adrenal. In: \_\_\_\_\_. (Ed.). *Medicina Interna de Pequenos Animais*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- NISHII, N. et al. Postprandial changes in leptin concentration of cerebrospinal fluid in dogs during development of obesity. *American Journal of Veterinary Research*, v. 67, p. 2006-2011, 2006.
- NISHII, N. et al. Effects of administration of glucocorticoids and feeding status on plasma leptin concentrations in dogs. *American Journal of Veterinary Research*. v. 67, p. 266-270, 2006.
- O'MALLEY, B. W. et al. Molecular mechanism of action of a steroid hormone receptor. *Recent Prog. Horm. Res.*, v. 47, p. 1-26, 1991.
- PANCIERA, D. L. Clinical manifestations of canine hypothyroidism. *Vet. Med.*, jan/1997, p. 44-49.
- PANCIERA, D. L. Thyroid function testing: is the future here?. *Vet. Med.*, jan/1997, p.50-57.
- PETERSON, M. E.; MALIÁN, C.; NICHOLS, R. Measurement of serum total thyroxin, triiodothyronine, free thyroxin, and thyrotropin concentrations for diagnosis of hypothyroidism in dogs. *JAVMA*, v. 211, p. 1396-1402, 1997.
- PETERSON, M. E. Medical treatment of canine pituitary-dependent hyperadrenocorticism (Cushing's disease). *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, v. 31, p. 1005-1014, 2001.
- PÖPPL, A. G. et al. Síndrome de androgenização secundária à seminoma em cão com insulinoma. *Revista da Universidade Rural – Séries Ciências da Vida*, v. 27 (supl), p. 533-535, 2007.
- RASMUSSEN, H. The cycling of calcium as an intracellular messenger. *Sci. Am.*, 261, p. 66-73. 1989.
- REUSCH, C. E. Hipoadrenocorticism. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- RIJNBERK, A. D.; MOL, J. A. Adrenocortical function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5 ed. San Diego: Academic Press, 1997.
- RIJNBERK, A.; KOOISTRA, H. S.; MOL, J. A. Endocrine diseases in dogs and cats: similarities and differences with endocrine diseases in humans. *Growth Hormone and IGF Research*, v. 13, p. 158-164, 2003.
- SAGAWA, M.M. et al. Correlation between plasma leptin concentration and body fat content in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, v. 63, p. 7-10, 2002.
- SALZO, P. S.; VIEIRA, J. F.; WILDMANN, A. Alopecia X. *Clínica Veterinária*, n. 69, p. 64-66, 2007.
- SELMAN, P. J. et al. Progestin treatment in the dog I. Effects on growth hormone, insulin-like growth factor and glucose homeostasis. *European Journal of Endocrinology*, v. 131, p. 413-421, 1994.
- SNYDER, S. H. The molecular basis of communication between cells. *Sci. Am.*, v. 253, p. 132-141, 1985.
- SNYDER, S. H.; BREDT, D. S. Biological roles of nitric oxide. *Sci. Am.*, v. 266, p. 68-77, 1992.

STOCKHAM, S. L.; KEETON, K. S.; SZLADOVITS, B. Clinical assessment of leukocytosis: distinguishing leukocytoses caused by inflammatory, glucocorticoid, physiologic, and leukemic disorders or conditions. *Vet. Clin. Small Anim.*, v. 33, p. 1335–1357, 2003.

SUTHERLAND, E. W. Studies on the mechanisms of hormone action. *Sci.*, v. 177, p. 401-408, 1972.

TORRES, S. M.; MACKEEVER, P. J.; JOHNSTON, S. D. Case report - Hypothyroidism in a dog associated with trimethoprim-sulphadiazine therapy. *Vet. Dermatol.*, v. 7, p. 105-108, 1996.

WILSON, J. D.; FOSTER, D. W. (Ed.) *Williams' Textbook of Endocrinology*. 8 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co. 1992.

YLMAZ, Z.; ILCOL, Y.O.; ULUS, I.H. Endotoxin increases plasma leptin and ghrelin levels in dogs. *Critical Care Medicine*, v. 36, p. 828-833, 2008.

### INTRODUÇÃO

A determinação e a interpretação de compostos químicos no sangue são algumas das principais aplicações práticas da Bioquímica Clínica. Os perfis bioquímicos do plasma podem ser utilizados em veterinária, não somente para avaliação clínica individual, mas também para avaliar e monitorar a condição nutricional e metabólica em grupos de animais. Quando interpretado adequadamente, o perfil bioquímico do plasma fornece importante informação com relação ao estado clínico, metabólico e produtivo de um animal. Entretanto, deve-se ressaltar que os perfis laboratoriais são considerados uma ajuda no diagnóstico e que o veterinário deve fazer uso de toda a informação disponível, como o exame físico e a história clínica, antes de chegar a qualquer diagnóstico final.

O perfil bioquímico serve também como indicador dos processos adaptativos do organismo, no metabolismo energético, proteico e mineral, além de oferecer subsídios na interpretação do funcionamento hepático, renal, pancreático, ósseo e muscular. Alguns metabólitos podem funcionar como indicadores do potencial produtivo e reprodutivo dos animais, sendo que alguns desses indicadores podem estar geneticamente controlados, o que motiva o aprofundamento no estudo desses aspectos na área de melhoramento animal.

O número de metabólitos a serem analisados no perfil sanguíneo pode ser ilimitado, mas só se justifica estudar aqueles em que se

conhecem a sua fisiologia e metabolismo, de forma a poder fazer uma interpretação útil.

No metabolismo energético, são considerados os níveis sanguíneos de glicose, colesterol e ácidos graxos livres. Em ruminantes, também são estudados os níveis de  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB). No metabolismo proteico, são determinados os níveis de proteínas totais, albumina, globulinas e, em ruminantes, a ureia. No metabolismo mineral (Tabela 1), são pesquisados, entre outros, os níveis de cálcio, fósforo, magnésio, potássio, ferro, cobre, zinco e cobalto, bem como indicadores para selênio (glutathion peroxidase) e para iodo (tiroxina).

O perfil metabólico pode incluir a determinação do quadro hemático, para avaliar anemias, estados de desidratação e quadros infecciosos, bem como enzimas e outros metabólitos que permitam avaliar o funcionamento de diferentes sistemas.

### VALORES DE REFERÊNCIA DO PERFIL BIOQUÍMICO SANGUÍNEO

A interpretação do perfil bioquímico é complexa, tanto aplicada a rebanhos quanto a indivíduos, devido aos mecanismos que controlam o nível sanguíneo de vários metabólitos e, também, à grande variação desses níveis em função de fatores, como raça, idade, estresse, dieta, nível de produção leiteira, manejo, clima e estado fisiológico (lactação, gestação, estado reprodutivo). Para a



TABELA 1 – VALORES DE REFERÊNCIA DE ALGUNS MINERAIS NO PLASMA SANGUÍNEO

Metabólito	Unidade	Caninos	Felinos	Bovinos	Equinos
Cálcio	mg/dL	9-11,3	6,2-10,2	8-12,4	11,2-13,6
Cobre	μmol/L	15,7-31,5	10,7-16,3	5,16-5,54	22,8-28,3
Ferro	μmol/L	5,4-32,2	12,2-38,5	10,2-29,0	13,1-25,1
Fósforo	mg/dL	2,6-6,2	4,5-8,1	3,4-7,1	3,1-5,6
Magnésio	mg/dL	1,8-2,4	2,2	1,7-3,0	2,2-2,8
Potássio	mmol/L	4,4-5,3	4,0-4,5	3,9-5,8	2,4-4,7
Sódio	mmol/L	141-152	147-156	132-152	132-146

correta interpretação dos perfis metabólicos, é indispensável contar, também, com valores de referência apropriados para a região e a população em particular ou, então, utilizar valores referenciais de zonas climáticas e grupos animais similares.

Na Tabela 2, são apresentados os valores de referência de alguns metabólitos sanguíneos em algumas espécies animais. Considera-se, em geral, que existe variação significativa no valor analisado quando está fora do intervalo compreendido entre a média  $\pm 2$  vezes o desvio-padrão dos valores de referência. Contudo, o verdadeiro significado de um valor alterado deve ser analisado juntamente com fatores, como a história clínica, o exame clínico, o manejo, a alimentação e a produção.

#### COLETA E MANEJO DE AMOSTRAS SANGUÍNEAS

A confiabilidade no uso do laboratório como apoio diagnóstico depende, em grande medida, de que o material utilizado na análise tenha sido coletado e conservado adequadamente. Adicionalmente, para o aproveitamento ótimo das análises de patologia clínica, deve existir uma relação estreita entre o

médico veterinário e o laboratório de diagnóstico. O envio de amostras inadequadas implica perda de tempo, de recursos e, em determinadas ocasiões, ocasiona complicações na saúde do animal devido a uma interpretação incompleta ou incorreta de resultados. Frequentemente é argumentado que, na prática clínica, é complicado recorrer ao uso dos laboratórios para apoiar o diagnóstico, uma vez que, geralmente, estão localizados a grandes distâncias, mas, quando se domina um adequado manejo de amostras, esta limitante não é significativa.

Cada vez que amostras são enviadas a qualquer laboratório de diagnóstico, é muito importante fazer uma adequada identificação de tais amostras, utilizando material que resista ao manejo, isto é, tintas permanentes resistentes à água, fitas com cola ou etiquetas com adesivo apropriado. É necessário acompanhar as amostras com um protocolo que inclua:

- (a) Identificação de proprietário, médico veterinário ou pessoa responsável, telefone e endereço.
- (b) Dados de identificação dos animais amostrados.

TABELA 2 – VALORES DE REFERÊNCIA DE ALGUNS METABÓLITOS SANGUÍNEOS

Metabólito	Unidade	Caninos	Felinos	Bovinos	Equinos	Ovinos
Ácidos graxos livres	mmol/L	0,1-1,2	0,13-1,32	8,8-20,6	2,9-11,8	2,9-14,7
Albumina	g/L	26-33	21-33	27-38	26-37	24-30
Beta-OH-butirato	mg/dL	0,24-0,36	0-2	< 10	0-10	6-10
Bilirrubina direta	mg/dL	0,06-0,12	0-0,1	0,04-0,44	0-0,4	0-0,27
Bilirrubina total	mg/dL	0,1-0,5	0,15-0,5	0,01-0,5	1-2	0,1-0,5
Colesterol	mg/dL	135-270	95-130	80-120	75-150	52-76
Creatinina	mg/dL	0,5-1,5	0,8-1,8	1,0-2,0	1,2-1,9	1,2-1,9
Glicose	mg/dL	65-118	70-100	45-75	75-115	50-80
Globulinas	g/L	27-44	26-51	30-52	26-40	35-57
Hemoglobina	g/dL	12-18	8-14	9-15	11-19	9-14
Lactato	mg/dL	2-13	5,4-22,5	5-20	10-16	9-12
Proteínas totais	g/L	54-71	54-78	66-75	52-79	60-79
Triglicerídeos	mg/dL	38,1	35,4	0-14	4-44	15-57
Ureia	mg/dL	10-28	20-30	17-45	10-24	8-20

(c) Anamnese completa do paciente e/ou do rebanho, sem omitir dados relevantes da história clínica, nutrição, reprodução, produção e manejo.

(d) Indicar se existe suspeita de doenças infecciosas, especialmente se elas são zoonóticas.

Devido às mudanças físico-químicas que ocorrem na amostra com o tempo, deve ser mencionada a hora da coleta da amostra, bem como o tipo de conservante utilizado.

### Coleta de amostras

Existem diferentes métodos para obter uma amostra de sangue:

(a) Agulha direta: método útil e rápido para obter grandes volumes; sua contra-indicação

mais importante é que causa contaminação da amostra e, especialmente, do meio ambiente.

(b) Seringa: não deve ser feito vácuo violento; caso sejam usadas seringas com anticoagulante, recomenda-se que esteja na forma líquida; quando o sangue vai ser transferido a outro recipiente, deve ser retirada a agulha da seringa para evitar hemólise na amostra.

(c) Sistema de tubos com vácuo (*vacutainer*): é importante que, se utilizado algum tipo de anticoagulante, o tubo deve ser enchido até terminar o vácuo para manter as proporções sangue/anticoagulante.

(d) Sistema de vácuo com tubos de plástico: sua utilização está mais orientada para determinações sorológicas, tais como detecção de anticorpos para diferentes patologias.

O principal fator de alteração de resultados é a hemólise, a qual tem como causas mais comuns as seguintes:

- provocar vácuo violento na coleta da amostra com agulha de calibre muito fino;
- causar impacto do jato de sangue no fundo do recipiente;
- utilizar material úmido como água ou álcool;
- usar material sujo ou contaminado;
- usar material de má qualidade, com bordas ou paredes rugosas;
- agitar a amostra ao incorporá-la com o anticoagulante;
- provocar choques térmicos tanto quentes quanto frios;
- permitir temperaturas extremas;
- manipular bruscamente as amostras para obter o soro antes que o coágulo tenha sido formado.

### **Anticoagulantes**

As amostras para hematologia requerem sangue completo com no máximo 6 horas de armazenamento à temperatura ambiente ou 24 horas na geladeira. Nunca devem ser congeladas.

As amostras para bioquímica podem ser realizadas no soro (coleta de sangue sem anticoagulante) ou no plasma (coleta com anticoagulante). O soro ou o plasma podem ser refrigerados até por 3 dias ou congelados por vários meses até a sua análise, sem que haja prejuízo no resultado dos testes bioquímicos.

Em bioquímica sanguínea prefere-se trabalhar com sangue heparinizado a trabalhar com sangue coagulado, pois facilita a manipulação e conservação, além de diminuir o risco de hemólise. Em caso de coletar

sangue sem anticoagulante, deve ocorrer a formação do coágulo (de 60 a 180 minutos) antes da completa obtenção do soro.

A única diferença analítica entre soro e plasma é que o primeiro não contém fibrinogênio, o qual é gasto na formação do coágulo (fibrina). Do ponto de vista de dosagem de proteínas totais, o valor de fibrinogênio é em torno de 7 %, o que pode ser desconsiderado. No entanto, o fibrinogênio é considerado uma proteína de fase aguda e pode ter importância analítica e clínica em alguns casos.

Alguns dos mais importantes anticoagulantes são descritos a seguir:

1. EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético): é o anticoagulante mais usado para hematologia porque não deforma as células brancas. Atua como agente quelante do cálcio impedindo que ocorra o processo de coagulação. Usam-se sais de sódio e de potássio, em soluções aquosas a 10 % (2-3 gotas para 5-10 mL de sangue).

2. Heparina: é um anticoagulante natural, sendo o mais recomendado para análises bioquímicas, pois não interfere com os reagentes usados na maioria dos testes. Seu efeito é por interferir na conversão de protrombina em trombina. Pode ser usado para contagem eritrocítica, mas não é recomendado para análises leucocitárias, pois pode causar agregação dos leucócitos, alterando a sua morfologia e dificultando a contagem.

3. Citrato de sódio: pouco recomendado para hematologia, pois causa a deformação morfológica das células sanguíneas e interfere com vários testes bioquímicos. É indicado para testes de avaliação da coagulação. Atua por reação com o cálcio, formando um complexo que neutraliza o processo de coagulação.

4. Fluoreto de sódio: recomendado para dosagem de glicose e lactato quando a amostra fica mais de duas horas sem separar o plas-

ma, pois tem poder antagonista com o processo da glicólise, mantendo os níveis *in vitro* destes metabólitos por mais tempo.

5. Oxalatos de cálcio, de potássio ou de amônia: interferem com o hematócrito e alteram a distribuição eletrolítica, razão pela qual não se recomendam para testes de minerais. Atuam por interferência com o cálcio.

### Determinações de bioquímica clínica

Para este fim, é utilizado soro ou plasma. O soro é obtido a partir de uma amostra de sangue extraída sem anticoagulante, esperando o tempo necessário para a formação de coágulo. O tempo que dura a sua formação é muito variável, entre 30 a 180 minutos. Por essa razão, é mais prático enviar ao laboratório amostras de plasma utilizando heparina de sódio como anticoagulante (tubos de tampa verde). Os anticoagulantes EDTA, oxalato e citrato não devem ser utilizados para determinações bioquímicas. Em recipientes de plástico, o tempo de formação do coágulo é aproximadamente o dobro daquele do vidro.

Assim que se forma o coágulo, este deve ser separado das paredes do tubo ou seringa onde foi obtida a amostra, utilizando-se de um palito longo de madeira ou de uma pipeta Pasteur. Posteriormente, deve ser centrifugado a 1.500 g (2.500 a 3.500 rpm) durante 10 minutos e transferir o soro para outro recipiente livre do coágulo. A amostra não deve ser centrifugada e nem colocada em refrigeração antes que o coágulo esteja bem formado, pois se prolonga o tempo de coagulação e existe predisposição à hemólise.

É necessário separar o soro do coágulo ou o plasma das células sanguíneas dentro de um período máximo de 2 horas depois de tirada a amostra. Se o tempo for maior, as frações dos parâmetros a serem medidos

variam devido à troca de elementos entre as fases celular e líquida do sangue.

Assim que estiver separado o soro ou o plasma, é conveniente analisar de imediato (especialmente no caso da glicose). Se não for possível, é conveniente conservar a amostra sob refrigeração (0-4 °C). Quando a obtenção dos resultados não for urgente, é possível enviar as amostras congeladas (-8 a -20 °C), uma vez que a grande maioria dos parâmetros é estável pelo menos por uma semana nessas temperaturas. Contudo, é recomendável consultar um bioquímico clínico antes de proceder, pois existem algumas determinações instáveis.

A melhor forma de obter o plasma é coletando as amostras de sangue com heparina como anticoagulante, na proporção de 3 gotas de heparina 1 % (0,2 mg ou 200 UI) para cada 10 mL de sangue. É importante mesclar várias vezes de forma suave para incorporar totalmente o anticoagulante com o sangue para que este se conserve em bom estado. A amostra heparinizada deve centrifugar-se a 1.500 g durante 10 minutos, e depois deve ser transferido somente o plasma (livre de células) para um outro tubo, com uma pipeta Pasteur ou com uma seringa. Após, tampar e enviar para o laboratório clínico. Para as análises de bioquímica clínica completa (8-10 metabólitos) é suficiente extrair 3 a 5 mL de plasma, volume que se obtém a partir de 7 a 10 mL de sangue aproximadamente. Nos laboratórios que utilizam microtécnicas, é suficiente 1,5 mL de plasma.

Quando se trata de dosar microelementos, particularmente Zn, é recomendado usar soro e colocar parafilm em vez da rolha de borracha para fechar o tubo, devido à interferência do material das rolhas no resultado.

A amostra de plasma ou soro deve estar protegida da luz quando se trata de dosar pigmentos biliares (bilirrubina). Se existe o

interesse de medir os valores do perfil lipídico (ácidos graxos não-esterificados, colesterol,  $\beta$ -hidroxibutirato, triglicerídeos, lipídeos totais), sua determinação deve ser feita no soro, e não no plasma.

Para a determinação de glicose, é possível refrigerar imediatamente a amostra de sangue completa com heparina, e ser analisada nas 3 horas seguintes à coleta. Se o tempo da análise for mais prolongado, a amostra deve ser coletada com fluoreto de sódio, o qual atua como anticoagulante e simultaneamente inibe as enzimas da glicólise, evitando a degradação da glicose na amostra. Quando uma amostra está hemolisada, os valores se podem observar alterados, geralmente aumentados.

#### Mecanismo de ação da heparina

A heparina foi descoberta, acidentalmente, em 1916, por Jay McLean, na época um estudante de medicina. Ele investigava com extratos de fígado e constatou que esse tecido era capaz de retardar a coagulação do plasma. Como foi encontrada no fígado, foi batizada de heparina.

O efeito anticoagulante da heparina está relacionado com sua forte carga eletronegativa. São descritos 3 efeitos da heparina sobre o processo de coagulação. Primeiro, interfere na conversão de protrombina a trombina. Segundo, tem efeito oposto à ação da trombina sobre o fibrinogênio, impedindo a formação de um cofator desta proteína na fração albumina do plasma. E terceiro, reduz a capacidade de aglutinação das plaquetas.

O efeito anticoagulante é muito rápido, cerca de 1 minuto, desaparecendo em 3 a 4 horas. A heparina geralmente é utilizada no início, em tratamentos anticoagulantes *in vivo* (trombose, embolia pulmonar, fibrilação atrial). Além desta utilização, é o anticoagulante de escolha para análises bio-

químicas no sangue. Não deve ser utilizado como anticoagulante para determinações de hematologia, pois altera a morfologia dos leucócitos.

#### Determinações de hematologia

Para o hemograma, não importa o vaso sanguíneo selecionado para realizar a obtenção da amostra, uma vez que não existem diferenças significativas nas concentrações dos componentes sanguíneos que são medidos no hemograma. O anticoagulante para este estudo é o EDTA, pois é o que preserva melhor as células sanguíneas, além de não interferir com os corantes hematológicos. O EDTA deve utilizar-se na proporção de 10-20 mg ou 2 gotas de uma solução a 10 % para cada 10 mL de sangue, lembrando que um excesso pode alterar os resultados. Se for utilizado o sistema *vacutainer*, é importante encher o tubo na capacidade que marca o fabricante, pois o anticoagulante está dosado para o volume máximo de cada tubo. Em nenhum caso, pode ser dispensada uma mistura perfeita do sangue com o anticoagulante.

Assim que a amostra é coletada, pode ser conservada durante 4 horas a temperatura ambiente (15-25 °C). Também é possível refrigerar a amostra para ser processada dentro das 24 horas posteriores à coleta, porém esperando, pelo menos, 15 minutos depois de feita a coleta em temperatura ambiente antes de ser refrigerada, para evitar que ocorra hemólise. Depois de 24 h de coletada, começam a ocorrer mudanças significativas na amostra.

Para a análise do hemograma, são suficientes 3 mL de sangue. Em se tratando de realizar somente a técnica do hematócrito ou a medição de proteínas e fibrinogênio, e se o processamento se realiza durante a primeira hora após a coleta, pode ser usada heparina como anticoagulante.

Quando existe interesse de observar hemoparasitas, recomenda-se preparar o esfregaço em uma lâmina, imediatamente depois de retirada a amostra. Se não for isso possível, é necessário preparar o esfregaço nas seguintes 6 horas após a obtenção da amostra como máximo, a fim de não ter resultados falsos-negativos, pois nessa condição os parasitas não serão observados nas células. A amostra ideal, nesses casos, é obtida de vasos periféricos, já que, em ocasiões, isso ajuda na diferenciação de espécies.

### Determinação do estado acidobásico

Este tipo de análise requer um manejo muito preciso das amostras. Os passos para fazer uma adequada coleta são descritos a seguir:

- (a) Carregar uma seringa limpa de 1-3 mL de capacidade com uma solução de heparina a 1 % (1000 UI/mL), permitindo que as paredes fiquem umedecidas.
- (b) Voltar a heparina, de forma suave, a seu recipiente; a quantidade de heparina aderida às paredes da seringa é suficiente para a conservação da amostra.
- (c) Trocar a agulha usada nos passos anteriores por uma limpa e seca.
- (d) Fazer pressão sobre a veia no máximo por 30 segundos, para não alterar os resultados.
- (e) Obter o sangue sem fazer vácuo violento e evitando a formação de bolhas e/ou espuma na amostra; é suficiente 1 mL de sangue.
- (f) Rapidamente proceder à eliminação das bolhas na seringa e observar que sai uma gota de sangue na ponta da agulha.
- (g) Tampar a ponta da agulha com massa (não é suficiente dobrar a agulha).
- (h) Depositar imediatamente a seringa em um recipiente de água com gelo (0-4 °C), para bloquear o processo da glicólise.

- (i) Enviar ao laboratório.

A determinação deve ser feita nas primeiras 3 horas posteriores à coleta da amostra. Em ocasiões, é possível analisar o sangue de bovinos durante as 24 horas seguintes, usando tabelas de correção, para o que é importante indicar a hora de coleta da amostra.

Quando o médico veterinário tiver dúvidas sobre o envio de amostras ao laboratório, deve entrar em contato direto com o patologista clínico responsável, o que permitirá a ambos terem um melhor intercâmbio de informações e, dessa forma, o clínico fará um uso mais eficiente do laboratório clínico como ferramenta de ajuda nos seus diagnósticos.

### PRINCIPAIS METABÓLITOS SANGUÍNEOS E SUA INTERPRETAÇÃO

#### Ácidos graxos livres

Os ácidos graxos livres (AGL) no sangue podem ser de origem exógena, provenientes da digestão e absorção de gorduras, ou endógena, provenientes da lipólise dos triglicérides armazenados no tecido adiposo. Em vacas, os níveis sanguíneos normais de AGL são de  $226 \pm 20,4 \mu\text{mol/L}$ .

O nível de AGL plasmático é indicador da mobilização dos depósitos graxos e, portanto, do déficit energético. Em bezerras recém-desmamadas, os níveis de AGL sobem abruptamente. A falta de alimento causa elevações de AGL em menos de 48 horas, sendo melhores indicadores do status energético do que a glicose ou os corpos cetônicos. O empecilho para sua utilização como indicadores rápidos do equilíbrio energético é o alto custo da análise.

Os níveis de AGL aumentam na lactação, especialmente durante as primeiras

semanas, e diminuem durante o período seco. Níveis sanguíneos de AGL superiores a 600  $\mu\text{mol/L}$ , em vacas leiteiras lactantes, são considerados como resultado do estresse metabólico da lactação.

Existe uma correlação positiva entre os níveis de sanguíneos de AGL e de corpos cetônicos. A oxidação excessiva de ácidos graxos, junto com a deficiência aguda de energia na dieta, provoca, em alguns casos, a cetose. A maioria das vacas de alta produção leiteira tem algum grau de cetose subclínica no início da lactação, em função do balanço energético negativo nesse período crítico. A capacidade metabólica para contornar o problema e evitar a manifestação de sintomas varia entre indivíduos. Ovelhas no final da gestação também podem sofrer grande mobilização de ácidos graxos e eventual cetose, especialmente em gestação gemelar. Concentrações baixas de AGL não são frequentes, exceto na desnutrição severa.

### Ácido úrico

O ácido úrico é produto do metabolismo das purinas nos primatas e no cão da raça Dálmata, representando o fim do metabolismo de compostos nitrogenados do organismo. Na maioria dos mamíferos, este metabolismo ocorre convertendo o ácido úrico em alantoína. A maioria do ácido úrico sintetizado provém da dieta e, em larga extensão, da quebra de ácidos nucleicos endógenos.

Valores de ácido úrico acima dos normais podem ser observados em neoplasias de células sanguíneas, em doença hepática por incompleta conversão do ácido úrico a alantoína, na insuficiência renal, em endocrinopatias, em aumentos da reciclagem de ácidos nucleicos, na ingestão de substâncias tóxicas ou drogas (salicilatos, tiazida), no hipotireoidismo e finalmente em falhas ge-

néticas das enzimas necessárias para o metabolismo do ácido úrico. Nas aves, o ácido úrico é um bom indicador da função renal.

### Ácidos biliares

Os ácidos biliares (taurocólico e glicocólico) são sintetizados pelo fígado a partir de colesterol e mediante conjugação (ácido cólico com taurina e glicina), sendo excretados junto com a bile na forma de sais de sódio. Durante a digestão, eles atuam como agentes emulsificantes favorecendo a absorção da gordura. Por efeito das bactérias intestinais, os ácidos biliares são desconjugados, ficando livres para serem reabsorvidos pelo intestino, direcionando-se via circulação portal para o fígado para serem reciclados. Uma pequena parte desses ácidos alcança a circulação periférica, sendo eles os que são medidos. Normalmente, ocorre um leve aumento dos ácidos biliares após uma refeição.

A medição de ácidos biliares no soro pode servir como teste sensível de avaliação de disfunção hepática, pois o fígado com disfunção não consegue captar os ácidos reabsorvidos, e a sua concentração aumenta no plasma. Uma obstrução hepática ou biliar também é causa de aumento dos ácidos biliares. Um baixo valor de ácidos biliares pode indicar uma obstrução intestinal.

Considera-se disfunção hepática quando a concentração de ácidos biliares em jejum ou pós-prandial é  $> 25 \mu\text{mol/L}$  (cão) e  $> 20 \mu\text{mol/L}$  (gato). Uma leve diminuição na concentração de ácidos biliares pode não ser conclusiva para dizer se ocorreu uma melhora na função hepática. A principal limitante de sua utilização é o alto custo.

### Albumina

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, perfazendo cerca de 50 % do total

de proteínas. Tem um peso molecular aproximado de 66 kD. É sintetizada no fígado e contribui em 80 % da osmolaridade do plasma sanguíneo, constituindo também uma importante reserva proteica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina. A albumina também tem função importante na regulação do pH sanguíneo, atuando como ânion.

A concentração de albumina é afetada pelo funcionamento hepático, pela disponibilidade de proteínas na dieta, pelo equilíbrio hidroeletrolítico e por perdas da proteína em algumas doenças.

A única causa de aumento da albumina plasmática (hiperalbuminemia) é a desidratação.

A concentração da albumina plasmática pode diminuir (hipoalbuminemia) em várias situações:

(a) Síntese de albumina diminuída, devido a dano hepático crônico ou déficit alimentar de fontes proteicas. O nível de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na dieta, muito embora as mudanças ocorram lentamente. Para a detecção de mudanças significativas na concentração de albumina sérica, é necessário um período de pelo menos um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação. Níveis de albumina diminuídos, juntamente com diminuição de ureia, indicam deficiência proteica. Níveis de albumina diminuídos com níveis de ureia normais ou elevados acompanhados de níveis de enzimas altos são indicadores de falha/lesão hepática. No processo de fígado gorduroso, como consequência de excessiva mobilização de lipídeos, evento comum no início da lactação devido ao desequilíbrio energético, pode ocorrer hipoalbuminemia em vacas leiteiras.

(b) Perda de albumina em parasitismos, causada pela saída de proteínas pelo intestino ou

em doença renal (síndrome nefrótica, glomerulonefrite crônica, diabetes).

(c) Em casos de síndrome de má absorção.

(d) Catabolismo aumentado da albumina como consequência de déficit energético, o que estimula a mobilização de reservas de aminoácidos para entrar na via da gliconeogênese.

(e) Vazamento do sistema vascular (hemorragias).

A hipoalbuminemia pode afetar o metabolismo de outras substâncias devido ao papel da albumina como transportador, além de causar queda da pressão osmótica do plasma e levar à ascite, geralmente quando a concentração de albumina cai para menos de 20 g/L.

Mudanças fisiológicas do teor de albumina podem ser observadas em vacas quando cai após o parto para menos de 30 g/L. Normalmente, o teor aumenta progressivamente durante o pós-parto a uma taxa entre 37 e 69 mg/L por dia, exceto em vacas com dietas pobres em proteína, nas quais a concentração pode continuar baixa por até 4-6 meses pós-parto, afetando negativamente a fertilidade.

A concentração sanguínea de albumina tem sido relacionada positivamente com a produção de leite, observando-se que vacas hipoalbuminêmicas não produzem todo seu potencial. Uma correlação negativa entre nível de albumina e a idade pode ser consequência da correlação positiva entre nível de globulinas e a idade.

## **Amônia**

A amônia é produzida por praticamente todas as células do organismo, mas principalmente pelas bactérias do trato gastrointestinal, como resultado da degradação de compostos nitrogenados. A amônia é uma substância tóxica que afeta principalmente o sistema nervoso central.



A amônia que se encontra no plasma é proveniente principalmente da absorção no intestino, sobretudo no cólon, e, em animais ruminantes, a principal fonte é o rúmen. Uma pequena parte deriva do metabolismo periférico, em especial do músculo esquelético.

A amônia intestinal é derivada da degradação bacteriana dos aminoácidos da dieta no intestino, e da ureia endógena que se excreta no intestino e no rúmen. Também pode ser produzida pelo fígado a partir do catabolismo dos aminoácidos teciduais e da dieta, mas, neste caso, imediatamente entra no ciclo da ureia para ser convertida em ureia.

Normalmente, a amônia transportada do trato gastrointestinal é convertida em ureia quando alcança o fígado e, portanto, seu nível no sangue tende a ser baixo. Entretanto, altos níveis de amônia podem ser encontrados quando há uma inadequada função hepática ou quando o sangue portal é desviado sem passar antes pelo fígado (desvio ou *shunt* portosistêmico). Níveis altos de amônia circulante, especialmente em situação pós-prandial, podem afetar o encéfalo, podendo provocar apatia ou uma série de sinais neurológicos (confusão, convulsão, andar em círculo). Esta condição é conhecida como encefalopatia hepática.

Os níveis de amônia também podem estar aumentados na ocorrência de uma infecção, de uma dieta com altos teores de proteína, em desequilíbrio acidobásico (insuficiência renal principalmente) e em obstrução do trato gastrointestinal.

## **Bilirrubina**

A maior parte da bilirrubina no plasma deriva da degradação dos eritrócitos velhos pelo sistema retículoendotelial, especialmente no baço. A bilirrubina restante provém da degradação da mioglobina, dos citocromos e de eritrócitos imaturos na me-

dula óssea. A hemoglobina liberada dos eritrócitos se divide em porção globina e grupo heme. Após a extração da molécula de ferro, que fica armazenada ou é reutilizada, o grupo heme é convertido em bilirrubina. A bilirrubina assim formada é chamada de bilirrubina não-conjugada, que é transportada até o fígado ligada à albumina plasmática. Essa forma também é conhecida como bilirrubina livre ou indireta. Essa bilirrubina não é solúvel em água. Sendo lipossolúvel, não é filtrada pelos glomérulos renais, e não é excretada pela urina.

A bilirrubina livre pode não estar ligada à albumina em três situações distintas: (a) quando os níveis de albumina são extremamente baixos; (b) quando existe uma alta concorrência pelos lugares de união da albumina, por exemplo, com tiroxina, salicilatos, sulfonamidas, digoxina, cortisol e diazepam; ou (c) quando o nível de bilirrubina livre é extremamente alto (> 20 mg/dL).

No fígado, a bilirrubina é desligada da albumina e conjugada com o ácido glicirônico para formar bilirrubina conjugada. Esta é solúvel em água e secretada ativamente pelos canalículos biliares menores e posteriormente excretada pela bile. No plasma, observam-se pequenas quantidades de bilirrubina conjugada, sendo que a maior parte da bilirrubina plasmática é livre.

A bilirrubina conjugada não pode ser reabsorvida no intestino, mas as enzimas bacterianas presentes no íleo e cólon convertem a bilirrubina em urobilinogênio fecal (estercobilinogênio), que é reabsorvido em torno de 10 a 15 % pela circulação portal até o fígado. A maioria deste urobilinogênio é reexcretada pela bile, e uma parte pode ser excretada pela urina. O urobilinogênio não-reabsorvido no intestino é oxidado à estercobilina, pigmento responsável pela cor marrom das fezes.

O aumento dos níveis plasmáticos de bilirrubina pode ser devido ao aumento da bilirrubina livre na hemólise aguda grave, em absorção de um grande hematoma, em hemorragia interna massiva ou na transfusão de eritrócitos armazenados inadequadamente. Aumento da bilirrubina conjugada ocorre na perda da funcionalidade hepatocelular devido à doença infecciosa, dano tóxico ou obstrução do trato biliar. Aumento de ambas bilirrubinas ocorre na perda da funcionalidade hepatocelular, obstrução do fluxo biliar ou após uma hemólise intravascular aguda severa.

Diminuição dos níveis plasmáticos de bilirrubina são observados em doenças crônicas, principalmente as que cursam com diminuição da formação dos eritrócitos, causando anemia. Nesse caso, devido ao número reduzido de eritrócitos, o sistema retículoendotelial reduz a fagocitose dos eritrócitos, o que diminui os níveis de bilirrubina no plasma. Portanto, a hipobilirrubinemia se deve a anemias hipoproliferativas atribuídas a uma infecção ou inflamação crônica, neoplasia maligna ou na última fase da enfermidade renal.

## **Cálcio**

No plasma, o cálcio (Ca) existe em duas formas, livre ionizada (cerca de 45 %) ou associado a moléculas orgânicas, tais como proteínas, principalmente albumina (cerca de 45 %) ou a ácidos orgânicos (cerca de 10 %). O cálcio total, forma como é medido geralmente no sangue, contém a forma ionizada que é biologicamente ativa, e a forma não-ionizada. Estas duas formas estão em equilíbrio e sua distribuição final depende do pH, da concentração de albumina e da relação ácido-base. Quando existe acidose, há uma tendência para aumentar a forma ionizada de Ca. Uma queda no ní-

vel de albumina causa diminuição do valor de cálcio sanguíneo.

O nível de cálcio no plasma sanguíneo da maioria das espécies animais, excetuando as galinhas poedeiras, é bastante constante, entre 8 a 12 mg/dL.

O sistema endócrino envolvendo a vitamina D<sub>3</sub>, o paratormônio (PTH) e a calcitonina, responsáveis pela manutenção dos níveis sanguíneos de cálcio, atua de forma bastante eficiente para ajustar-se à quantidade de cálcio disponível no alimento e às perdas que acontecem, principalmente na gestação e na lactação. O firme controle endócrino do Ca faz com que seus níveis variem muito pouco (17 %) comparado com o fósforo (variação de 40 %) e o magnésio (variação de 57 %). Portanto, o nível sanguíneo de cálcio não é um bom indicador do estado nutricional, enquanto os níveis de fósforo e magnésio refletem diretamente o estado nutricional com relação a esses minerais.

A hipocalcemia é frequente nas vacas leiteiras de alta produção, podendo causar febre do leite ou paresia do parto. A quantidade total de cálcio em uma vaca adulta está em torno de 6.000 g, 90 % dos quais armazenados nos ossos. Cerca de 1 % (60 g) está no sangue e nos tecidos moles, sendo que na corrente circulatória há cerca de 8 g. Uma vaca que produza 30 kg de leite, com conteúdo de 0,12 % de Ca, perde diariamente cerca de 36 g de cálcio, isto é, mais de 4 vezes a quantidade de cálcio sanguíneo. Estima-se que durante o período de uma lactação, cerca de 18 % do mineral do esqueleto é perdido. Portanto, a taxa de reposição deve ser rápida o suficiente para cobrir a demanda e evitar a hipocalcemia. Qualquer interferência com a absorção intestinal e a mobilização óssea do Ca pode ser fatal.

A absorção de cálcio no intestino diminui com a idade. Animais mais velhos so-

frem redução na capacidade de mobilizar reservas de Ca quando ocorrem desequilíbrios, sendo, portanto, mais suscetíveis de sofrer hipocalcemia.

A absorção de cálcio no intestino também é afetada por outros fatores, tais como: (a) a relação Ca:P nos alimentos (a relação ótima é de 2:1); (b) a quantidade de proteína na dieta, uma vez que a deficiência de proteína causa diminuição da absorção de cálcio; (c) ingestão excessiva de magnésio, que interfere com a absorção de cálcio, por competição nas células intestinais; (d) dietas deficientes em magnésio, que reduzem a disponibilidade de cálcio; (e) suplementação excessiva de vitamina D<sub>3</sub>, que aumenta a absorção de cálcio e pode causar calcificação dos tecidos moles.

A hipercalcemia é rara. Pode ocorrer por intoxicação com vitamina D, neoplasias, hiperparatireoidismo primário e dietas ricas em Ca. Em touros, o excesso de cálcio pode causar osteopetrose (excessiva calcificação dos ossos).

## Cloro

O Cl<sup>-</sup> é um dos 4 íons, juntamente com K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> e HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, que são medidos no plasma para determinar o *anion gap* na avaliação do equilíbrio acidobásico. Sendo um íon principalmente extracelular, a sua concentração pode mudar em resposta às variações de outros eletrólitos para manter o equilíbrio elétrico dos fluidos corporais. Em geral, a sua concentração está inversamente relacionada com a de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e diretamente relacionada com a de Na<sup>+</sup>. As mudanças de Cl<sup>-</sup> estão reguladas principalmente pela sua excreção no rim. No momento em que o Cl<sup>-</sup> é substituído por outros ânions, como ácidos orgânicos, sem compensação de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ou Na<sup>+</sup>, está configurada uma diferença aniônica anormal.

Uma hipocloremia pode ser observada na acidose metabólica por acúmulo de ácidos orgânicos (cetose, diabetes, acidose lática), na acidose respiratória por acúmulo de CO<sub>2</sub>, que leva a um aumento de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e, consequentemente, queda de Cl<sup>-</sup>, no vômito contínuo, por perda de HCl, na diarreia, por perda de fluidos intestinais ricos em Cl<sup>-</sup>, e em casos de doença renal, por acúmulo de grupos fosfato (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>) e sulfatos (HSO<sub>4</sub><sup>-</sup>) que não se excretam e substituem o Cl<sup>-</sup>.

Uma hiperclorémia pode ser observada na desidratação e na alcalose respiratória, por perda de CO<sub>2</sub> e, consequentemente, de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> com aumento de Cl<sup>-</sup> compensatório. Em transtornos do córtex adrenal, a produção alterada de aldosterona pode levar a quadros de hiper ou hipocloremia.

## Colesterol

O colesterol nos animais pode ser tanto de origem exógena, proveniente dos alimentos, como endógena, sendo sintetizado, a partir do acetil-CoA, no fígado, nas gônadas, no intestino, na glândula adrenal e na pele. A biossíntese de colesterol no organismo é inibida com a ingestão de colesterol exógeno. O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas (HDL, LDL e VLDL), sendo que cerca de 2/3 dele está esterificado com ácidos graxos. Os níveis de colesterol plasmático são indicadores adequados do total de lipídeos no plasma, pois correspondem a aproximadamente 30 % do total.

O colesterol é necessário como precursor dos ácidos biliares, os quais fazem parte da bile, e dos hormônios esteroides (adrenais e gonadais). Os estrógenos, sintetizados a partir de colesterol, afetam a complexa inter-relação das funções hipofisiária, tireoidiana e adrenal. Portanto, os níveis de colesterol podem dar uma indicação indireta da atividade tireoidiana.

O colesterol é excretado pela bile, na forma de ácidos biliares, ou na urina, na forma de hormônios esteroides.

Os níveis sanguíneos de colesterol podem estar aumentados no hipotireoidismo, em obstruções biliares, na diabetes mellitus, na pancreatite, ou quando são utilizadas dietas ricas em carboidratos ou gorduras. O nível normal de colesterol é maior em animais mais velhos.

Os níveis de colesterol têm valores máximos durante a gestação em função do aumento da síntese de esteroides gonadais nessa fase. Por outro lado, as vacas lactantes podem apresentar hipercolesterolemia fisiológica. O aumento de colesterol durante a lactação tem sido atribuído ao aumento na síntese de lipoproteínas plasmáticas.

Níveis baixos de colesterol ocorrem quando há deficiência de alimentos energéticos. Seu nível também pode diminuir em uma lesão hepatocelular, no hipertireoidismo, em alimentação deficiente em energia e em doenças genéticas relacionadas com síntese diminuída de apolipoproteínas do plasma.

Os valores de colesterol no momento do parto são significativamente menores que durante os estados pré e pós-parto. No início da lactação, os valores de colesterol são baixos, aumentando progressivamente até a 10ª semana, para voltar a cair no fim do período.

Em animais monogástricos, é recomendável que as coletas para dosar colesterol sejam feitas após jejum de 12 horas.

### **Corpos cetônicos**

Os corpos cetônicos, produto do metabolismo dos ácidos graxos, são o  $\beta$ -hidroxibutirato, o acetoacetato e a acetona. Em situações onde há deficiência de energia, o acetoacetato, produzido normalmente no metabolismo dos ácidos graxos, não pode ser metabolizado e sofre

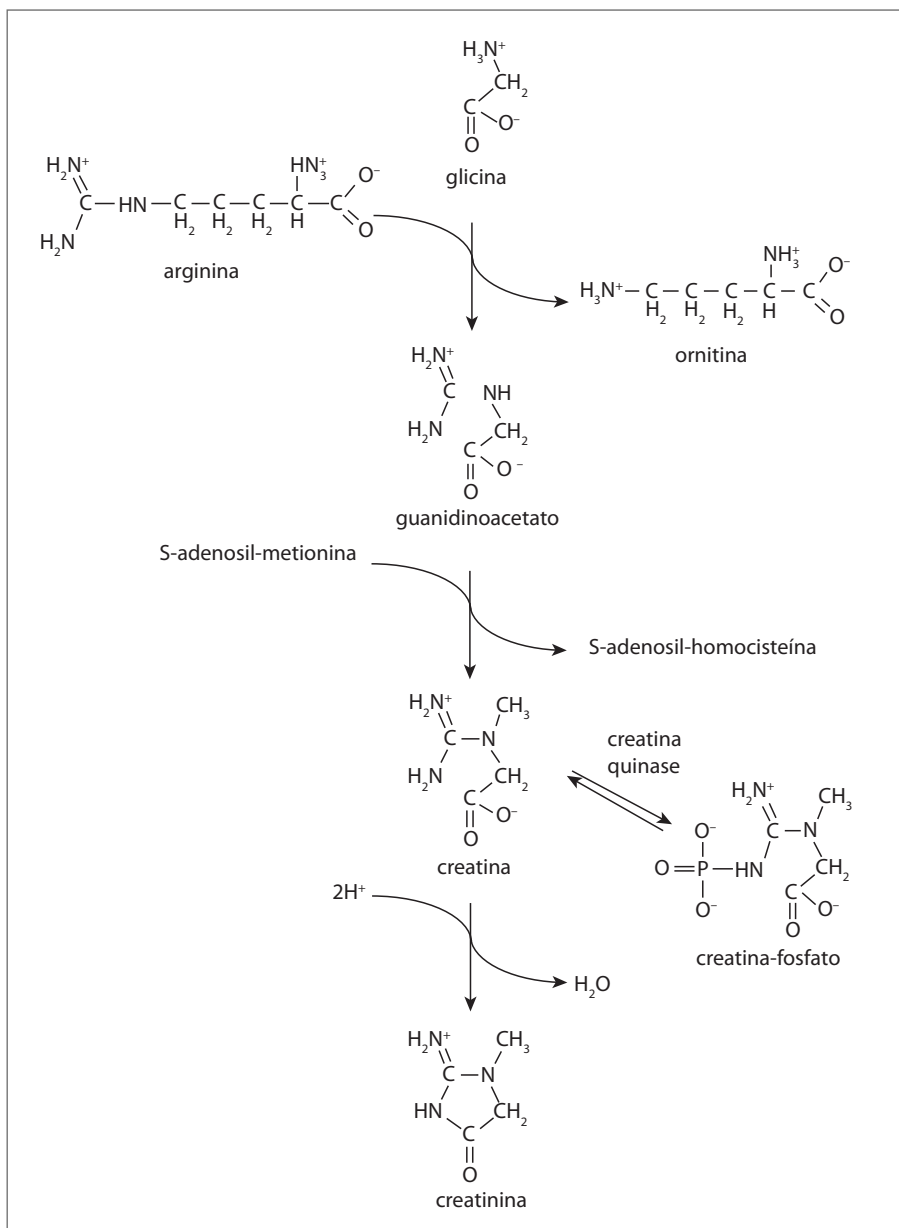
redução a  $\beta$ -hidroxibutirato ou descarboxilação até acetona.

A cetose ou cetonemia é uma condição caracterizada por um aumento anormal na concentração de corpos cetônicos nos fluidos corporais (sangue, urina, leite e saliva). Esta condição é comumente encontrada em situações como diabetes mellitus, jejum prolongado, má nutrição e má absorção. A cetose está geralmente associada com hipoglicemia. Esta síndrome denominada cetonemia é bastante frequente em bovinos, principalmente em vacas leiteiras de alta produção, devido a um balanço nutricional negativo, pois o animal precisa de muita energia para a produção de leite e não consegue manter equilibrada a sua glicemia, ocorrendo assim uma mobilização lipídica que dará origem ao aumento dos corpos cetônicos no plasma. Aumentar somente a quantidade de alimento pode não resolver o problema, visto que esses animais têm uma capacidade máxima admissível no trato gastrointestinal.

### **Creatinina**

A creatinina plasmática é derivada, praticamente em sua totalidade, do catabolismo da creatina presente no tecido muscular. A creatina é um metabólito utilizado para armazenar energia no músculo, na forma de fosfocreatina, e sua degradação para creatinina ocorre de maneira constante, ao redor de 2 % do total de creatina diariamente (Figura 1). A conversão de fosfocreatina em creatinina é uma reação não enzimática e irreversível, dependente de fatores estequiométricos.

A concentração sanguínea de creatinina é proporcional à massa muscular. Por esse motivo, em situações de atrofia muscular e outras enfermidades relacionadas, ocorre diminuição do teor de creatinina plasmática. Ao mesmo tempo, em situações de exercício



**Figura 1** - Formação de creatina e de creatinina.

prolongando ou intenso, pode ser observado um aumento nos níveis plasmáticos de creatinina. Na prática, a produção de creatinina é constante e muito pouco afetada pelo aumento do catabolismo das proteínas tissulares e da dieta.

A excreção de creatinina só se realiza por via renal, uma vez que ela não é reabsorvida nem reaproveitada pelo organismo. Por isso, os níveis de creatinina plasmática refletem a taxa de filtração renal, de forma que níveis altos de creatinina indicam uma deficiência na funcionalidade renal.

Entre as causas de aumento plasmático da creatinina, devem ser consideradas uma azotemia pré-renal por diminuição da perfusão renal, como, por exemplo, na desidratação, uma azotemia renal devido à insuficiência renal, uma azotemia pós-renal por obstrução do fluxo urinário ou ruptura de bexiga, ou simplesmente uma atividade muscular intensa ou prolongada.

Entre as causas da diminuição dos níveis de creatinina no plasma são consideradas hidratação excessiva, insuficiência hepática e doenças musculares degenerativas.

## **Dióxido de carbono**

O dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) é o produto final do metabolismo. Na presença da enzima anidrase carbônica, o  $\text{CO}_2$  e água formam o ácido carbônico, que posteriormente é dissociado em bicarbonato e hidrogênio. Esses compostos são responsáveis pelo equilíbrio acidobásico e o controle do pH plasmático, agindo como um sistema tampão.

A determinação do dióxido de carbono, no plasma, é feita para avaliar o balanço acidobásico e a capacidade tamponante do plasma. A concentração do dióxido de

carbono no plasma pode ser regulada através da sua excreção via respiração. Níveis aumentados de dióxido de carbono estão relacionados com alcalose metabólica, hipocalcemia e acidose respiratória. Níveis abaixo do normal são encontrados quando ocorre uma acidose metabólica (devido a uma insuficiência renal), diarreia, hipotensão, alcalose respiratória e desidratação.

## **Ferro**

O ferro é um constituinte essencial da porção heme da hemoglobina. Esta proteína é continuamente degradada e sintetizada em função da meia-vida dos eritrócitos, de forma que o ferro é reciclado continuamente. Uma proteína  $\beta$ -globulina, denominada transferrina, transporta o ferro via sanguínea para todo o organismo. O ferro derivado da degradação da hemoglobina é captado pelo sistema mononuclear fagocitário e pode ser armazenado no sistema retículoendotelial (baço, fígado e medula óssea) sob a forma de ferritina e hemossiderina, proteínas armazenadoras do mineral.

Perdas de ferro ocorrem inevitavelmente, principalmente pelas células epiteliais do trato gastrointestinal. A principal fonte de ferro da dieta é a carne. A taxa de absorção é determinada pela quantidade de ferro armazenado e pela taxa de produção de eritrócitos.

Os valores do ferro podem estar aumentados no plasma em decorrência de diversos fatores, tais como anemia hemolítica (ocorre liberação de ferro dos eritrócitos), doenças hepáticas (local de estocagem do ferro na forma de hemossiderina e ferritina), leucemia aguda, níveis altos de substâncias estrogênicas, transfusão sanguínea, nefrite, administração parenteral excessiva de ferro ou excesso de ferro na dieta.

Níveis de ferro abaixo do normal indicam uma deficiência de ferro na dieta, problemas de má absorção, anemia, infecção crônica, uremia, síndrome nefrótica ou  $\alpha$ -transferrinemia congênita.

### Fructosamina

A fructosamina refere-se a um termo que engloba as proteínas plasmáticas glicosiladas. Ela se forma a partir da reação não enzimática e reversível de moléculas de glicose com grupos aminas de resíduos de lisina das proteínas no sangue, formando complexos de aldimina (base de Schiff) que se convertem, através do rearranjo (transposição) de Amadori, em um composto estável de cetoamina. Como a albumina responde por cerca de 50 % das proteínas do plasma, a fructosamina corresponde a essa fração de proteína glicosilada.

O valor das proteínas glicosiladas do plasma dá uma ideia da concentração de glicose durante o período correspondente à meia-vida da proteína. Uma vez que meia-vida da albumina é de cerca de 20 dias, a concentração sanguínea de fructosamina oferece um indicador da glicemia em torno das últimas duas semanas antes da coleta. Recomenda-se que cada laboratório tenha seus próprios valores de referência para ter uma interpretação adequada, devido à grande variabilidade de resultados encontrados na literatura. Valores de referência em cães sadios podem estar entre 200 e 300  $\mu\text{mol/L}$ . Cães diabéticos apresentam valores  $> 450 \mu\text{mol/L}$ . O valor de referência em gatos é da ordem de 219-347  $\mu\text{mol/L}$ .

A fructosamina pode diminuir quando ocorre maior *turnover* de proteínas, como em casos de hipertireoidismo, ocorrendo o inverso em casos de hipotireoidismo. Em casos de pacientes com esses transtornos, deve-se considerar esses efeitos ao dosar a fructosamina.

### Fósforo

O fósforo (P) existe em combinações orgânicas dentro das células, mas o interesse principal no perfil metabólico reside no fósforo inorgânico presente no plasma. A manutenção do nível de P do sangue é governada pelos mesmos fatores que promovem a assimilação do Ca. Porém, na interpretação do perfil os dois minerais indicam diferentes problemas. Por outro lado, o controle da concentração de cálcio via endócrina é mais rigoroso, e o nível de fósforo inorgânico no plasma sanguíneo dos bovinos geralmente oscila bem mais que o nível de cálcio.

Os níveis de P são particularmente variáveis no ruminante em função da grande quantidade que se recicla via saliva, e sua absorção no rúmen e intestino. A interrupção do ciclo leva à hipofosfatemia. Normalmente, a perda de P nas secreções digestivas no bovino chega a 10 g/dia. Por outro lado, o P no rúmen é necessário para a atividade normal da microflora e, portanto, para a digestão normal.

A disponibilidade de P alimentar diminui com a idade (90 % em bezerras, 55 % em vacas adultas), por isso os níveis sanguíneos de P são menores em animais mais velhos. Deficiências no fósforo não têm efeitos imediatos, como é o caso do cálcio, porém, em longo prazo, podem causar crescimento retardado, osteoporose progressiva, infertilidade e baixa produção. A deficiência severa de fósforo, manifestada por níveis sanguíneos de  $< 3,0 \text{ mg/dL}$ , leva à depravação do apetite. As hipofosfatemias são observadas em dietas deficientes em P, mais comumente em solos deficientes em fósforo, principalmente durante o outono/inverno e em vacas de alta produção leiteira. Existem muitas áreas deficientes em P. Vários trabalhos mostram deficiências na África (Senegal, Quênia), na Europa (Irlanda, Escócia), na

Austrália e na América Latina (Brasil, Costa Rica, entre outros).

No leite, a relação Ca:P é de quase 1:1. Entretanto, a relação Ca:P ótima nos alimentos para absorção é de 2:1, a mesma que existe nos ossos. Assim, a excreção de P pelo leite é maior, especialmente em vacas em produção. Nesses animais, uma alimentação com concentrados (rica em P) pode evitar problemas de deficiência.

Geralmente, as pastagens são abundantes em Ca e deficientes em P, acontecendo uma relativa deficiência de P e um excesso de Ca. Porém, os ruminantes estão bem adaptados para compensar altas relações Ca:P (até mais de 3:1). Por outro lado, o excesso de suplementação com Ca e P podem causar diminuição da absorção intestinal de outros minerais, tais como Mg, Zn, Mn e Cu.

Dietas com excesso de cereais, especialmente trigo, que contém alto teor de P, podem causar hiperfosfatemia em ovelhas, cabras e equinos, em decorrência da qual pode ocorrer urolitíase. O mesmo pode acontecer em gado sobrealimentado com concentrados e em cães e gatos com dietas únicas de carne. Uma alimentação que tenha uma relação Ca/P muito baixa (por excesso de P) pode levar em longo prazo a hiperparatireoidismo secundário nutricional.

## Glicose

Entre vários metabólitos usados como combustível para a oxidação respiratória, a glicose é considerada a mais importante, sendo vital para funções, tais como o metabolismo do cérebro e na lactação. O nível de glicose sanguínea pode indicar falhas na homeostase, como ocorre em doenças tais como as cetoses.

Na digestão dos ruminantes, praticamente nenhuma glicose proveniente do tra-

to alimentar entra na corrente sanguínea. O fígado é o órgão responsável pela sua síntese a partir de moléculas precursoras na via da gliconeogênese. Assim, o ácido propiônico produz 50 % dos requerimentos de glicose; os aminoácidos gliconeogênicos contribuem com 25 %; e o ácido láctico, com 15 %. Outro precursor importante é o glicerol.

O nível de glicose tem poucas variações, em função dos mecanismos homeostáticos bastante eficientes do organismo, os quais envolvem o controle endócrino por parte da insulina e do glucagon sobre o glicogênio e dos glicocorticoides sobre a gliconeogênese. Quando o fornecimento energético é inadequado, esses hormônios estimulam a degradação de glicogênio hepático e a síntese de nova glicose no fígado; e quando o balanço energético se torna negativo, estimulam a mobilização de triglicerídeos para fornecer ácidos graxos como fonte de energia e glicerol como precursor de glicose hepática.

A dieta tem pouco efeito sobre a glicemia, em função dos mecanismos homeostáticos, exceto em animais com severa desnutrição. Sob alimentação sem deficiência ou excesso drásticos de energia, o nível de glicose não é bom indicador do nível energético da dieta. Porém, o fato de ser um metabólito vital para as necessidades energéticas do organismo justifica sua inclusão no perfil metabólico.

A concentração de glicose pode aumentar no estresse crônico. A diabetes mellitus, mais frequente em monogástricos do que em ruminantes, é caracterizada por quadro de hiperglicemia e glicosúria.

A glicemia pode diminuir com a idade. Estados hipoglicêmicos em vacas leiteiras estão associados à cetose e a deficiências severas de energia ou, em menor grau, a produções elevadas de leite. O nível de glicose tende a diminuir com produções acima de 30 kg de lei-



te/dia. Na lactação, o suprimento de glicose na vaca é importante, especialmente quando alcança o máximo de produção, pois a glândula mamária necessita de glicose para síntese de lactose. Quando ocorre hipoglicemia na lactação (glicemia < 35 mg/dL), diminui a produção de leite como forma de compensação. Em casos extremos pode sobrevir cetose.

Nas vacas de alta produção leiteira, os requerimentos energéticos são cobertos pela alimentação adequada e gliconeogênese normal. A primeira deve adaptar-se às necessidades particulares dos ruminantes (a fibra é importante no periparto) e a segunda só é realizada se o fígado estiver funcionando normalmente. Diante de uma falha na alimentação ou na gliconeogênese, ocorre mobilização de triglicérides que servem como fonte de energia. A falta de oxalacetato leva ao aumento dos corpos cetônicos e, eventualmente, à cetose. Por outra parte, a excessiva mobilização de lipídeos pode levar a uma infiltração gordurosa no fígado, aumentando a falha hepática e, eventualmente, causando cirrose.

Sob condições de campo, diferentemente das condições experimentais, em ocasiões ocorre hipoglicemia, e seja qual for a causa, ela indica um estado patológico com importantes implicações na saúde e na produção. Em cavalos subalimentados, apresentam-se com frequência hipoglicemia e hiperlipemia. A mobilização de lipídeos nesta espécie pode ser excessiva, podendo causar dano hepático, às vezes fatal.

O nível de glicose nos ruminantes tende a ser menor no terço final da gestação do que nos períodos anteriores, isto é, os níveis tendem a diminuir à medida que a gestação avança. Sabe-se que o feto *in utero* demanda glicose como maior fonte de energia. Entretanto, no momento do parto, a glicemia tem um aumento agudo, talvez devido ao estres-

se. No período posterior ao parto os níveis caem de novo, especialmente na primeira semana e em vacas de alta produção leiteira.

## Globulinas

A concentração de globulinas é obtida pela diferença de concentração entre as proteínas totais e a albumina. As globulinas podem ser divididas em três tipos,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , identificadas mediante eletroforese. Elas têm funções no transporte de metais, lipídeos e bilirrubina, bem como papel na imunidade (fração gama). As globulinas são indicadores limitados do metabolismo proteico, tendo mais importância como indicadores de processos inflamatórios.

Altos níveis de globulinas estão associados a doenças infecciosas ou a vacinações recentes. As globulinas aumentam com a idade, talvez por maior “experiência” imunológica, e durante a gestação. Existe uma correlação negativa entre a concentração de albumina e globulinas; assim, um aumento nas globulinas, devido a estados infecciosos, inibe a síntese de albumina no fígado como mecanismo compensatório para manter constante o nível proteico total e, portanto, a pressão osmótica sanguínea. Por outra parte, na disfunção hepática, o nível de albumina cai e o de globulinas aumenta.

Mudanças nos níveis das globulinas podem ser usadas para avaliar estados de adaptação ao estresse. Animais adaptados tendem a ter níveis normais, enquanto os não-adaptados têm os níveis aumentados.

A concentração de globulinas diminui ao final da gestação devido à passagem de gamaglobulinas para o colostro. Em bezerros, a hipoglobulinemia é indicativo de que a ingestão de colostro foi pouca, o que os predispõe a sofrer de doenças, principalmente diarreias por colibacilose. A concentração de globulinas também diminui semanas antes do parto, recuperando seus valores até três semanas após o parto.

## Hemoglobina

A função da hemoglobina (Hb) é transportar oxigênio no sangue. Está composta por 4 subunidades que contêm a fração heme, em complexo com a proteína globina. O heme está encarregado de transportar o oxigênio. A Hb é produzida pelos eritrócitos imaturos (reticulócitos), e sua degradação leva à formação de bilirrubina. Quase toda a Hb está localizada no eritrócito, porém uma mínima fração pode ser encontrada no plasma, como resultado da degradação eritrocítica.

A concentração de Hb aumenta com a idade e na desidratação.

A Hb diminui no período final do parto e durante o pós-parto. A queda de Hb no final do parto pode estar relacionada com a transferência indireta de Hb materna para o sangue fetal, o que é possível mediante a degradação dos eritrócitos nos cotilédones e a transferência do ferro do heme da Hb, aumentando, portanto, o nível de bilirrubina no sangue materno.

A redução do nível de hemoglobina e do hematócrito indica anemia, a qual pode ser causada por vários fatores: (a) deficiência de proteínas ou de alguns minerais, principalmente ferro, cobre e cobalto; (b) hemólise por intoxicações, defeitos congênitos, porfirias; (c) hematozoários e infestação por nematoides; (d) infecções virais específicas. Em geral, a anemia representa um sinal de alerta para que sejam tratados os problemas causadores. A anemia fica configurada quando a concentração de Hb é menor do que 8 g/dL ou o hematócrito é menor do que 25 %.

Logo após o parto, é normal acontecer anemia subclínica por hemodiluição, devido ao ajuste circulatório às necessidades hídricas e metabólicas como resultado do funcionamento da glândula mamária. Entretanto, se a anemia se prolongar por mais de 4 se-

manas pós-parto, isso pode ser indicação de algum problema, geralmente deficiência de nutrientes ou falha hepática.

As anemias subclínicas estão associadas à baixa fertilidade. Em bezerras, a anemia causa crescimento retardado. Em leitões, é indispensável a suplementação com ferro porque o leite da porca é deficitário nesse mineral. A anemia pode levar à diminuição da tolerância ao exercício em cavalos e cães. A deficiência de cobre, que é causa de anemia, pode ser exacerbada por excesso de Mo ou de sulfatos.

## Hemoglobina glicosilada

Corresponde à fração glicosilada da hemoglobina, principalmente da fração HbA<sub>1</sub> uma vez que o eritrócito é livremente permeável à glicose, sendo então denominada HbA<sub>1c</sub>. A glicosilação da hemoglobina é diretamente proporcional à concentração de glicose sanguínea, tornando a mensuração da hemoglobina glicosilada uma importante ferramenta na verificação de hiperglicemia crônica.

O valor da HbA<sub>1c</sub> revela valores de glicemia de acordo com o período de meia-vida das hemácias. Como a vida dos eritrócitos caninos fica em torno de 110 a 120 dias (meia-vida= 60 dias), a mensuração deste analito permite obter uma verificação da glicemia nos últimos dois meses antes da coleta. Nos gatos o período de glicemia fornecido pela HbA<sub>1c</sub> corresponde aos últimos 40 dias (vida das hemácias= 70 dias).

O método de análise (cromatografia + espectrofotometria) é mais oneroso que o da fructosamina, pelo qual, na rotina clínicolaboratorial veterinária, prefere-se dosar a fructosamina como indicador de glicemia crônica.

## Lactato

O lactato é um produto intermediário do metabolismo dos glicídeos, sendo o produto final da glicose anaeróbica. Na presença suficiente de oxigênio e uma moderada taxa de glicólise, o ácido pirúvico entra no ciclo de Krebs, gerando  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ . Em condições em que o ácido pirúvico é produzido em uma quantidade maior da que consiga utilizar, ou quando ocorre condição de anaerobiose, o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico. Em condições normais, a maioria do lactato é produzida pelos eritrócitos, mas durante exercício ou atividade física intensa, o músculo produz grandes quantidades de lactato, devido à condição de insuficiente oxigenação do músculo nessas situações.

As condições patológicas que resultam no aumento do lactato plasmático são agrupadas em transtornos do músculo esquelético, cardiomiopatias, diabetes mellitus (onde o lactato e o piruvato estão aumentados), deficiência de tiamina, transtornos hepáticos, doença genética na qual ocorre falha nas enzimas responsáveis pela estocagem do glicogênio, toxemia da gestação, hipoxia, choque e redução da pressão sanguínea e anemia, causando redução na capacidade de oxigenação.

Em ruminantes, pode ocorrer também aumento do lactato sanguíneo na chamada acidose láctica ou indigestão láctica. Este transtorno é observado em animais que têm mudanças súbitas de dieta de forragem para concentrado, onde há uma rápida fermentação de carboidratos solúveis com alta produção de lactato.

## Lipídeos totais

Os lipídeos encontrados no plasma são divididos em três grandes grupos: colesterol, fosfolipídeos e gorduras neutras (triglicerídeos).

Mudanças na composição e na concentração plasmática dos lipídeos podem ser observadas em várias condições fisiológicas, como, por exemplo, em animais jovens, nos quais há baixas concentrações de lipídeos totais, ou durante a gestação, quando ocorre um aumento considerável de lipídeos totais no plasma.

Condições patológicas que cursam com o aumento dos lipídeos totais plasmáticos são nefrose, cirrose, hepatite aguda, hipotireoidismo e caquexia. Diminuição nos níveis plasmáticos de lipídeos totais pode ser devido à anemia, infecção aguda ou hipertireoidismo. É normal encontrar aumento nos níveis de lipídeos totais em vacas leiteiras de alta produção durante o pós-parto.

## Magnésio

Não existe um controle homeostático rigoroso do Mg, e, portanto, sua concentração sanguínea reflete diretamente o nível da dieta. O controle renal de Mg está mais direcionado para prevenir a hipermagnesemia, mediante a excreção do excesso de Mg pela urina. Diante de uma deficiência de Mg, seus níveis na urina caem a praticamente zero. Assim, os níveis de Mg na urina são indicadores da ingestão do mineral nos alimentos.

A hipomagnesemia tem sérias consequências para os ruminantes podendo levar até a morte, enquanto a hipermagnesemia não causa maior transtorno. A hipomagnesemia ou a tetania hipomagnesêmica constitui uma doença da produção, geralmente causada pela baixa ingestão de magnésio (Mg) na dieta. A hipomagnesemia pode causar, além da tetania, hiperexcitabilidade, retenção de placenta, bem como anormalidade da digestão ruminal e diminuição da produção de leite. Também predispõe à apresentação de febre do leite em vacas após o parto, devido a níveis baixos de Mg ( $< 2 \text{ mg/dL}$ ) reduzirem

drasticamente a capacidade de mobilização das reservas de Ca dos ossos. O Mg está mais disponível em forragens secas e em concentrados (10-40 %) do que em pastos frescos (5-33 %). Pastagens jovens com altos níveis de proteína e K inibem a absorção de Mg. O Mg é absorvido no intestino mediante um sistema de transporte ativo que pode ser interferido pela relação Na:K e ainda pela quantidade de energia de Ca e de P presentes no alimento. A hipomagnesemia também pode ser consequência de uma excessiva lipólise em decorrência de uma deficiência de energia.

O Mg é um mineral não essencial para o crescimento das pastagens. O K, que é essencial, muitas vezes fica em excesso especialmente por causa dos fertilizantes. Esse K em excesso inibe a absorção intestinal de Mg e, associado à deficiência de Mg, pode levar facilmente à hipomagnesemia. O nível de Mg no perfil metabólico pode indicar estados subclínicos antes de surgir o problema (valor de referência: 2,0-3,0 mg/dL), sendo especialmente útil antes do parto para evitar problemas de tetania no pós-parto, geralmente complicados com febre de leite.

Configura-se hipomagnesemia em ruminantes com níveis de Mg abaixo de 1,75 mg/dL, aparecendo sintomas com concentrações abaixo de 1,0 mg/dL. Os níveis de Mg na urina podem ser indicativos de deficiência quando estão abaixo de 0,5 mg/dL (o valor de referência de Mg na urina é de 10-15 mg/dL). É aconselhável fazer monitoramento dos níveis de Mg no sangue ou na urina ao longo do ano para prevenir hipomagnesemias. O leite é relativamente deficiente em Mg, razão pela qual se recomenda suplementá-lo aos animais lactentes.

## Potássio

O potássio é o cátion intracelular mais abundante do organismo. Na maioria dos

animais, a concentração de potássio dentro da célula é similar à concentração de sódio fora da célula. Este cátion, quando presente no fluido extracelular, está relacionado com o processo de excitação nervosa e muscular. A concentração sérica deste elemento é controlada através de sua contínua filtração pelo rim. O potássio é encontrado na saliva, no suco gástrico, na bile, no suco pancreático e nos líquidos intestinais. Qualquer situação patológica que interfira com a absorção ou reabsorção deste eletrólito no rim ou qualquer situação que implique perda de líquidos corporais ricos em potássio alteram sua concentração sérica.

Situações em que pode ser encontrado aumento nos níveis séricos de K (hipercalemia) se devem à excreção reduzida, como no hipoadrenocorticism, no tratamento com espirinolactona, em ingesta baixa de sódio, na fase oligúrica da insuficiência renal (principalmente insuficiência renal aguda), em ruptura vesical ou quando ocorre redistribuição do potássio do espaço intracelular para o líquido extracelular, como, por exemplo, em casos de acidose (especialmente metabólica), hiperosmolaridade do plasma, dano tecidual extenso (queimadura) e trombocitose.

Situações em que é encontrado um nível baixo de K sanguíneo (hipocalemia) incluem diminuição da ingestão de potássio ou aumento da perda deste elemento como, por exemplo, em vômito e diarreia persistente, em terapias de diuréticos, mineralocorticoides em excesso, em enfermidade hepática crônica, na fase poliúrica da insuficiência renal crônica ou por redistribuição do potássio do líquido extracelular para o espaço intracelular, como, por exemplo, em alcalose, hiperinsulinemia e em recuperação de traumatismo grave.

## Proteínas totais

As principais proteínas plasmáticas são a albumina, as globulinas e o fibrinogênio. Elas estão envolvidas em múltiplas funções: (a) manutenção da pressão osmótica e da viscosidade do sangue; (b) transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos de excreção; (c) regulação do pH sanguíneo; e (d) participação na coagulação sanguínea.

As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que a taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A, e com a funcionalidade hepática.

A concentração de proteínas totais pode estar aumentada na desidratação por hemoconcentração. Alguns autores assinalam que os animais mais velhos têm maiores teores de proteína sanguínea do que os mais novos, talvez por apresentarem maior eficiência metabólica na utilização da proteína. A fração proteica responsável por esse aumento parece ser a das globulinas, principalmente da fração gama.

A concentração das proteínas totais encontra-se diminuída em falhas hepáticas, transtornos intestinais e renais, hemorragia ou por deficiência na alimentação. Em estados de inanição, a proteína de reserva, especialmente do músculo e do fígado, é degradada para servir de fonte de glicose, ao mesmo tempo em que ocorre diminuição das proteínas totais do plasma, provocando queda na osmolaridade plasmática, o que pode resultar, em casos extremos, em saída de líquidos da corrente circulatória para os tecidos (edema). Dietas com menos de 10 % de proteína causam diminuição dos níveis proteicos no sangue.

Fisiologicamente, a concentração de proteínas pode cair na semana anterior ao parto, recuperando-se depois do parto. Vacas secas

podem ter maiores teores de proteínas do que vacas em lactação ou em gestação. Dietas com deficiência de proteína no início da lactação impedem a recuperação dos níveis sanguíneos proteicos no pós-parto e levam, necessariamente, a uma redução da produção leiteira.

## Sódio

O sódio está presente principalmente no líquido extracelular e determina, em grande parte, o volume deste líquido e a osmolaridade do plasma. O nível de sódio dentro das células é mantido baixo, graças a uma membrana celular relativamente impermeável à entrada de sódio e a uma bomba de sódio que retorna o sódio da célula para o líquido extracelular. Os rins regulam a quantidade de sódio do organismo, controlando também a de água, mantendo assim a concentração plasmática de sódio dentro de limites estreitos, apesar das flutuações devido à ingestão diária.

Um aumento nos níveis plasmáticos de sódio é produzido por aumento na ingestão de sódio, por perda excessiva de água ou fluidos (poliúria, vômito, diarreia) ou por ingestão inadequada de água (falta de água ou incapacidade de beber).

Uma diminuição nos níveis plasmáticos de sódio pode ser devido a perdas deste eletrólito na diurese osmótica, na desidratação grave, na fase poliúrica da insuficiência renal aguda, na polidipsia psicogênica. Nesses casos, observa-se aumento da pressão sanguínea e diminuição da pressão osmótica coloidal.

## Triglicerídeos

Os triglicerídeos (TG) formados nas células da mucosa intestinal, a partir dos monoglicerídeos e ácidos graxos de cadeia longa absorvidos, são transportados pelos vasos linfáticos como quilomícrons e posteriormente

entram na circulação sanguínea. Os quilomícrons são formados praticamente em sua totalidade por triglicerídeos (80-95 %) e por pequenas quantidades de colesterol, fosfolípidos e uma proteína plasmática que confere solubilidade a este lipídeo. Os TG ligados aos quilomícrons são considerados TG exógenos.

Os TG formados no fígado são transportados no sangue sob a forma de lipoproteínas de baixa densidade (VLDL). Esses compostos consistem principalmente de triglicerídeos (em torno de 60 %), contendo também colesterol, fosfolípidos e proteínas plasmáticas. Os TG ligados à VLDL são considerados TG endógenos.

Os níveis de triglicerídeos plasmáticos estão aumentados depois de ingerir alimentos ricos em gordura, em casos de deficiência da atividade da enzima lipase lipoproteica, o que ocorre secundariamente a processos como diabetes mellitus ou por falha genética da atividade desta enzima.

## Ureia

A ureia é sintetizada no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo dos aminoácidos e da reciclagem de amônia do rúmen. Os níveis de ureia são analisados em relação ao nível de proteína na dieta e ao funcionamento renal.

A ureia é excretada principalmente pela urina e, em menor grau, pelo intestino e o leite. Na maioria dos animais (exceto em aves, que secretam ácido úrico), o nível de ureia é indicador de funcionamento renal. Na insuficiência renal, pode ser observada azotemia (aumento nos níveis sanguíneos de ureia e creatinina). Também pode ocorrer azotemia por causas pré-renais, que incluem desidratação, choque hipovolêmico e hipotensão, bem como por causas pós-renais, principalmente obstrução do trato urinário.

Os níveis de ureia sanguínea também estão afetados pelo nível nutricional, particularmente em ruminantes. De modo geral, a ureia é um indicador sensível e imediato da ingestão de proteína, enquanto a albumina é indicador a longo prazo do estado proteico. Por outra parte, uma dieta baixa em proteínas afeta pouco a concentração de globulinas.

A concentração de ureia pode estar aumentada em alimentação com excesso de proteína ou de fontes de nitrogênio não-proteico, como a própria ureia, que é usada em ruminantes em até 3 % da dieta. No entanto, também são encontrados níveis aumentados de ureia quando ocorre deficiência de energia, devido à diminuição da capacidade da microflora ruminal em utilizar os compostos nitrogenados para a síntese de proteínas, aumentando a quantidade de amônia absorvida no rúmen. O adequado fornecimento de glicídeos na dieta, quando há suplementação de compostos nitrogenados, evita o aumento excessivo dos níveis de ureia sanguínea, devido à utilização pelas bactérias do rúmen da ureia e dos glicídeos para sintetizar aminoácidos e proteína.

O jejum prolongado pode causar aumento da proteólise endógena para utilizar aminoácidos como fonte energética, o que causa aumento na concentração de ureia. Isso é frequente em bezerros com diarreia, quando o consumo de alimento chega a ser nulo. Nesses casos, o quadro é exacerbado pela desidratação, pois o fluxo de urina diminui e inibe a excreção renal de ureia, podendo causar uremia. Em casos de diabetes mellitus, a ureia aumenta por causa do catabolismo proteico induzido pela falta de insulina.

Em ruminantes, ocorre diminuição dos níveis de ureia sanguínea, por dietas deficientes em compostos nitrogenados. O balanço nitrogenado nessas espécies pode ser estudado com base nos níveis de ureia

tanto no sangue quanto no leite. Os valores de ureia sanguínea diminuem pouco antes e após o parto, inclusive em vacas com adequados níveis de proteína na dieta.

É importante considerar, quando se expressa um resultado em ureia ou em N ureico (BUN), que o valor de ureia é 2,14 vezes maior do que o valor de N ureico. Também deve ser observada a unidade em que é expressado o resultado, pois o Sistema Internacional de Unidades utiliza mmol/L, ao passo que a maioria dos laboratórios entregam o resultado no sistema convencional de medida, isto é, mg/dL. Facilmente é possível converter as unidades de um sistema para outro usando o fator 0,167 ( $1 \text{ mg/dL} = 0,167 \text{ mmol/L}$ ).

#### PERFIL ENZIMÁTICO

A enzimologia clínica é de grande ajuda diagnóstica, principalmente em relação às enzimas presentes na corrente sanguínea, várias das quais são incluídas no estudo do perfil metabólito sanguíneo (Quadro 1).

A medição da atividade enzimática no plasma como ajuda diagnóstica está fundamentada nos seguintes conceitos:

(a) No plasma sanguíneo podem ser encontradas enzimas cuja síntese e função são exercidas em nível intracelular, mas podem sair para a corrente circulatória, após a morte celular. Sob condições normais, essas enzimas têm baixa atividade no plasma. Outras enzimas, que também são produzidas no espaço intracelular, podem ser secretadas para atuar fora das células, como é o caso das enzimas da coagulação sanguínea (trombina).

(b) Como a concentração intracelular das enzimas é bem maior do que no plasma, danos celulares relativamente pequenos podem levar a aumentos significativos da atividade das enzimas no plasma.

(c) Aumentos da atividade enzimática no plasma permitem fazer inferência sobre o lugar e o grau do dano celular, uma vez que muitas enzimas são específicas de órgãos. O grau de alteração pode ser determinado pela atividade de enzimas associadas a diferentes compartimentos celulares. Assim, em danos tissulares severos, aparece maior atividade de enzimas mitocôndriais e em danos menores aparece atividade de enzimas citoplasmáticas ou de membrana.

(d) Os níveis enzimáticos no plasma, estão influenciados pela velocidade com que entram na corrente circulatória, o que por sua vez depende do dano celular e pela taxa de inativação enzimática (meia-vida da enzima).

(e) O evento que interessa na determinação enzimática é o aumento da atividade, não tendo geralmente importância a diminuição.

O sistema de medida da concentração das enzimas mais usado é o de Unidades Internacionais (U), equivalente à quantidade de enzima que catalisa a conversão de 1 mmol de substrato por minuto. Devem ser expressadas as condições de pH, temperatura e concentração de substrato usadas na determinação. A União Internacional de Bioquímica (IUB) recomenda, para expressar a atividade enzimática, o uso do katal ( $1 \text{ kat} = 1 \text{ mol/s}$ ), unidade que tem equivalência no sistema internacional ( $1 \text{ U/L} = 16,67 \text{ nkat/L}$ ).

A amostra utilizada para a análise de enzimas deve ser preferivelmente soro e, se usar plasma, deve evitar-se o uso de anticoagulantes com agentes quelantes de metais, tais como EDTA, citrato ou oxalato, para evitar a inativação das metaloenzimas. A heparina é uma boa alternativa. A estabilidade das enzimas é diferente para cada uma, sendo conveniente separar o soro ou o plasma o mais rapidamente possível. Deve evitar-se congelar e descongelar muitas vezes a mes-

QUADRO 1 – ENZIMAS RELEVANTES NA CLÍNICA VETERINÁRIA E SUAS LOCALIZAÇÕES

<b>Enzima</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Localização</b>
Alanina aminotransferase	ALT	fígado, músculo e rim
Aldolase	Ald	músculo cardíaco e esquelético
Amilase	Amyl	pâncreas e glândula salivar
Arginase	ARG	fígado
Aspartato aminotransferase	AST	fígado, músculo cardíaco e esquelético
Colinesterase	ChE	sistema nervoso e fígado
Creatina quinase	CPK	músculo e cérebro
Fosfatase ácida	AcP	diversos
Fosfatase alcalina	FA	fígado, ossos, intestino, placenta e rim
Gamaglutamiltransferase	GGT	fígado, rim, glândula mamária, leite e sêmen
Glutamato desidrogenase	GLDH	fígado
Glutation peroxidase	GPx	eritrócitos
Lactato desidrogenase	LDH	fígado, músculo e células sanguíneas
Lipase	LIP	pâncreas
Ornitina carbamiltransferase	OCT	fígado
Piruvato quinase	PK	diversos
Sorbitol desidrogenase	SDH	fígado
Transcetolase	TK	diversos
Tripsina	TR	pâncreas

ma amostra, pois este processo pode causar a desnaturação de algumas enzimas. Quando for necessário analisar uma amostra em dias diferentes, recomenda-se dividir em pequenas alíquotas, descongelando só o que for analisado logo em seguida. Na Tabela 3 são apresentados os valores séricos normais (U/L) de algumas das principais enzimas.

Além dos cuidados já citados com a coleta e armazenamento da amostra, o clínico deve ter cuidado especial com a anamnese do paciente. Alguns fatos podem passar despercebidos e levar a uma interpretação equivocada dos resultados, como, por exemplo:

- A aplicação de uma injeção por via intramuscular pode causar uma irritação tecidual



TABELA 3 – NÍVEIS SÉRICOS NORMAIS (U/L) DE ALGUMAS ENZIMAS

<b>Enzima</b>	<b>Bovinos</b>	<b>Equinos</b>	<b>Caninos</b>	<b>Ovinos</b>
Fosfatase alcalina	0-488	143-395	20-156	68-387
ALT	14-38	3-23	21-102	30
AST	78-132	226-366	23-66	< 350
Colinesterase	1270-2430	450-790	270	640
Amilase	24-31	75-150	185-700	11-73
Arginase	1-30	0-14	0-14	0-14
Creatina quinase	< 94	< 140	< 125	< 40
Glutamato desidrogenase	31	0-11,8	3	20
GGT	6,1-17,4	4,3-13,4	1,2-6,4	20-52
Lactato desidrogenase	692-1445	162-412	45-233	238-440
Sorbitol desidrogenase	4,3-15,3	1,9-5,8	2,9-8,2	5,8-27,9

no músculo, suficiente para elevar a concentração de CK, AST ou LDH no sangue.

- A hemólise pode interferir não somente pela variação na absorbância da amostra como também pela liberação de enzimas presentes nos eritrócitos.

- A atividade de CK pode elevar-se devido a uma crise convulsiva em que o animal se debata e traumatize os músculos esqueléticos.

- O animal pode ter sofrido algum acidente que não foi percebido ou relatado pelos proprietários, caso em que se deve procurar por outras evidências, pois além do traumatismo muscular, pode ter ocorrido alguma lesão visceral.

- Verificar a possibilidade de indução enzimática por uso de drogas.

- Levantar em conta fatores, como caquexia, prenhez, idade, dieta e outros que possam interferir nos resultados.

- Animais e raças com taxas de crescimento maiores apresentam maior atividade enzimática de AST, ALT e FA.

### **Aldolase (ALD)**

Catalisa a hidrólise da frutose-1,6-difosfato em gliceraldeído-3-fosfato e di-hidroxiacetona-fosfato, na via da glicólise. Tem importância no diagnóstico de lesão muscular (esquelética e cardíaca). Também pode estar aumentada em casos de dano hepático, na hemólise e após administração de cortisol. A sua medição é difícil, razão pela qual são preferidas outras enzimas indicado-

ras desses problemas, tais como AST, ALT, CK e LDH.

### **Alanina aminotransferase (ALT)**

A ALT (anteriormente chamada de transaminase glutâmico-pirúvica – GPT) catalisa a transaminação reversível de alanina e 2-cetoglutarato em piruvato e glutamato. Tem como cofator o piridoxal-fosfato. É encontrada em grande concentração no fígado e, em menor grau, no rim e nos músculos, tendo localização citoplasmática. A ALT é um boa indicadora de hepatopatias agudas em cães, gatos, coelhos, ratos e primatas, principalmente em doenças hepatocelulares, necrose hepática, obstrução biliar, intoxicações e infecções parasitárias. Seu uso em suínos, cavalos e ruminantes é de pouco valor diagnóstico devido aos baixos teores da enzima nos tecidos dessas espécies. Em processos crônicos, seu valor está diminuído. Também pode estar aumentada em casos severos de dano muscular.

Gestação, nutrição inadequada e falha renal podem levar a uma atividade da ALT diminuída pela deficiência desta vitamina. Cães e ratos tratados com cefalosporina também podem apresentar diminuição da atividade desta enzima

Embora presente no coração, nos rins, músculos e eritrócitos, a enzima oriunda destes órgãos não é capaz de fazer a ALT aumentar muito mais do que 3 vezes.

O aumento da ALT está relacionado com o número de células envolvidas, ou seja, com a extensão, e não com a gravidade da lesão. Na realidade, mesmo uma lesão que não cause morte celular pode ser suficiente para que ocorra a liberação de ALT na corrente sanguínea.

Diversas drogas podem induzir um incremento da atividade da ALT. Em pequenos animais são relevantes para o clínico os seguintes princípios ativos: acetaminofeno, barbitúricos, glicocorticoides, cetoconazol, mebendazol, fenobarbital, fenilbutazona, primidona e tetraciclina. Substâncias químicas (fenóis, alcatrão e outros), plantas hepatotóxicas e aflatoxina podem causar o mesmo efeito.

ALT tem um pico de liberação no sangue cerca de 3 ou 4 dias após a lesão, mas retorna aos valores basais cerca de 2 semanas após. A persistência de valores elevados por um período maior pode indicar o estabelecimento de uma patologia crônica como neoplasia ou hepatite.

Outras causas possíveis de aumento da ALT são *shunts* portossistêmicos, lipidose hepática, pancreatite aguda (aumento moderado), hepatites tóxicas ou infecciosas (leptospirose, peritonite infecciosa felina, e outras), hipóxia e febre (pequena variação).

### **Amilase (Amyl)**

A amilase é uma metaloenzima  $\text{Ca}^{2+}$ -dependente, que atua no intestino hidrolisando polímeros de glicose (amido, amilopectina e glicogênio) nas ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4, produzindo maltose e dextrina limite. Existem, no mínimo, 4 isoenzimas de amilase no plasma de cães e 7 nos humanos. Existe amilase em vários tecidos (glândulas salivares, cérebro, pulmão) exceto no fígado. Seu nível é 6 vezes maior no pâncreas e no duodeno do que nos outros tecidos. A elevação de amilase no plasma é indicativo de pancreatite em cães, obstrução intestinal, falha renal, obstrução urinária, neoplasias do pâncreas, hiperadrenocorticismismo, obstrução das glândulas salivares e administração de drogas (cortisol, opiáceos). Também pode aparecer amilase na urina nos casos de

pancreatite, lesões das glândulas salivares e insuficiência renal.

O cão não possui  $\alpha$ -amilase nas glândulas salivares, embora outras espécies a possuam.

Grande parte da amilase sanguínea é removida do organismo pela filtração renal e eliminada na urina. Portanto, uma das causas prováveis de hiperamilasemia é a diminuição da filtração glomerular. No entanto, se esta causa for eliminada, a amilase tem uma alta especificidade para lesão pancreática. Em casos mais raros, pode ocorrer aumento da amilase sanguínea por trauma cerebral.

Algumas drogas podem causar pancreatite, e, por consequência, hiperamilasemia. No entanto, não foram encontrados relatos de indução da produção enzimática pelo uso de drogas.

Vários tecidos, como intestino, rins e útero, apresentam atividade de amilase, e, por isso, os pesquisadores preferem considerar que o diagnóstico de pancreatite em cães seja dado só quando o valor ultrapassar 3 ou 4 vezes os valores de referência.

### **Arginase (Arg)**

Esta enzima apresenta aumento de atividade após uma injúria aguda do fígado, retornando aos valores normais mais rapidamente do que a ALT e AST. Em hepatites necróticas crônicas, pode manter níveis elevados, com um mau prognóstico para o animal. A arginase já foi demonstrada em várias espécies, mas pode ter valor diagnóstico em equinos, bovinos, ovinos, caprinos e cães.

Atualmente, não é usada na rotina laboratorial por falta de kit comercial disponível.

### **Aspartato aminotransferase (AST)**

A AST (anteriormente chamada de transaminase glâmico-oxalacética – GOT)

catalisa a transaminação reversível de aspartato e 2-cetoglutarato em oxalacetato e glutamato. Tem como cofator o piridoxal-fosfato. Existe em muitos tecidos como duas isoformas, no citosol e na mitocôndria, sendo mais abundante no fígado, nos eritrócitos e nos músculos esquelético e cardíaco. Seu uso é como indicador de danos nesses tecidos.

Aumento de AST são observados em hepatite infecciosa e tóxica, cirrose, obstrução biliar e fígado gorduroso. Seu nível também está aumentado quando ocorre hemólise, deficiência de selênio/vitamina E e no exercício físico intenso. Em lesões musculares, convêm conferir também a atividade de CK. A AST é usada para avaliar condicionamento físico em animais de esportes. Também, em suínos, pode ser indicador da capacidade de suportar estresse por transporte (teste de halotano).

Em ruminantes, a AST é boa indicadora do funcionamento hepático. Assim, seus níveis sanguíneos são utilizados em vacas no pré-parto para prevenir doenças metabólicas durante o pós-parto, especialmente em vacas de alta produção leiteira. Vacas com altos valores de AST antes do parto têm mais tendência a sofrer problemas de infertilidade, paresia de parto e retenção de placenta do que vacas com baixos valores. Valores altos de AST e baixos de colesterol e de albumina revelam, com razoável certeza, transtornos na função hepática.

Em aves e outros animais, a AST pode indicar toxicidade por ionóforos usados como drogas anticoccidiais.

AST pode estar elevada na intoxicação crônica pelo cobre nos ovinos. Plantas hepatotóxicas que causem necrose hepática, como *Cestrum parqui* e *Xanthium cavalinensis*, são causas possíveis de aumento da AST. *Senna occidentalis* e outras que causam extensa necrose muscular podem ter o mesmo efeito.

A deficiência de vitamina E e selênio pode causar necrose segmentar dos músculos esqueléticos (doença do músculo branco), incrementando a atividade de AST no plasma. Nesses casos, pode ser interessante avaliar conjuntamente a creatina quinase, que é mais específica para lesão muscular, e a glutathion peroxidase, para avaliar a carência de selênio.

AST pode ser usada para avaliar lesão hepática em pequenos animais da mesma forma que a ALT, porém com uma especificidade muito menor. Na avaliação de lesão muscular, ela produz aumentos menores do que a creatina quinase, os quais se estendem, porém, por um período de tempo maior.

AST, por ser uma enzima mitocondrial e citossólica, necessita uma lesão maior para ser liberada na corrente sanguínea. Por outro lado, CK e LDH, por serem citossólicas e de tamanho pequeno, conseguem ultrapassar a membrana celular, mesmo que não exista um dano tecidual muito grande. Na realidade, um simples aumento de permeabilidade de membrana é suficiente para que ocorra o extravasamento da enzima.

Lesões no músculo cardíaco também são demonstradas pelo aumento da AST. Cardiomiopatias diversas podem causar este efeito, assim como endocardites bacterianas, dirofilariose, trombose aórtica e infarto do miocárdio. Quando estiver presente congestão hepática por problema cardíaco, a enzima provavelmente estará elevada devido ao fígado congesto.

O aumento da AST sérica pode ocorrer em patologias de localização no sistema nervoso central. Quando isso ocorrer, sugere uma grande lesão do parênquima e um prognóstico ruim.

## **Colinesterase (ChE)**

Existem duas enzimas conhecidas por este nome, a acetilcolinesterase (AChE) ou

colinesterase verdadeira, e a butirilcolinesterase (ButChE), ou pseudocolinesterase. No plasma, encontram-se maiores níveis da pseudocolinesterase (butiril-colinesterase) do que da ChE verdadeira (acetil-colinesterase), mas os níveis de ambas são paralelos e indicativos um do outro, tendo os mesmos inibidores e ativadores.

A ChE é uma enzima integrante da junção mioneural, da substância cinzenta do cérebro que catalisa a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina em colina e acetato. Entre os mais importantes inibidores desta enzima, estão os organofosforados, cujo grupo fosforil se une irreversivelmente à ChE, permitindo a ação contínua da acetilcolina e causando tremores e convulsões.

O significado clínico da ChE é quando se observam níveis menores do que o normal, por exemplo, na intoxicação com organofosforados ou em lesão hepática. Níveis baixos de ChE também são observados em animais anêmicos ou mal alimentados. Aumentos da ChE são vistos em lesões cerebrais (abscessos) ou em hiperlipoproteinemia.

A intoxicação por organofosforados causa uma inibição relativamente estável da enzima, enquanto aquela causada por carbamatos é muito lábil. A acetilcolinesterase serve para fazer o diagnóstico diferencial entre as substâncias tóxicas, uma vez que não tem uma relação muito grande com a gravidade dos sinais clínicos. A avaliação da atividade da acetilcolinesterase varia muito com o tempo e quantidade do produto ingerido. Como a AChE é encontrada em quantidades muito pequenas no plasma, normalmente avalia-se a atividade enzimática da ButChE como indicador da atividade enzimática da AChE na junção mioneural.

## **Creatina quinase (CK)**

A CK, também conhecida como creatina fosfoquinase (CPK), existe na forma díme-

ros, cujas subunidades pesam 40 kD. As subunidades correspondem a formas M (muscular) ou B (cerebral), havendo 3 isoenzimas (MM, MB e BB). Em medicina veterinária, a determinação das isoenzimas de CK ainda não tem utilidade prática, embora seja comum na medicina humana.

A principal atividade da CK está no tecido muscular (esquelético e cardíaco), tendo como função fosforilar de forma reversível a creatina a expensas do ATP, como uma forma adicional de conservação de energia em ligações fosfatadas. Além do tecido muscular, a CK pode estar localizada, em menor quantidade, no rim, cérebro, diafragma, trato gastrointestinal, útero e bexiga.

A CK é amplamente usada para diagnosticar transtornos musculares. A enzima é citosólica ou associada às estruturas das miofibrilas. Requer  $Mg^{2+}$  como cofator e, portanto, sua atividade pode estar inibida na presença de compostos quelantes (EDTA, citrato, oxalato). Seu nível está aumentado no infarto cardíaco e em danos musculares, como isquemia muscular por decúbito prolongado, convulsões, tremores, traumas, excesso de exercício, necrose, cirurgias, injeções intramusculares, choque e miopatias nutricionais que envolvam deficiência de vitamina E e selênio.

Em problemas musculares, é conveniente dosar também AST. A CK aparece elevada antes da AST e também desaparece primeiro. Assim, o padrão enzimático dessas enzimas pode indicar o estágio do problema. CK aumentada com baixa AST indica lesão recente, níveis persistentemente altos das duas indicam lesão continuada, enquanto que níveis baixos de CK e altos de AST indicam processo de recuperação.

Cães com leptospirose apresentam a atividade sérica da CK aumentada, o que sugere uma extensa degeneração muscu-

lar, explicando as dores observados na clínica veterinária.

Incremento de CK ocorre em bovinos transportados por longos períodos. Este aumento ocorre pelo esforço físico a que são submetidos os animais. O esforço do parto também é um fator de aumento da CK, assim como o exercício de cavalos de corrida.

O uso da isoenzima CK-MB não é um indicador confiável de lesão cardíaca em cães, diferentemente do que ocorre com humanos. Isso acontece porque a meia-vida da CK-MB canina é muito curta e, dessa forma, raramente a isoenzima pode ser avaliada a tempo.

### **Fosfatase ácida (AcP)**

Enzima da família das fosfatases, que hidrolisam ésteres do ácido fosfórico. A AcP tem a sua atividade ótima a pH menor de 7,0. Tem localização intra e extralisossômica, atuando principalmente em próstata, fígado, baço, leite, células sanguíneas e sêmen.

Em humanos, a enzima tem sua atividade sérica aumentada em doenças prostáticas (hipertrofia, prostatite e carcinoma), além de algumas doenças ósseas e hematológicas. Em medicina veterinária, ainda não existem resultados conclusivos a respeito de doenças prostáticas e a atividade sérica da AcP.

### **Fosfatase alcalina (FA)**

Foi a primeira enzima utilizada na clínica por King e Armstrong em 1927. A FA catalisa a hidrólise de ésteres de ácido fosfórico em condições alcalinas, tendo um pH ótimo de atividade in vitro de 10. Como nenhuma célula possui esse pH, acredita-se que o pH intracelular exerce um importante controle sobre a atividade desta enzima.

Existem várias isoenzimas de FA em praticamente todos os tecidos, estando localizada na membrana celular. Tem maior presença nas células do epitélio intestinal, osso, fígado, túbulos renais e placenta. Todas as isoenzimas de FA são dímeros cujas cadeias pesam de 40 a 70 kD. São metaloenzimas que contêm  $Zn^{2+}$  e têm como cofator o  $Mg^{2+}$ . Existe uma isoenzima induzida por corticosteroide em cães.

A concentração sérica de FA é 2 a 3 vezes maior em animais jovens do que em adultos. Em gestantes, o aumento pode ser de 300 % do normal, devido a sua presença na placenta. A isoforma hepática da FA é a que predomina no plasma, tendo maior importância em doença hepatobiliar. Assim, na colestase, ocorre aumento da concentração de FA, de forma que quanto maior a atividade da FA, maior o grau de obstrução biliar. Em danos do parênquima hepático, o aumento de FA é de baixo a moderado. Os felinos possuem uma menor quantidade hepatocelular de fosfatase alcalina, e é rapidamente eliminada pelos rins. Além disso, nessa espécie, nem toda hepatopatia significativa causa um aumento significativo da enzima. Em cães, a hepatopatia, que causa aumento da fosfatase alcalina, cursa com colestase. A obstrução biliar extra-hepática, assim como a indução por corticosteroides, pode aumentá-la em até 10 vezes. Necrose hepatocelular geralmente cursa com aumento transitório da fosfatase alcalina.

A isoforma renal não está presente no plasma. Quando há dano renal, a FA aparece na urina junto com a enzima GGT.

FA é de pouca importância em doenças hepáticas em cavalos e ruminantes devido aos amplos intervalos normais de concentração nesses animais. Também pode estar aumentada em casos de osteomalácia, hiperparatireoidismo, tumor ósseo, cicatrização de fraturas, deficiência de vitamina D, raqui-

tismo, hiperadrenocorticismo, gestação e retenção de placenta. Como a FA está presente no leite cru, serve como marcador da pasteurização e da inativação por calor.

A isoenzima de FA induzida por corticosteroide pode estar presente nos cães com hiperadrenocorticismo, cães em tratamento, ou secundário a doenças prolongadas pelo efeito do estresse. Além dos corticosteroides, outras drogas induzem ao aumento da fosfatase alcalina, entre as quais se citam barbitúricos, cefalosporinas, fenobarbital, fenotiazinas, fenilbutazona, tetraciclina, tiabendazol e halotano.

FA de origem óssea pode estar aumentada em animais jovens, em consolidação de fraturas, hiperparatireoidismo, osteossarcoma, osteomalácia ou na deficiência de vitamina D. Os animais castrados apresentam uma maior atividade da enzima do que os inteiros.

### **$\gamma$ -Glutamil transferase (GGT)**

A GGT catalisa a transferência de grupos gama-carboxila do glutamato a um peptídeo, geralmente o dipeptídeo Gly-Gly. É também conhecida como gama-glutamil transpeptidase. Encontra-se como enzima associada às membranas, mas também está no citosol, especialmente nos epitélios dos dutos biliares e renais, embora possa ser encontrada no pâncreas e no intestino delgado, mas somente aquela de origem hepática é normalmente encontrada no plasma, pois a de origem renal é excretada na urina.

Seu peso molecular varia de 90 a 350 kD, dependendo da espécie. A função da GGT não está muito bem esclarecida, mas acredita-se que está relacionada com o metabolismo do glutation. A GGT do plasma é de origem hepática, sendo indicativa de colesta- ses e proliferação de dutos biliares em todas as espécies, aumentando também na cirrose

e no colangiocarcinoma. Em felinos, mas não em cães, pode ser utilizada no lugar da fosfatase alcalina, com maior sensibilidade e especificidade para o fígado. Por isso é mais utilizada em gatos do que em cães.

Em cães, pode ser induzida pelo tratamento com prednisolona, sem causar colestase. Em filhotes de cão, a GGT pode atingir valores de até 25 vezes o valor de referência para cães adultos.

A GGT urinária provém da GGT renal e é indicativa de dano renal.

O nível de GGT é muito baixo em cães e gatos, comparado com os níveis nos ruminantes. Os níveis desta enzima podem estar aumentados, também, em neonatos após o consumo de colostro, fato que pode servir de marcador da ingestão de colostro, principalmente em bezerros recém-nascidos, embora com menor eficiência do que a imunoglobulina G. Os níveis de GGT começam a diminuir no soro, e aos 21 dias estabilizam.

Em bovinos, relata-se elevação da atividade da GGT em vacas leiteiras com lipidose hepática e em animais infestados com *Fasciola hepatica*, nos quais os níveis de GGT estão aumentados cerca de 6 semanas após a infecção.

### **Glutamato desidrogenase (GLDH)**

A glutamato desidrogenase é uma enzima mitocondrial, encontrada principalmente no fígado e no rim, e em menor extensão, no músculo cardíaco e em outros tecidos. É considerada uma enzima hepatoespecífica. Em ruminantes, principalmente, esta enzima é um importante indicador de necrose hepática ou obstrução do ducto biliar. Quanto maior a sua atividade plasmática, maior o dano hepático.

Durante processos inflamatórios, como hepatite ou cirrose, esta enzima, comparada

com a ALT, tem um pequeno aumento na sua atividade plasmática, devido a sua localização mitocondrial. Podem ser observados grandes aumentos na sua atividade em doenças hepáticas causadas por agentes hepatotóxicos.

### **Glutation peroxidase (GSH-Px)**

É uma enzima intracelular presente nos eritrócitos, que contém 4 átomos de selênio por molécula. A GSH-Px representa mais de 75 % do selênio sanguíneo. O fato de existir uma boa correlação entre a atividade enzimática nos eritrócitos e a concentração de selênio, faz com que a GSH-Px seja usada para avaliar a deficiência deste mineral. Como a enzima é intracelular, ela é avaliada como unidades por miligrama de hemoglobina (U/mg de Hb).

A deficiência de selênio é conhecida por estar relacionada a uma maior incidência de mastite, degeneração testicular, imunossupressão, aborto, retenção de placenta, miopatia cardíaca, doença dos músculos brancos entre outras. A GSH-Px pode ser usada para avaliar a melhor forma de suplementar o mineral e sua resposta ante doenças e correlação com ganho de peso.

Animais deficientes em selênio, quando submetidos a esforços físicos intensos, têm uma maior lesão tecidual e por consequência um nível mais elevado de outras enzimas como a AST, CK e LDH.

### **Lactato desidrogenase (LDH)**

A LDH catalisa a oxidação reversível do lactato para piruvato com o cofator NAD<sup>+</sup>. Existem, como mínimo, 5 isoenzimas, estando compostas por tetrâmeros, cujos protômeros são de 2 tipos (H e M) com pesos moleculares aproximados de 35 kD. A con-

centração de LDH nos eritrócitos é 150 vezes maior do que no plasma. Portanto, uma hemólise leve é detectada por aumento nos níveis desta enzima no soro. A análise eletroforética das isoenzimas revela danos tissulares específicos. Existem cinco isoenzimas conhecidas de LDH, que não são comumente analisadas nos laboratórios veterinários.

Lesões musculares de etiologias variadas podem estar relacionadas ao aumento da LDH. Deficiência de vitamina E e selênio e a mioglobínúria são causas de aumento de LDH. Em cavalos de salto, a LDH aumentou imediatamente após o exercício e se manteve elevada após 24 horas, diferente da CK, que teve um pico após o exercício, mas voltou aos valores basais após um dia.

Por se apresentar como um bom indicador de lesão muscular, LDH se usa em conjunto com CK e AST para monitorar a intensidade de exercício em cavalos.

A LDH pode ser utilizada para avaliar cardiomiopatias diversas (isquemia, endocardite bacteriana, dirofilariose, trombose aórtica e infarto do miocárdio). A LDH aumenta menos rapidamente do que a CK, mas também mantém os valores elevados por mais tempo. Após o infarto agudo do miocárdio, em humanos, a LDH atinge valores acima da referência após 16 horas, atingindo valores máximos em 40 horas e mantendo a atividade elevada por até 8 dias.

Em medicina humana, é comum analisar a isoenzima LDH1, e comparar com os valores de outras isoenzimas para avaliar o infarto do miocárdio. LDH1, que normalmente não ultrapassa 40 % da atividade total, após o infarto pode atingir a proporção de 50 a 60 % da atividade total. Além disso, ela costuma estar em menor quantidade que a LDH2, situação que se inverte após o infarto.

A LDH também pode ser utilizada em casos de meningite bacteriana. Nesses casos,

ocorre um incremento da isoenzima LDH5 e um pequeno aumento da LDH4.

### **Lipase (LIP)**

A lipase catalisa a hidrólise de triglicerídeos liberando 2 ácidos graxos e um 2-monoglicerídeo. A lipase pancreática é a mais abundante de todas as lipases no plasma. Sua presença elevada no soro é indicativo de pancreatite, especialmente em cães, mas seu uso tem sido substituído pela amilase, devido aos custos de análise. Os níveis de colipase (cofator da lipase pancreática) são importantes na análise. Como a colipase é excretada no rim e a lipase não, um dano renal pode produzir um aumento na atividade da lipase sérica.

### **Sorbitol desidrogenase (SDH)**

A SDH catalisa a oxidação reversível de sorbitol para fructose, tendo como cofator o NAD<sup>+</sup>. Seu peso molecular é de 95 kD e aparece exclusivamente no citosol dos hepatócitos. Seu incremento no plasma revela dano hepático. É especialmente instável no soro equino, onde sua atividade só dura 1-2 dias depois de ser obtida a amostra. É mais usada em ruminantes e em cavalos do que em cães e gatos.

### **Tripsina (TR)**

A tripsina é sintetizada pelas células acinares do pâncreas, sob a forma de uma pró-enzima inativada, denominada tripsinogênio, a qual é secretada no duodeno através do suco pancreático. No trato gastrointestinal, o tripsinogênio é convertido pela enteroquinase em tripsina, enzima que participa da proteólise de proteínas e peptídeos produzindo aminoácidos. No plasma, fatores antitripsina-



na estão presentes para proteger as proteínas plasmáticas da hidrólise pela tripsina e sua entrada na circulação vascular. Ela pode estar na forma de tripsina, tripsinogênio ou do complexo antitripsina. Um tipo de imunoenensaio específico é capaz de detectar as três formas de tripsina, e é chamado de TLI (*trypsin-like immunoreactivity* ou imunorreatividade semelhante à tripsina).

A técnica é mais utilizada em cães, doando no plasma com jejum de doze horas. Uma concentração plasmática baixa de tripsina está relacionada com insuficiência pancreática exócrina. Níveis elevados de tripsina são observados em casos de pancreatite aguda.

### Outras enzimas

Algumas outras enzimas podem ser utilizadas na medicina veterinária. No entanto, devido aos custos elevados, dificuldade de realizar os testes ou à baixa especificidade que oferecem, acabam substituídas por outras enzimas. É o caso da aldolase, enzima que tem uma boa especificidade por lesões no fígado e nos músculos esquelético e cardíaco. A sua atividade sérica pode estar aumentada em hepatites virais, tumores hepáticos, infarto do miocárdio e lesões dos músculos esqueléticos. A dificuldade de realizar o ensaio de determinação da atividade da aldolase faz com que seja substituída por outros testes mais fáceis e rápidos, como a AST, ALT, CK e LDH.

A piruvato quinase (PK) pode ser utilizada para avaliar lesões musculares. A enzima pode auxiliar na identificação de suínos homozigotos para hipertermia maligna.

A transcetolase é uma enzima intraeritrocitária que pode estar aumentada em casos de necrose cerebrocortical ou na acidose láctica nos bovinos.

## PERFIS BIOQUÍMICOS ESPECÍFICOS

Na avaliação de sistemas específicos, o perfil metabólico oferece uma ferramenta de diagnóstico importante no funcionamento dos tecidos hepático (Quadro 2), renal (Quadro 3), pancreático (Quadro 4), ósseo (Quadro 5) e muscular (Quadro 6). Outras aplicações do perfil bioquímico sanguíneo são consideradas a seguir.

### Perfil bioquímico no exercício

No exercício, o organismo sofre uma série de respostas metabólicas, dentre as quais cabe mencionar as seguintes:

- (1) Aumento da capacidade de oxigenação do sangue mediante aumento da frequência respiratória e contração esplênica, que leva a aumentar o número de eritrócitos no sangue (aumento de hematócrito e de hemoglobina).
- (2) Aumento da produção de ácido láctico, quando o metabolismo passa de aeróbico a anaeróbico; o ácido láctico, por sua vez, pode afetar a permeabilidade das membranas celulares, especialmente das células musculares e algumas enzimas podem vazar para o sangue, principalmente creatina quinase.
- (3) Desidratação, devido à perda de água no suor e na respiração.
- (4) Mudanças no equilíbrio acidobásico, processo no qual intervêm dois fatores: (a) hiperventilação que causa uma queda da concentração de  $\text{CO}_2$  e tendência à alcalose; (b) aumento de ácido láctico com tendência à acidose. As mudanças no equilíbrio vão depender da duração e intensidade do exercício e da adaptação do animal. Um animal melhor treinado tem menor aumento de ácido láctico e maior capacidade de oxigenação.

O uso do perfil metabólico para avaliar a adaptação ao exercício deve incluir a es-

QUADRO 2 – METABÓLITOS SANGUÍNEOS INDICADORES DO FUNCIONAMENTO HEPÁTICO

<b>Metabólito</b>	<b>Comentário</b>
Alanina aminotransferase (ALT)	Enzima específica para diagnóstico de insuficiência hepática em pequenos animais.
Aspartato aminotransferase (AST)	O aumento desta enzima no plasma indica insuficiência hepática aguda em diversas espécies; não é muito específica, pois pode indicar também problemas musculares, entre outros; mais usada em grandes animais.
Fosfatase alcalina (FA)	Enzima pouco específica; sua atividade está aumentada principalmente em casos de obstrução biliar.
Gamaglutamil transferase (GGT)	Seu aumento no plasma é indicativo de insuficiência hepática crônica (tumor, colestase).
Sorbitol desidrogenase (SDH)	Enzima específica para o diagnóstico de insuficiência hepática em equinos e ruminantes.
Bilirrubina total	Seus níveis estão aumentados no plasma, quando ocorre redução da função hepatocelular ou obstrução do trato biliar.
Amônia	Seus níveis estão aumentados no sangue devido à incapacidade do fígado de transformá-la em ureia, no caso de insuficiência hepática grave e desvios porto sistêmicos.
Ureia	Em caso de insuficiência hepática, seus níveis estão diminuídos devido à incapacidade de síntese a partir de amônia.
Albumina	O fígado lesado não consegue sintetizar a albumina necessária para manter o equilíbrio osmótico do plasma, ocorrendo hipoalbuminemia, que pode levar a edema ou ascite.
Glicose	Com lesão do fígado haverá diminuição da glicemia devido à redução das reservas de glicogênio e a incapacidade do fígado de efetuar a gliconeogênese adequadamente.
Colesterol	Frequentemente se encontra aumentado em doenças hepáticas, sendo um achado acidental não específico. Entretanto, é comum observar diminuição do colesterol sanguíneo em insuficiência hepática, devido à incapacidade de síntese por parte do fígado.
Ácidos biliares	Em lesão do fígado pode ocorrer aumento de seus níveis em decorrência da redução da extração de ácidos biliares do sangue pelas células hepáticas. Também pode haver aumento em casos de obstrução biliar.

tandardização de valores referenciais para a raça, o sexo e a idade dos animais. Os melhores indicadores de adaptação ao exercício são o ácido láctico e as enzimas CK, AST e LDH. Em geral, animais mais bem adaptados têm menores aumentos de ácido láctico e de enzimas e retorno mais rápido aos valores basais após corridas ou exercícios fortes.

Em exercícios de longa duração acentua-se o risco de desidratação, a qual é mais bem indicada pela concentração de proteínas totais do que pelo hematócrito, o qual pode aumentar pela contração esplênica, além da desidratação. Também em corridas longas pode ocorrer aumento do potássio por dano nas células musculares, diminui-

QUADRO 3 – METABÓLITOS SANGUÍNEOS INDICADORES DO FUNCIONAMENTO RENAL

<b>Metabólito</b>	<b>Comentário</b>
Albumina	É a principal fração proteica que se perde nos rins em casos de glomerulonefrites e doenças glomerulares primárias, levando à hipoalbuminemia.
Ureia	Este metabólito é excretado quase totalmente pelo rim; altos níveis no plasma podem estar relacionados com filtração renal insuficiente.
Creatinina	Metabólito mais específico de diagnóstico de função renal alterada. É excretado pelos rins e, por isso, altos níveis plasmáticos indicam deficiente função renal.
Relação Albumina/ Globulinas	Em doenças glomerulares, ocorre diminuição da relação A/G por perda de albumina nos rins.
Cálcio	No hiperparatireoidismo secundário de origem renal, pode ocorrer hipocalcemia.
Potássio	Altos níveis no plasma são encontrados em problemas da função glomerular; níveis baixos no plasma estão associados com problemas nos túbulos renais ou na nefrite intersticial crônica.
Fósforo	Seus níveis séricos estão aumentados quando há insuficiente filtração renal, o que pode levar a um hiperparatireoidismo secundário de origem renal.
Fibrinogênio	Seu aumento está relacionado com amiloidose renal.
Fosfatase alcalina (FA) e gamaglutamil transferase (GGT)	A isoforma renal da FA não está presente no plasma; quando há dano renal, a FA aparece na urina junto com a GGT.

QUADRO 4 – METABÓLITOS SANGUÍNEOS INDICADORES DO FUNCIONAMENTO PANCREÁTICO

<b>Metabólito</b>	<b>Comentário</b>
Amilase	Níveis extremamente elevados são encontrados no estágio inicial de uma pancreatite aguda; níveis baixos estão relacionados com insuficiência pancreática exócrina.
Lipase	É considerada a melhor enzima para o diagnóstico de pancreatite por ser menos afetada por outros fatores do que a amilase e por se manter elevada por longo período.
Tripsina imunoreativa	Seus níveis aumentam na disfunção do pâncreas.
Cálcio	A hipocalcemia é frequente achado na pancreatite aguda devido ao aumento de ácidos graxos, por ação da lipase, que se combinam com o Ca tornando-o insolúvel no plasma.
Colesterol	Seus níveis estão aumentados na disfunção pancreática devido à elevação das lipoproteínas de alta e baixa densidade no plasma.
Triglicerídios	Podem aumentar no plasma, na insuficiência pancreática, devido à pouca liberação de lipase pelo pâncreas.
Glicose	Pode estar com níveis aumentados na pancreatite por aumento da secreção de glucagon.
Albumina	Níveis diminuídos no plasma em casos avançados de insuficiência pancreática por falhas na absorção de aminoácidos.

QUADRO 5 – METABÓLITOS SANGUÍNEOS INDICADORES DO FUNCIONAMENTO ÓSSEO

<b>Metabólito</b>	<b>Comentário</b>
Fosfatase alcalina (FA)	O aumento da atividade osteoblástica causa elevações na atividade plasmática desta enzima em cães e gatos. Doenças como hiperparatireoidismo e osteossarcoma, bem como processos de cicatrização óssea e de crescimento, envolvem maior atividade osteoblástica.
Cálcio	Hipercalcemia é comum em casos de osteoporose, tumores ósseos osteolíticos, hiperparatireodismo primário e pseudo-hiperparatireoidismo.
Fósforo	Está diminuído em casos hiperparatireodismo primário e pseudo-hiperparatireoidismo, e aumentado em casos de tumores ósseos osteolíticos, hipotireodismo e hiperparatireoidismo secundário.
Relação Ca/P	Sempre que a relação estiver alterada (normal é 2:1), é indício de uma predisposição a patologias ósseas.

QUADRO 6 – METABÓLITOS SANGUÍNEOS INDICADORES DO FUNCIONAMENTO MUSCULAR

<b>Metabólito</b>	<b>Comentário</b>
Creatina quinase (CK)	É a enzima mais específica para diagnóstico de dano muscular. Níveis extremamente altos no plasma são observados logo após uma lesão muscular.
Aspartato aminotransferase (AST)	Aumenta concomitantemente com a CK quando ocorrem danos musculares.
Lactato desidrogenase (LDH)	Enzima menos específica que fica com níveis elevados vários dias após a lesão muscular.
Mioglobina	Dano muscular pode resultar em mioglobinemia. Quando a concentração no plasma excede a 20 mg/dL, a mioglobina começa a aparecer na urina (mioglobinúria).
Creatinina	Pode estar aumentada em transtornos que aumentem o catabolismo muscular devido à liberação de creatina, composto precursor de creatinina.
Piruvato quinase (PK)	Enzima que pode estar moderadamente aumentada quando ocorre dano muscular.
Cálcio	Hipocalcemia pode estar associada com tetania em cadelas, no período de gestação ou lactação, ou com paralisia muscular após o parto em vacas leiteiras.
Fósforo	Em períodos prolongados de paralisia muscular, pode ocorrer hipofosfatemia.
Magnésio	Hipomagnesemia está associada a tetanias hipocalcêmicas em cadelas, principalmente.
Selênio (GSH-Px)	A deficiência crônica de Se está associada à distrofia muscular. O diagnóstico pode ser feito mediante dosagem da enzima glutatión peroxidase nos eritrócitos.
Potássio	Pode ocorrer hipercalemia na degeneração ou necrose muscular por liberação do K intracelular. Hipocalemia ocorre associada a períodos prolongados de paralisia muscular.

ção do cloro por perda no suor, aumento de ácidos graxos livres e diminuição da glicose por gasto energético e aumento do fósforo por defosforilação de compostos energéticos. Além disso, como o exercício aumenta a peroxidação das membranas celulares, a demanda de vitamina E/selênio aumenta, tornando-se metabólitos que podem limitar a *performance* do exercício. O transporte prolongado causa as mesmas mudanças metabólicas que o exercício exagerado.

### **Perfil bioquímico no crescimento**

O crescimento é um processo multifatorial que envolve muitas possíveis limitações. A multiplicação das células demanda de muitos metabólitos, e a limitação de um deles pode diminuir ou ainda deter o processo integral de crescimento.

Mediante o uso do perfil metabólico podem ser detectadas anormalidades metabólicas limitantes, embora não exista um indicador específico que detecte uma possível superioridade de um animal para o crescimento. O uso do perfil metabólico para avaliar o crescimento exige levar em consideração o manejo e o tipo de alimentação.

Os animais possuem uma marcada individualidade para o crescimento, e essa diferença pode ser devido simplesmente ao apetite. Se o animal come mais, tem melhor crescimento. Assim, a avaliação da capacidade para crescer pode ser medida pelo consumo de alimento. Entretanto, alguns indicadores bioquímicos podem estar relacionados com o crescimento.

Os tecidos em crescimento demandam proteína e energia adicionais. A deficiência desses nutrientes causará falhas no crescimento. Encontram-se correlações positivas entre a concentração de glicose sanguínea e a taxa de crescimento. Aqueles animais que

conseguem manter níveis de glicose normais, apesar de limitações de energia na dieta, seriam superiores fisiologicamente àqueles com menor glicemia nas mesmas condições.

A deficiência de sódio e, eventualmente, a hiponatremia podem causar falhas digestivas e indiretamente diminuição do apetite. O cobalto, ligado à produção de eritrócitos, e o ferro, ligado à produção de hemoglobina, podem afetar indiretamente o crescimento quando ocorrem deficiências desses minerais, especialmente em bezerros e leitões, pois a anemia está vinculada a baixo crescimento. O zinco é um elemento cuja deficiência mostra tipicamente falhas no crescimento. O cobre parece não afetar a taxa de crescimento.

Por enquanto, não existem indicadores bioquímicos do sangue que possam ser utilizados para selecionar animais geneticamente superiores em termos de crescimento, embora exista alta herdabilidade das concentrações de alguns metabólitos, especialmente hemoglobina, glicose e potássio, todos eles relacionados com a taxa de crescimento. Os fatores que intervêm no crescimento são tão múltiplos que o resultado supera a herdabilidade de uns poucos metabólitos.

### **Perfil bioquímico no diagnóstico e prognóstico de doenças**

A hipoglobulinemia em animais neonatos que receberam pouco colostro pode ser detectada mediante perfil metabólico, o que permite tomar providências para evitar complicações devido ao aumento da suscetibilidade a sofrer infecções, especialmente diarreias por colibacilose. O estado hipoproteínêmico da mãe ao final da gestação é uma das causas do baixo nível de imunoglobulinas no colostro, e isso também pode ser detectado pelo perfil metabólico da mãe antes do parto.

Nos animais neonatos com problemas de baixas defesas, observa-se, além da hipoglobulinemia, tendência à hipoglicemia, especialmente antes de os sinais clínicos aparecerem.

A desidratação que ocorre durante um quadro de diarreia pode ser avaliada mediante o perfil metabólico. Um hematócrito acima de 55 % indica grave comprometimento da vida do animal, ureia elevada (> 100 mg/dL) é de mau prognóstico, a hipercalemia e a hiperfosfatemia, devido à saída de K e P das células danificadas, podem indicar a iminência de um colapso.

Outras deficiências detectadas mediante o perfil metabólico podem ser tratadas em animais antes de ocorrerem os sinais clínicos. A deficiência de Zn causa diminuição da competência imunológica, aumentando a probabilidade de infecções, especialmente em animais jovens. Em carneiros consumindo pastagens com menos de 100 ppm de Zn, observam-se níveis sanguíneos de Zn abaixo do limite inferior que pode causar predisposição a infecções e morte. Deficiências causadoras de doenças graves em animais jovens e que podem ser detectadas mediante o perfil metabólico incluem também: deficiência de selênio/vitamina E mediante nível de glutathione peroxidase (GSHPx), deficiências de fósforo e de sódio e deficiências de iodo, mediante a medição de tiroxina.

Com relação à cetose das vacas leiteiras, a questão é: pode o perfil metabólico ser utilizado para prever o problema? Os eventos metabólicos mais importantes na cetose manifestam-se na hipoglicemia e na elevação dos corpos cetônicos, tanto no sangue quanto no leite e na urina. O nível de ácidos graxos livres também se eleva, e o fígado pode sofrer alterações lipídicas. Uma informação importante para avaliar a evolução da doença são os níveis das enzimas hepatoespecíficas, bem como o nível de albumina que decai com a diminuição

da função hepática. Por outra parte, antes de os sinais clínicos aparecerem, o nível dos corpos cetônicos, entre eles o mais importante, o BHB, aumentam. Os sinais clínicos podem ser observados quando o BHB ultrapassa 1,0 mM. Outro corpo cetônico, o acetoacetato, também é considerado como bom indicador. Concentrações de até 0,35 mmoles/L se consideram normais, níveis entre 0,36 e 1,05 mmoles/L são compatíveis com cetose subclínica, e acima de 1,05 mmoles/L indicam doença clínica. A cetose clínica pode ser então previsível combinando os valores de corpos cetônicos e glicose. É possível também acompanhar a evolução da doença através dos níveis de corpos cetônicos no leite ou na urina. Considera-se que os níveis de corpos cetônicos no leite correspondem a 35-50 % dos valores no sangue.

No caso da febre do leite, sendo uma doença de apresentação aguda, não existe teste sanguíneo que possa prever. Entretanto, mediante o perfil metabólico, podem ser detectados fatores predisponentes da doença e, uma vez esta sofrida, pode ser avaliado o prognóstico. Entre os fatores predisponentes à febre do leite, os desequilíbrios minerais podem ser avaliados mediante o perfil metabólico, especificamente a situação do Mg e da relação Ca:P.

A deficiência de Mg é a mais importante causa predisponente para a febre do leite. A maioria das vezes a hipomagnesemia não se apresenta clinicamente, mas de forma crônica subclínica, atacando as vacas logo após o parto. A incidência de hipomagnesemia aumenta nas épocas em que o pasto é fertilizado com K, pois esse mineral inibe a disponibilidade de Mg no animal. Também em épocas de produção de pastagem ou forragem de má qualidade, como no inverno, os níveis de Mg caem perigosamente. Mediante o perfil metabólico pode se acompanhar o estado magnésêmico do rebanho a fim de manter níveis de segurança de 0,85 mmoles/L e suplementar quando for o caso.

O desequilíbrio da relação Ca:P se refere ao aumento da relação seja por deficiência de P ou por excesso de Ca. Uma relação Ca:P maior de 3,8:1 pode provocar inibição da secreção de hormônio paratireoídiano (PTH) e aumento da secreção de calcitonina. Assim, o efeito sobre o metabolismo de uma relação Ca:P alta é a diminuição da mobilização das reservas de Ca e o aumento da predisposição a sofrer febre do leite. Conhecendo o estado mineral mediante o perfil metabólico, podem ser tomadas as providências do caso antes do parto.

Nas vacas acometidas pela febre do leite, o perfil metabólico pode ajudar no prognóstico. Sabendo que o dano muscular é o principal responsável da falta de recuperação da febre do leite e é o fator que causa a síndrome da vaca caída, podem ser analisados os níveis das enzimas do músculo, principalmente AST e CK. Altos níveis enzimáticos revelam extenso dano muscular com poucas probabilidades de recuperação. A proporção de recuperação das vacas com febre do leite mediante uma única injeção intravenosa de borogliconato de cálcio é da ordem de 65 %. A recuperação das demais vai depender da resposta metabólica e, principalmente, do dano muscular.

Outros fatores predisponentes à febre do leite, como estase alimentar, alcalose, raça, peso, produção de leite, não podem ser avaliados mediante o perfil metabólico.

Outros transtornos minerais que podem ser detectados mediante o perfil metabólico incluem a urolitíase e doenças ósseas. A formação de cálculos na urina depende de uma combinação de circunstâncias que envolvem desequilíbrios minerais resultantes de dieta, observáveis com o perfil metabólico apropriado. Nos ruminantes, que possuem uma urina normalmente alcalina, devido à presença de grandes quantidades de bicarbonato de K, o aumento de P ou Mg por causa de dietas ricas em cereais, provoca queda do

pH na urina com precipitação e formação de cálculos. Os machos são propensos a sofrer mais por ter a uretra mais longa, estreita e convoluta. O perfil metabólico aparece com hiperfosfatemia e hipermagnesemia, com ou sem hipocalcemia. O tratamento consiste na adição de carbonato de Ca no alimento para inibir a absorção de P no intestino.

Entre as doenças ósseas, a osteoporose tem bastante incidência, principalmente em vacas de alta produção leiteira, devido à desmineralização do osso quando se combinam a saída de altas quantidades de Ca no leite, com deficiência de Ca na alimentação por um período relativamente prolongado. O teste sanguíneo para diagnosticar o problema pode incluir Ca, P, Mg e fosfatase alcalina no plasma e prolina na urina. A prolina é um aminoácido abundante na matriz óssea, que pode estar se excretando em excesso quando ocorre osteoporose. Dietas com excesso de P (cereais) podem causar hiperfosfatemia e hipocalcemia e levar à osteoporose. Os animais mais suscetíveis a sofrer osteoporose, além das vacas de alta produção leiteira, são as ovelhas e os cavalos.

A osteopetrose, causada por excesso de consumo de Ca, especialmente em cachorros e touros, leva à excessiva mineralização dos ossos, causando engrossamento do osso e exostose. No perfil sanguíneo, não se observa aumento de Ca, mas, devido à secreção de calcitonina em resposta aos níveis elevados de Ca, o que pode ser detectado no sangue é hipocalcemia e hipofosfatemia com baixa concentração de fosfatase alcalina.

### **Perfil bioquímico na avaliação da fertilidade**

O problema da infertilidade é multifatorial, muitas vezes em relação ao manejo e à alimentação. Entretanto, o perfil metabólico como ferramenta para detectar anormalidades na química sanguínea pode relacionar problemas metabólicos com infertilidade.

Os principais problemas que causam baixa fertilidade nos rebanhos são falhas na detecção de estros e na inseminação no momento certo. O perfil metabólico tem pouco a oferecer com relação a esses problemas. Entretanto, mediante a análise de progesterona no leite, é possível saber se o tempo de inseminação foi correto e pode diagnosticar de forma precoce a gestação. Amostras no dia da inseminação e 21-23 dias; após, revelam se a inseminação foi feita no dia apropriado, quando haverá baixos níveis de progesterona ou se o animal está gestante aos 21-23 dias, quando há altos níveis de progesterona.

Vários metabólitos têm sido estudados em relação com a fertilidade. Entre os mais estudados estão a glicose e a albumina. Com relação à glicose, os resultados são inconsistentes. Às vezes se relaciona a hipoglicemia com infertilidade, às vezes não se encontra relação. Baixos níveis de glicose sanguíneo têm sido indicados como causa de fertilidade reduzida, especialmente em vacas no pós-parto. A hipoglicemia também tem sido responsabilizada por causar anestro, falhas na ovulação e diminuição da taxa de gestação. Sugere-se que exista um nível umbral de glicose abaixo do qual a fertilidade é inibida. De qualquer forma, como nos ruminantes a síntese de glicose depende de um adequado funcionamento hepático, o mais racional deve ser avaliar o fígado mediante os principais indicadores de sua função, conjuntamente com a glicose.

No caso da albumina, sabe-se que fisiologicamente seu nível no sangue pode diminuir após o parto, devendo recuperar-se gradativamente durante o pós-parto. A capacidade dessa recuperação está diretamente relacionada com a reativação ovariana e o potencial de produção leiteira nesse período. A fertilidade na vaca diminui se a concentração de albumina estiver abaixo de 30 g/L. Aquelas vacas que tendem a manter os níveis de al-

bumina mais estáveis têm tendência a serem mais férteis. De qualquer forma, volta-se ao fígado. A lenta recuperação dos níveis de albumina após a queda no parto pode estar relacionada com problemas no funcionamento hepático que diminuem a síntese de albumina e outras proteínas. Por outra parte, vacas com níveis elevados de globulinas geralmente requerem maior número de serviços por concepção, o que pode estar relacionado com estados inflamatórios ou infecciosos.

Muitos trabalhos mencionam a influência negativa que uma inadequada nutrição pode causar sobre a fertilidade. Se o perfil metabólico é capaz de refletir o status nutricional do animal, pode ser usado para diagnosticar ou prevenir transtornos reprodutivos. O déficit energético, que às vezes pode levar a uma cetose, pode afetar também a função hepática, devido à acumulação de corpos cetônicos e à excessiva mobilização de lipídeos, que causa infiltração gordurosa no fígado.

Concentrações elevadas de fósforo, potássio, proteínas totais e ureia têm sido relacionadas com baixa fertilidade em rebanhos bovinos. O excesso de proteínas e de ureia podem causar problemas de sobrevivência embrionária, diminuindo, portanto, a taxa de concepção. O anestro em vacas tem sido relacionado com níveis inadequados de fósforo e de beta-carotenos na dieta. A deficiência de alguns oligoelementos, tais como cobre, selênio e cobalto, têm sido relacionados com infertilidade. Igualmente a diminuição dos níveis de Ca, Mg e Na tem sido apontada como causa de infertilidade.

### **Perfil bioquímico no diagnóstico de problemas nutricionais**

Embora de difícil aplicação, os perfis metabólicos podem ser usados para monitorar o estado nutricional em grupos de animais, principalmente em ruminantes (Quadro 7).



QUADRO 7 – METABÓLITOS SANGUÍNEOS INDICADORES DO STATUS NUTRICIONAL

<b>Metabólito</b>	<b>Comentário</b>
Ureia	Dieta com altos teores de proteína causam aumento da ureia plasmática devido ao aumento do catabolismo proteico. Deficiência energética na dieta também aumenta o catabolismo proteico e aumenta o nível de ureia no plasma. Dieta com baixos teores de proteína pode causar diminuição dos níveis de ureia.
Proteína total	Deficiência proteica na alimentação tende a causar hipoproteïnemia.
Albumina	Dietas com baixo teor de proteínas podem causar hipoalbuminemia devido à diminuição da síntese proteica no fígado.
Triglicérides	A produção de quilomícrons logo após uma refeição rica em gordura pode resultar em aumento temporário dos triglicérides plasmáticos. Jejum em animais obesos pode causar aumento dos triglicérides plasmáticos devido à mobilização das reservas de gordura.
Colesterol	Seus níveis aumentam após uma refeição rica em gordura (hiperlipidemia pós-prandial). Dietas com alto teor de gordura resultam em hipercolesterolemia. Jejum também pode causar aumento de colesterol no plasma devido à mobilização de gorduras de reserva. Dietas com baixo teor de gordura causam diminuição do colesterol plasmático.
Glicose	A glicemia aumenta logo após as refeições. A hipoglicemia só é problema nos animais recém-nascidos (principalmente em suínos), pois os adultos conseguem manter o nível de glicose constante mesmo durante períodos longos de inanição.
Beta-hidroxibutirato	Seus níveis podem aumentar em ruminantes como consequência de severa deficiência energética, devido à mobilização de triglicérides de reserva e conversão dos ácidos graxos em corpos cetônicos. Em situações críticas, como início de lactação e altos níveis de produção, pode ocorrer cetoacidose.
Sódio	Altos teores de proteína na dieta podem causar aumento do sódio plasmático devido à diurese induzida pelos altos níveis de ureia.
Potássio	Animais cardíacos aos quais se prescreve uma dieta com baixos teores de sódio podem apresentar hipercalemia devido a um desequilíbrio na troca iônica nos túbulos renais. Animais com anorexia que são mantidos com fluidoterapia sem suplementação de potássio apresentam hipocalemia, pois a excreção de potássio continua normalmente.
Cálcio	O aumento relativo de albumina (desidratação), principal proteína transportadora de cálcio no plasma ou a suplementação com excesso de cálcio, provoca hipercalemia. A hipoalbuminemia ou uma dieta deficiente de cálcio são responsáveis por baixos níveis de cálcio plasmático. Hipocalemia pode ocorrer em desbalanços Ca/P na alimentação, principalmente em animais jovens.
Fósforo	Dietas compostas exclusivamente à base de carne e vísceras podem causar hiperfosfatemia devido a desbalanço na relação Ca/P.

Baixos valores sanguíneos de proteínas e especialmente de ureia revelam deficiência proteica na dieta, que pode causar diminuição do consumo e da produção de leite. Alto nível de ureia pode indicar excesso de consumo de proteínas ou deficiência de substratos energéticos e ocasionar baixa fertilidade. Baixos valores plasmáticos de albumina, ureia e hemoglobina revelam a necessidade de adicionar proteína na dieta. Valores de sódio plasmático diminuídos indicam baixos valores de sal na ração. Baixos valores de glicose e altos de corpos cetônicos no sangue indicam deficiência de energia na dieta.

## ANÁLISES PARA MONITORAR A FUNÇÃO RENAL

### Ureia e creatinina

A ureia é sintetizada no fígado a partir da amônia derivada do catabolismo proteico. É excretada por via renal, sendo filtrada no glomérulo e parcialmente reabsorvida de forma passiva nos túbulos. A reabsorção de ureia no túbulo está relacionada de forma inversa com o fluxo de urina. Assim, em condições de alto fluxo, cerca de 40 % da ureia da urina se reabsorve, ao passo que em casos de pouco fluxo de urina (desidratação e outros problemas pré-renais ou pós-renais) pode reabsorver até 70 % de ureia.

Em ruminantes e equídeos, a ureia pode ser excretada por via gastrointestinal, de forma que, nessas espécies, valores normais ou não muito elevados de ureia podem ser achados em casos de insuficiência renal. Nos ruminantes, cobra especial importância no metabolismo nitrogenado a reciclagem de ureia, que pode acontecer por via salival, para servir de fonte de nitrogênio às bactérias ruminais.

A ureia sanguínea pode ser expressada como ureia propriamente ou como BUN (nitrogênio ureico sanguíneo). Para converter BUN à ureia, em mg/dL, o fator de multiplicação é 2,14.

A creatinina se forma endogenamente a partir da conversão da creatina, composto que armazena energia no músculo (fosfocreatina). A síntese de creatinina ocorre de forma constante, influenciada sobretudo pela massa muscular. Treinamentos prolongados, doenças musculares ou emagrecimento pronunciado podem afetar os valores de creatinina. Diferentemente da ureia, o teor de creatinina não é afetado pelo aumento do catabolismo das proteínas tissulares ou pela dieta. A creatinina é filtrada pelo glomérulo e não se reabsorve no túbulo, pelo qual se considera como melhor marcador da filtração glomerular que a ureia.

### Aumentos por causas pré-renais

O aumento de compostos nitrogenados (ureia e creatinina) no sangue é chamado de azotemia, e pode ser pré-renal, renal e pós-renal. Azotemia pré-renal pode ser ocasionada pelas causas seguintes:

(a) Aumento do catabolismo proteico devido a:

- hemorragia gastrointestinal que provoca absorção de proteínas do sangue;
- dieta alta em proteínas: causam aumentos pouco significativos de ureia em animais saudáveis, mas podem provocar grande aumento em animais com doença renal oculta;
- infecção e febre;
- exercício prolongado;
- uso de glicocorticoides;

- hipertireoidismo.

(b) Diminuição da perfusão renal: há filtração glomerular reduzida, porém há aumento da reabsorção de ureia. As principais causas são:

- hipovolemia por desidratação: vômito, diarreia, processos que cursam com poliúria, como diabetes mellitus ou hipoadrenocorticismo;
- doença cardiovascular.

Em geral, nas causas de azotemia pré-renal, aumenta menos a creatinina e mais a ureia.

Aumentos por causas renais e pós-renais.

São produzidas em casos de insuficiência renal aguda ou crônica, quando cerca de 75 % da taxa de filtração glomerular está comprometida. Pode ser associada com queda da densidade da urina, embora em gatos possa encontrar-se densidade normal.

A razão para que não haja azotemia com alterações iniciais dos néfrons é porque, em qualquer dano renal com perda de néfrons funcionais, ocorre hipertrofia compensatória e aumento da função do resto de néfrons não afetados. Quando se atingem 75 % dos néfrons afetados, pequenos danos adicionais e queda da filtração glomerular causam au-

mentos exponenciais de ureia e creatinina. Portanto, a principal limitação da dosagem de ureia e creatinina é que não pode detectar danos renais leves, sendo que apenas detectam falha renal demasiado tarde.

Azotemia renal pode ser causada por nefrite, amiloidose, necrose tubular, neoplasias e, enfim, qualquer causa que afete a função do rim. Azotemia pós-renal pode ser por causas obstrutivas que impedem o fluxo normal da urina e se associam a sinais clínicos de oligúria e anúria.

Os aumentos causados por fatores renais e pós-renais podem ser diferenciados das causas pré-renais (Quadro 8). Em causas renais, os aumentos de ureia e creatinina são maiores, enquanto que a densidade específica é baixa. Alguns autores indicam as seguintes densidades na urina para suspeitar de insuficiência renal: < 1,025 em bovinos e equinos, < 1,030 no cão e < 1,035 no gato.

A creatinina, comparada com a ureia, não se afeta pela dieta nem o catabolismo proteico e aumenta pouco em casos de desidratação ou falha cardíaca, a não ser em casos severos. Entretanto, aumenta de forma mais significativa e rápida em casos de insuficiência renal e responde ao tratamento antes que a ureia. Portanto, a creatinina é melhor indi-

QUADRO 8 – DIFERENÇAS ANALÍTICAS ENTRE AS PRINCIPAIS CAUSAS DE AZOTEMIA PRÉ-RENAL E RENAL

Causa da azotemia	Ureia	Creatinina	Densidade
Catabolismo proteico	Levemente elevada (<100 mg/dL)	Não aumenta	Normal
Falta de irrigação ao rim	Pode chegar a >100 mg/dL	Só aumenta em casos graves (indicaria início de IR)	Aumentada (desidratação)
Insuficiência renal	Muito elevada (>180-200 mg/dL)	Aumenta sempre de forma significativa	Diminuída (isotenuria)

cadador da função renal e do prognóstico em casos de insuficiência renal do que a ureia.

#### Diminuição de ureia e creatinina

A diminuição de ureia ocorre em casos de insuficiência hepática, quando diminui sua síntese. Também está associada a dietas baixas em proteína. A diminuição de creatinina pode ser vista em casos de caquexia com perda da massa muscular.

#### **Estimação da taxa de filtração glomerular com provas de *clearance* ou depuração renal**

Estas provas estão baseadas na administração intravenosa de compostos que apenas se excretam pelo rim e que não se reabsorvem pelos túbulos nem se metabolizam em nenhum tecido. Entre outros compostos, utiliza-se creatinina e inulina (polímero de fructose). Em caso de insuficiência renal, esses compostos têm maior persistência no sangue ao realizar uma cinética de excreção. Atualmente, devido ao tempo e esforço que requerem, não aportam vantagens suficientes do ponto de vista diagnóstico, de forma que apenas são usados em pesquisa.

#### **Cálcio e fósforo**

Em pequenos animais, a insuficiência renal produz uma queda na excreção de fósforo pelo rim e, portanto, uma hiperfosfatemia. Persistindo o processo, o fósforo causa diminuição do cálcio circulante devido à formação de complexos de ambos os minerais que se depositam nos tecidos e diminuição da relação Ca/P, o que leva a hiperparatireoidismo secundário. Este evento é uma tentativa para aumentar os níveis de cálcio a partir de sua mobilização em nível ósseo e ainda aumentar a excreção de fósforo em nível renal. Como o rim não está funcional,

o fósforo não se excreta e o processo se agrava cada vez mais. Assim, um sinal de insuficiência renal crônica em pequenos animais é aumento de fósforo com cálcio normal ou diminuído, além de fragilidade óssea.

Em bovinos, pode apresentar-se baixa concentração de cálcio, nesses casos, porém, sem hiperfosfatemia, uma vez que o rim não é o órgão principal de excreção de fósforo.

Em cavalos, pode haver hipercalcemia, sobretudo em animais alimentados com dietas ricas em cálcio, porque o rim é o órgão fundamental na excreção de cálcio nesta espécie, estando o fósforo normal ou baixo.

#### **Potássio**

O rim, de forma normal, excreta ácidos ( $H^+$ ) e reabsorve bicarbonato ( $HCO_3^-$ ). Em caso de insuficiência renal, o rim não é capaz de cumprir esta função e, portanto, há um acúmulo de ácidos no sangue, provocando acidose metabólica.

O potássio sofre troca com o hidrogênio em nível celular na tentativa de compensar a acidose, de forma que aparecem níveis elevados de potássio no sangue (hipercalemia) na insuficiência renal. A dosagem sérica de K nesses casos é indicadora da severidade da acidose. Entretanto, os bovinos podem apresentar um equilíbrio acidobásico normal ou, inclusive, uma alcalose metabólica devido à atonia ruminal secundária que se produz e que causa sequestro de ácidos.

#### **Hematócrito**

Na insuficiência renal crônica, é característico o aparecimento de anemia não regenerativa com ausência de reticulócitos, não muito severa, que se desenvolve pela falta de síntese de eritropoietina renal. Tanto a anemia como o hiperparatireoidismo secundário renal são considerados melhores indicadores

para diferenciar insuficiência renal crônica de aguda do que os sinais clínicos de oligúria (na insuficiência renal aguda) e poliúria (na insuficiência renal crônica), uma vez que podem ser observados com frequência casos de poliúria na insuficiência renal aguda.

### **A urinálise como ferramenta para avaliar a função renal**

A função renal é vital para a excreção pela urina de compostos produzidos no catabolismo e que não têm nenhuma função metabólica. Também é a via de eliminação de compostos excedentes do metabolismo e de substâncias tóxicas, medicamentos e qualquer composto exógeno desnecessário ou mesmo prejudicial ao organismo.

As principais funções do rim compreendem, em nível de glomérulos renais, a filtração de componentes derivados do metabolismo que podem ser tóxicos ao organismo e, em nível de túbulos, a reabsorção de água, propiciando a concentração da urina, de eletrólitos, de glicose e de outros solutos.

Esta última função determina a homeostasia hidroeletrólítica e acidobásica do plasma sanguíneo, sendo controlada por hormônios de forma muito delicada e eficiente. A vasopressina (ADH) da neuro-hipófise e a aldosterona do córtex adrenal são dois hormônios envolvidos na manutenção do volume circulante e da osmolaridade do plasma, atuando diretamente nos túbulos renais. O hormônio da paratireoide e a calcitonina, por sua vez, atuam no rim para controlar a calcemia.

O rim também exerce outras atividades, como a síntese da renina (enzima proteolítica que atua sobre o angiotensinogênio, precursor da angiotensina, que é o composto es-

timulador da síntese de aldosterona), síntese de eritropoietina (hormônio estimulador da produção de hemácias) e síntese da enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase (ativadora da vitamina D).

A falha na função renal pode ter vários graus, o que se reflete em uma ampla variedade de sintomas. A principal observação nessa situação é o aumento dos valores plasmáticos de ureia e creatinina (azotemia), compostos nitrogenados de excreção, que pode causar letargia, anorexia, vômito, diarreia, ulcerações gástricas, anemia e alterações nas características físico-químicas da urina. Uma falha renal total pode causar a morte do animal em apenas uma semana. O problema da falha renal é duplo, pois o organismo tem dificuldade não só por conta da inadequada excreção de compostos tóxicos, devido à falha na filtração glomerular, como também de perda de compostos que devem ser reabsorvidos.

Além de avaliar a função renal, a urinálise fornece informações importantes do metabolismo animal, uma vez que compostos anormalmente elevados em determinadas doenças se excretam via renal, como é caso dos corpos cetônicos na cetose ou da glicose na diabetes mellitus.

A urinálise deve incluir sempre a avaliação de suas características organolépticas, físico-químicas e a análise do sedimento.

### **Características organolépticas**

#### **Aparência**

A urina normal é transparente e clara, exceto no cavalo, em que normalmente é turva devido à presença de cristais de carbonato cálcico e muco. Nessa espécie, o rim é o principal órgão excretor de cálcio. Uma

urina turva sugere alguma alteração, como inflamação, hemorragia ou cristalúria.

#### Cor

Amarelo é a cor normal da urina. Cor diminuída sugere urina diluída; cor amarela escura sugere urina concentrada ou presença de bilirrubina; cor vermelha ou marrom indica eritrócitos ou hemoglobina; e cor rosa ou laranja indica porfirinas.

#### Cheiro

Cada espécie animal tem um cheiro da urina particular (*sui generis*), influenciado sobretudo pela quantidade e tipo de ácidos orgânicos voláteis que contém. Um cheiro amoniacal na urina fresca indica infecção no trato urinário por bactérias produtoras de urease, que transformam a ureia em amônia. Também em casos de cetose pode aparecer um cheiro a acetona ou a fruta madura.

#### Volume

É muito difícil quantificar a urina. Para isso teria que manter o animal em gaiola metabólica durante 24 horas. Assim, a quantidade é estimada de forma indireta pela densidade da urina. À menor densidade, deve haver maior volume de urina, salvo na diabetes mellitus, em que a glicose excretada causa aumento da densidade urinária e do volume.

### **Características físico-químicas**

São determinadas com refratômetro (para determinar a densidade específica), e com tiras reagentes (para determinar

parâmetros químicos). Todas as provas determinadas com tiras reativas devem ser vistas junto com a densidade. Assim, uma proteinúria de 2<sup>+</sup> é muito mais significativa e importante numa urina de densidade de 1,008 do que numa urina de 1,040. Também, há que considerar variações de sensibilidade para detectar os parâmetros físico-químicos, conforme a marca das tiras reativas.

#### Densidade específica

Deve ser determinada com refratômetro, e não com tira reativa. Normalmente, a capacidade de concentrar a urina se considera como um indicador mais sensível e precoce da função renal, comparado com os marcadores de filtração glomerular (ureia e creatinina), pois a queda na capacidade de concentrar urina aparece quando 68 % do rim está funcionalmente afetado, ao passo que aumentos de ureia e creatinina aparecem quando 75 % da funcionalidade renal estão alterados.

O maior controle do volume de urina e da capacidade renal de concentrar ocorre no túbulo contorcido distal e nos túbulos coletores. Nessa zona há um excesso de solutos dentro do túbulo (hipertônica), sendo a reabsorção de água controlada pelo hormônio antidiurético.

A densidade ou peso específico reflete o grau de concentração da urina e, portanto, a capacidade dos túbulos renais de concentrar a urina. A densidade específica é definida pelo quociente entre a massa de solução de urina e a massa de um volume igual de água. Sendo um quociente entre duas magnitudes iguais não tem unidades.

Recomenda-se, para evitar flutuações da densidade durante o dia, pela ingestão de

água, medir a densidade na urina tomada na primeira hora da manhã, que deve ser a mais concentrada.

A densidade do filtrado glomerular, sem entrar aos túbulos, é de 1,008 a 1,012. Uma urina que apresente esta densidade (isostenúria ou densidade igual ao plasma) indica que o rim não fez nenhuma atividade para concentrar a urina em nível de túbulos.

Os valores de referência de densidade são, de forma aproximada, 1,025 a 1,030 no cavalo e bovino, 1,030 a 1,035 no cão, e 1,035 a 1,045 no gato.

Aumentos na densidade são observados em estados de desidratação. Diminuição na densidade sugere que o rim não está funcionando bem e não concentra a urina, como na insuficiência renal. A densidade associada com insuficiência renal está entre 1,008 e 1,012. Valores entre 1,012 e o limite inferior do valor de referência de densidade em cada espécie são difíceis de interpretar. Nesses casos é recomendado realizar medições seriadas.

Quedas marcadas da densidade (“lavagem ou *washout* medular”) ocorrem em razão de alterações do ADH. A urina pode ter densidade menor que o filtrado glomerular ( $< 1,008$ ) na chamada hipostenúria, o que ocorre em um processo ativo, em que o rim “trabalha” para diluir a urina. Isso não pode associar-se à insuficiência renal, e sim a outras causas, como na diabetes insípida central ou nefrogênica. A nefrogênica pode ser adquirida em processos que cursam com hipercalcemia, hiperparatireoidismo (PTH é antagonista do ADH) ou hiperadrenocorticismismo (cortisol em excesso altera a liberação e antagoniza ADH) ou piometra (antagonismo da ADH por toxinas bacterianas). Outras causas da hipostenúria compreendem: poli-dipsia psicógena, insuficiência hepática (por queda na síntese de ureia, que é fundamental na formação do gradiente de concentração

medular renal) e fármacos (corticoides, diuréticos, anticonvulsivantes, terapia com fluidos).

Dependendo da disponibilidade técnica, pode ser usada a determinação da osmolaridade da urina em vez da densidade específica, por ser um parâmetro mais sensível para avaliar a capacidade de concentração urinária, uma vez que a densidade da urina pode aumentar de forma falsa quando há quantidades altas de albumina ou glicose.

## pH

Depende da alimentação. Os animais carnívoros têm pH ácido ou neutro, enquanto os herbívoros têm pH neutro a alcalino. Um pH básico na urina de carnívoros indica, com alta probabilidade, uma infecção bacteriana no trato urinário (sobretudo cistite).

## Proteínas

Normalmente a urina não deve conter proteínas. Na proteinúria, deve diferenciar-se sua causa:

- Proteinúria pré-renal: em casos de febre, problemas cardíacos, choque e hemoglobinúria. É transitória e de pouca magnitude. Menos comum, ocorre em tumores de células plasmáticas, que produzem proteínas de baixo peso molecular capazes de atravessar o glomérulo (proteínas Bence-Jones) e que precipitam a menor temperatura que as proteínas normais.
- Proteinúria renal: por alteração da filtração glomerular ou da reabsorção, aumentando o conteúdo de proteínas na urina de forma significativa.
- Proteinúria pós-renal: em inflamação do trato urinário inferior (bexiga, uretra, próstata). Para diferenciar da renal, além do

quadro clínico, conferir que na proteinúria pós-renal também haja sangue, leucócitos ou outros indicadores de inflamação no sedimento urinário.

Embora a proteinúria possa ser detectada mediante tiras reativas, pode haver resultados falso-positivos em casos de urina muito alcalinas (ruminantes), de forma que são mais apropriados métodos espectrofotométricos para sua quantificação.

O quociente proteína/creatinina na urina é usado como indicador mais sensível de proteinúria, porque se correlaciona muito bem com a excreção de proteína na urina em 24 horas. Na interpretação deste quociente, considera-se como normal  $< 0,4$ . Valores maiores podem estar associados a:

- Inflamações do trato urogenital, detectadas por alterações no sedimento urinário. Parece que a contaminação de sangue, devido à obtenção de urina por cistocentese, não afeta significativamente essa relação, mesmo quando as tiras reativas detectam sangue.

- Proteinúria por causas pré-renais, como febre, problemas cardíacos, choque ou hemoglobinúria.

- Perda de proteínas em nível de túbulo renal (síndrome nefrótico): quanto maior a relação ( $> 2$ ), acompanhado de sedimento inativo (sem células nem bactérias), maior o problema renal.

Em geral, considera-se que a proteinúria detecta problemas renais quando há 70 % de néfrons afetados. Assim, teria uma capacidade de detecção intermediária, em termos de néfrons afetados, entre a densidade da urina (66 %) e da ureia/creatinina (75 %). Contudo, há casos de insuficiência renal em que não se produz proteinúria.

É possível observar proteinúria em animais recém-nascidos, causada pelas proteínas do colostro.

## Glicose

Normalmente a urina não contém glicose, pois, embora filtrada de forma livre pelo glomérulo, é reabsorvida totalmente nos túbulos proximais. O aparecimento de glicosúria indica nível de glicose plasmática elevada (superior a 180 mg/dL no cão, 280 mg/dL no gato e 100 mg/dL em ruminantes), valores que excedem o limiar renal de reabsorção de glicose e estão associados à diabetes mellitus ou outras causas de hiperglicemia permanente ou transitória. No cão, pode haver glicosúria sem hiperglicemia elevada, por defeitos na reabsorção tubular na Síndrome de Faconi.

Algumas tiras reativas podem reagir com o ácido ascórbico (na maioria dos animais em quantidades significativas na urina) e dar resultados falso-positivos. Essa informação deve ser conferida antes de utilizá-las.

## Corpos cetônicos

Corpos cetônicos não devem ser encontrados na urina de forma normal, uma vez que, após serem filtrados no glomérulo, são totalmente reabsorvidos nos túbulos proximais. Sua presença indica, nos ruminantes, a existência de cetose e, nos pequenos animais, a fase cetoacidótica da diabetes mellitus. Em casos de jejum costumam aparecer quantidades baixas de corpos cetônicos (uma cruz). As tiras reagentes não detectam beta-hidroxibutirato, mas acetoacetato e acetona.

## Sangue, hemoglobina, mioglobina

A presença de qualquer um desses três componentes dão positivo ao teste de san-



gue, oculta na tira reativa. Portanto, tem que se diferenciar da seguinte forma:

- Sangue: ao centrifugar a urina, ela fica mais clara, e são observados eritrócitos no sedimento. Cuidar que, em caso de uma urina hipotônica, pode haver lise dos eritrócitos. A presença de eritrócitos na urina indica hemorragia ou inflamação no trato urinário.
- Hemoglobinúria: associada com destruição de eritrócitos na circulação (hemólise), com presença de anemia e icterícia.
- Mioglobinúria: associada a processos de lesão muscular. Nesse caso, o paciente terá aumentada a creatina quinase no plasma e sinais de dano muscular.

Uma forma de diferenciar hemoglobina de mioglobina na urina é mediante a adição de sulfato de amônia saturado a 80% (2,8 g de sulfato de amônia em 5 mL de urina) e posterior centrifugação. Se houver hemoglobina, precipitará com o sulfato de amônia e dará um sobrenadante de cor amarela. Se houver mioglobina, ela permanecerá em solução e o sobrenadante se manterá avermelhado.

#### Leucócitos

Se a prova de leucócitos der positiva, indica a presença de uma inflamação no trato urinário. Deve ser feita a comprovação com a observação do sedimento, pois parece que esta prova não é tão sensível nos animais como nos humanos, uma vez que a maioria das tiras reativas detectam os leucócitos mediante uma esterase leucocitária específica encontrada nos glóbulos brancos humanos, mas não nas várias espécies animais.

#### Pigmentos biliares

Aumentos da bilirrubina na urina sugerem doença hepática, obstrução biliar ou doença hemolítica, processos que causam aumento da bilirrubina conjugada. No cão, pode haver até 2<sup>+</sup> de bilirrubina conjugada na urina de forma normal.

A presença de urobilinogênio em humanos tem sido empregada para detectar obstrução biliar, mas, na maioria dos animais estudados, foi demonstrada uma baixa correlação entre a concentração de urobilinogênio na urina e alterações biliares.

#### Enzimas na urina

Na urina podem ser dosadas a gama-glutamil transferase (GGT) e a N-acetil-glicosaminidase (NAG). Ambas as enzimas estão localizadas nas células do túbulo renal e podem aumentar na urina em uma lesão tubular, sem passar para a circulação. A NAG se conserva bem em congelamento, e a GGT, em refrigeração.

Tem sido demonstrado que, em danos induzidos por agentes nefrotóxicos, a atividade dessas enzimas na urina aumenta vários dias antes do que a ureia e a creatinina; de forma que elas têm o potencial de serem usadas na clínica como marcadores de insuficiência renal.

#### Microalbuminúria

A presença de microalbuminúria persistente parece ser um indicador de dano glomerular associado com dano renal inicial em humanos e caninos. Tem sido desenvolvido um teste para detectar microalbuminúria no cão, porém não há estudos completos que avaliem a microalbuminúria, em

comparação com os marcadores clássicos de insuficiência renal.

### Exame do sedimento

Para examinar o sedimento, a urina deve ser centrifugada a baixa rotação (1.000-1.500 rpm) por 5 minutos, para evitar dano nos seus componentes. Como mínimo devem centrifugar-se 5 mL de urina. O sobrenadante é retirado, deixando apenas o sedimento e cerca de 0,5 mL da parte inferior do tubo são usados. Este sedimento deve ser suavemente misturado para obter amostras que possam ser examinadas no microscópio.

Em fresco, coloca-se um par de gotas do sedimento de urina em lâmina com lamínula em cima. Para a valoração microscópica, usam-se os objetivos de 10, 20 e 40. É recomendável usar o máximo de luz com o diafragma quase totalmente fechado.

Com corantes, realiza-se um esfregaço com uma gota do sedimento, tingindo com corantes normalmente usados no laboratório. No sedimento são estudados os parâmetros a seguir.

#### Células sanguíneas

É normal encontrar de 0 a 3 eritrócitos e/ou leucócitos por campo de 400x. Um número aumentado sugere hemorragia e/ou inflamação do trato urinário.

#### Células do trato urinário

Podem aparecer em pequeno número (0-1 por campo de 400x) em urinas normais. Entre estas células podem ser encontradas as seguintes:

#### Células escamosas

Procedem da uretra, vagina ou prepúcio. São grandes, poligonais com contorno irregular e com núcleo pequeno e arredondado.

#### Células de transição

Procedem da bexiga, ureter, pelve renal e uretra proximal. São menores do que as escamosas e de forma variável (oval ou alongada). As células da pelve renal têm forma de raquete característica.

#### Células do epitélio renal

São de tamanho similar a um leucócito, arredondadas e com núcleo grande, difíceis de distinguir dos leucócitos ou de células da bexiga. Um número aumentado dessas células sugere alteração inflamatória renal.

Também podem aparecer células tumorais. Para identificar células do epitélio renal ou neoplásicas, recomenda-se realizar esfregaço e tinção do sedimento urinário de forma similar ao esfregaço sanguíneo.

#### Cilindros

A urina normal contém de 1 a 2 cilindros hialinos ou granulares por campo de 400x. Um aumento na quantidade de cilindros indica alterações no trato urinário superior. Os cilindros se formam nos túbulos renais e podem ser encontrados os seguintes tipos:

- cilindros hialinos: associados com proteinúria;
- cilindros granulares: associados com danos degenerativos tubulares;
- cilindros de leucócitos: associados com inflamação renal;

- cilindros de eritrócitos: associados com hemorragias renais, geralmente resultado de traumatismos.

#### Bactérias

Em condições normais, não aparecem bactérias na urina, se ela for coletada por cistocentese, porém podem aparecer na coleta por catéter ou por micção espontânea (mais acentuado). Presença de bactérias na urina coletada assepticamente indica processo infeccioso.

#### Cristais

Embora descritos numerosos cristais na urina, os mais importantes do ponto de vista clínico são os seguintes:

- cristais de biureto, amônia ou uratos amorfos: indicam insuficiência hepática;

- cristais de fosfato triplo aumentados: em carnívoros indicam inflamação do trato urinário;

- cristais de carbonato e oxalato cálcico: comuns na urina de cavalos e ruminantes, mas em pequenos animais estão associados com intoxicação por etilenoglicol;

- cristais de aminoácidos: de tirosina indicam alterações hepáticas, e de cisteína indicam alterações renais.

#### Outros componentes

Podem ser encontradas gotas de gordura, que não devem ser confundidas com eritrócitos, espermatozoides em alta concentração em machos, fungos e leveduras, como resultado de contaminação.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. S. et al. Use and limitations of profiles in assessing health or nutritional status of dairy herds. *J. Dairy Sci.*, v. 61. p. 1671, 1978.
- COLLINS, J. D. Metabolic profiles tests for Dairy Cattle. *Irish Vet. J.*, v. 79, p.26-31, 1979
- CONTRERAS, P. A. et al. Desbalances metabólicos más frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche, Valdivia-Chile. *Arch. Med. Vet.*, v. 28, p. 39-50, 1996.
- COTE, J. F.; HOFF, B. Interpretation of blood profiles in problem Dairy Herds. *The Bovine Practitioner*, v. 26, p. 7-11, 1991.
- FAJARDO, A. H.; VIAMONTE, M. I. Algunas alteraciones metabólicas asociadas a la infertilidad de los ruminantes. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, v. 23. p. 33-44, 1992.
- FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H. Variação da concentração de imunoglobulinas G e M, de proteína total e suas frações eletroforéticas e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de vacas holandesas, antes e após o parto. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 52, n. 2, p. 11-116, 2000.
- GALIBERTI, A.; BERTONI, G.; CAPPÀ, V. La determinazione del profilo metabolico quale mezzo per evidenziare le cause alimentari di ipofertilità bovina. *Zoot. Nutriz. Anim.*, v. 3. p. 237-245, 1977.
- GONZÁLEZ, F. H. D. et al. Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v. 24. p. 11-24, 1996.
- GONZÁLEZ, F. H. D. et al. (Ed.) *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000a.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; BORGES, J. B.; CECIM, M. (Ed.) *Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000b.
- INGRAHAM, R. H.; KAPEL, L. C. Metabolic profile testing. *Vet. Clin. N. Amer.: Food Anim. Pract.*, v. 4, p. 391-411, 1988.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.) *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5 ed, New York: Academic Press, 1997. 932p.
- KOLVER, E. S.; MCMILLAN, K. L. Variation in selected plasma constituents during the post-partum and breeding periods in dairy cows. *N. Z. Vet. J.*, v. 42. p. 161-166, 1994.
- MCDOWELL, L. R. *Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais enfatizando o Brasil*. Gainesville: University of Florida, 1999.
- MÊNDEZ, M. C.; RIET-CORREA, F. Plantas que causam necrose muscular. In: RIET-CORREA, F. et al. (Ed.) *Doenças de Ruminantes e Equinos*. São Paulo: Varela, 2001, p. 250-252.
- PAYNE, J. M.; PAYNE, S. *The Metabolic Profile Test*. Oxford: Oxford University Press, 1987.
- PELLETIER, G.; TREMBLAY, A. V.; HELIE, P. Facteurs influençant le profil métabolique des vaches laitières. *Can Vet. J.*, v. 26, p. 306-311, 1985
- SMYTHE, P. J. Metabolic profile tests, their uses and limitations. *J. Dept. Agric. Fish-Ireland*, v. 73, p. 60-68, 1976.
- SOMMER, H. Preventive Medicine in Dairy Cows. *Vet. Med., Rev.*, v. 1, p. 42-63, 1975.
- SYAKALIMA, M. et al. Separation and quantification of corticosteroid-induced, bone, and liver alkaline phosphatase isoenzymes in canine serum. *Journal of Veterinary Medicine*, v. 44, p. 603-610, 1997.
- TADICH, N.; GALLO, C.; ALVARADO, M. Efectos de 36 horas de transporte terrestre con y sin descanso sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos. *Archivos de Medicina Veterinária*, v. 32. p. 171-183, 2000.
- WITTWER, F. et al. Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en rebaños lecheros en Chile. *Arch. Med. Vet.*, v. 19, p. 35-45, 1987.
- WITTWER, F. et al. Valores bioquímicos clínicos sanguíneos de vacas cursando con decúbito en el sur de Chile. *Arch. Med. Vet.*, v. 15, p. 83-88, 1993a.
- WITTWER, F. et al. Determinación de úrea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Arch. Med. Vet.*, v. 25, p. 165-172, 1993b.
- WYATT, K. M.; LABUC, R.; WYATT, G. L. Measurement of creatine kinase MB in canine cardiac patients. *Australian Veterinary Journal*, v. 76, n. 12, 1998.



### INTRODUÇÃO

Similarmente aos mecanismos de defesa desenvolvidos em face de agressões microbianas, os seres vivos têm desenvolvido delicados mecanismos de defesa contra as agressões químicas. Enzimas com diferentes graus de especificidade localizadas preferencial e estrategicamente no fígado (todas as substâncias químicas ingeridas passam pelo fígado antes de chegar na circulação sistêmica) encarregam-se de biotransformar as substâncias potencialmente tóxicas para diminuir sua lipossolubilidade e acelerar sua eliminação.

As enzimas da fase I de detoxificação aumentam a polaridade (hidrossolubilidade) das substâncias tóxicas mediante a inserção de grupos polares tais como o grupo hidroxila (-OH). As enzimas da fase II são enzimas que conjugam compostos altamente polares às substâncias tóxicas, tornando-as altamente hidrossolúveis e facilmente excretáveis através do rim ou via biliar. Finalmente, proteínas complexas de alto peso molecular participam da eliminação de substâncias tóxicas transportando compostos de um lado a outro das membranas celulares (Fase III).

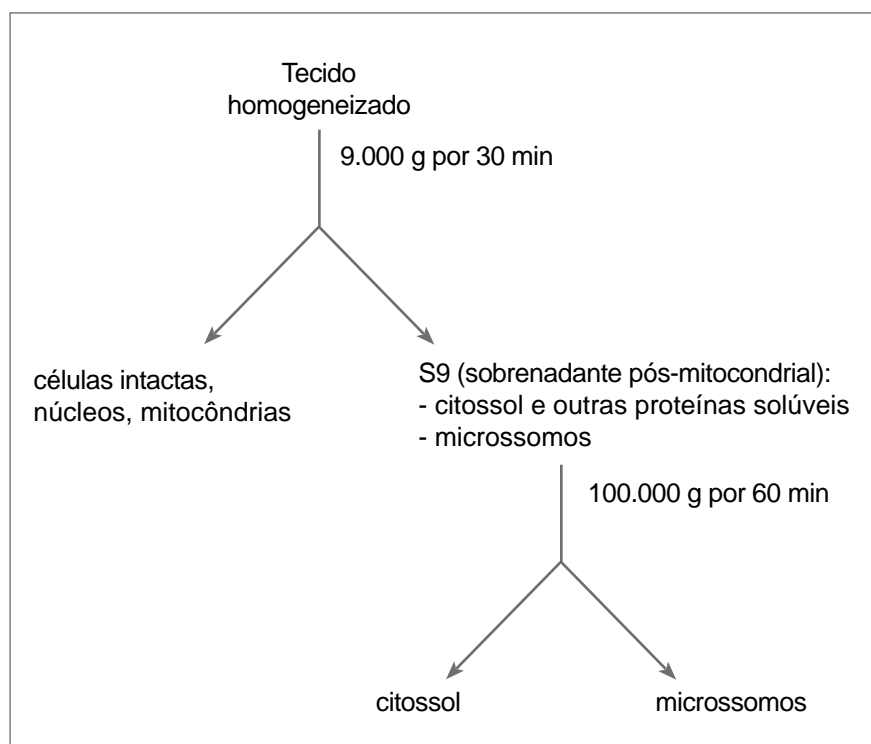
O presente capítulo resume as principais características bioquímicas das enzimas mais importantes do metabolismo fase I e fase II de xenobióticos, bem como dos transportadores hepáticos da fase III.

### METABOLISMO E ELIMINAÇÃO DE XENOBIÓTICOS

#### **Metabolismo fase I: citocromos P450**

As enzimas citocromo P450 (CYP450) são uma superfamília de enzimas (mais de 1.000 sequências de genes de CYP450 são conhecidas atualmente) presentes tanto em organismos superiores como em microrganismos. O nome dessas enzimas deriva do fato de serem citocromos (hemoproteínas cuja principal função é transportar elétrons ou  $H^+$ , mediante a mudança de valência reversível do ferro do grupo heme) e de a forma reduzida da enzima, unida a uma molécula de monóxido de carbono (CO), apresentar um máximo de absorção a 450 nm. As CYP450 são os únicos citocromos extramitocondriais associados a membranas que podem ser isolados da fração microsossomal das células. Os microsossomos são estruturas vesiculares formadas a partir do retículo endoplasmático liso (REL) quando a célula é homogeneizada e suas frações subcelulares são separadas mediante centrifugação diferencial. Os microsossomos são, então, artefatos resultantes da centrifugação em alta velocidade do REL. Os passos seguidos para obter microsossomos são mostrados na Figura 1.

A importância dos microsossomos na pesquisa bioquímica e toxicológica radica no fato de conservarem a maior parte da atividade enzimática, podendo ser utilizados como fonte de



**Figura 1** - Frações subcelulares obtidas por centrifugação diferencial.

enzimas CYP450 para ensaios de metabolismo *in vitro*. Adicionalmente, o sobrenadante produto da ultracentrifugação (citossol) contém também enzimas de biotransformação (sulfotransferases e glutatión transferase).

Coletivamente, as enzimas CYP450 participam de uma grande variedade de reações de oxidação de xenobióticos e compostos endógenos lipossolúveis, entre as quais estão a hidroxilação de átomos de carbono alifáticos e aromáticos, a epoxidação de ligações duplas, a oxigenação e N-hidroxilação de heteroátomos (S<sup>-</sup> e N<sup>-</sup> oxidação), a dealquilação de heteroátomos (O<sup>-</sup>, S<sup>-</sup> e N), a transferência de grupos oxidados, a ruptura de ligações éster e a desidrogenação.

A maioria das reações inicia com a transferência de elétrons de NAD(P)H a uma

NADPH-citocromo P450 redutase (sistemas microsossomais) ou a uma ferredoxin-redutase e a uma proteína com ferro não heme (sistemas mitocondriais e bacterianos), para finalmente transferi-los à CYP450.

Esta transferência de elétrons leva à ativação redutiva de oxigênio molecular, seguida da inserção de um átomo de oxigênio no substrato. A estequiometria da reação de hidroxilação catalisada pela CYP450 pode ser representada da seguinte forma (RH corresponde ao substrato):



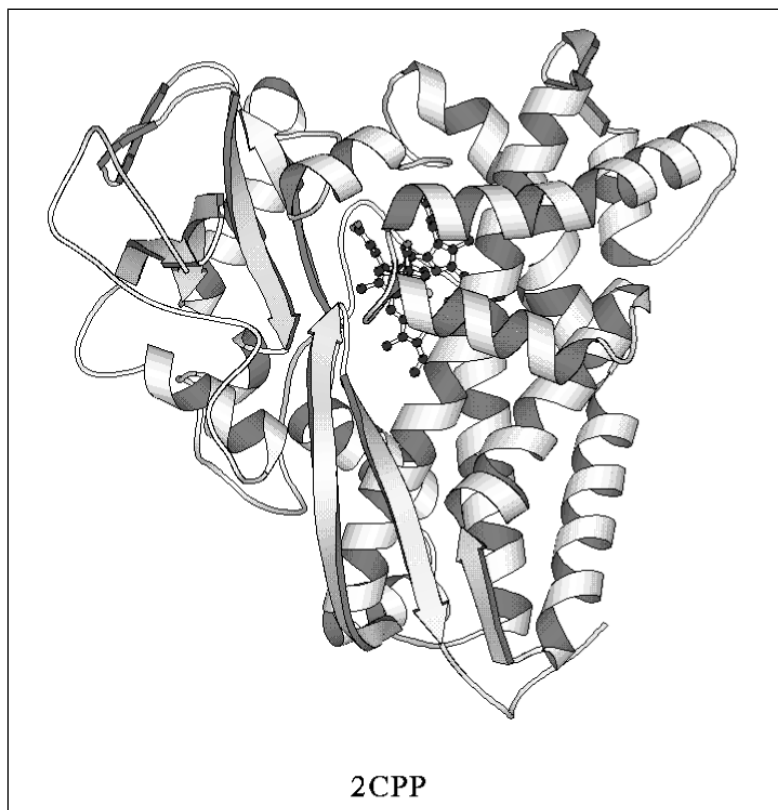
A maior concentração de enzimas CYP450 envolvidas na biotransformação de xenobióticos encontra-se no REL dos hepa-

tócitos, embora essas enzimas possam estar presentes em praticamente qualquer tecido.

As CYP450 de organismos superiores estão fortemente associadas às membranas do REL e são muito difíceis de obter em forma pura para estudos de elucidação de sua estrutura. Entretanto, a citocromo P450cam da bactéria *Pseudomonas putida* é uma enzima citossólica solúvel que foi possível cristalizar e analisar detalhadamente. A estrutura tridimensional da citocromo P450cam corresponde basicamente a um prisma triangular com 12 segmentos helicoidais que envolvem quase metade dos resíduos de aminoácidos (Figura 2). O grupo prostético heme encontra-se encerrado entre duas hélices denominadas L e I. A hélice L está no lado proximal (lado do grupo tiolato que liga o grupo heme).

A hélice I está no lado distal (lado que sustenta o grupo que liga o substrato). O grupo heme conserva seu lugar por contatos hidrofóbicos (não covalentes) com as duas hélices mediante ligações de hidrogênio pela união do grupo tiolato com o ferro do grupo heme.

A Figura 3 resume o ciclo catalítico da CYP450 e a localização do resíduo Cys357. Este resíduo está presente em todas as CYP450 devido a sua relevância no mecanismo de ação da enzima. O ciclo catalítico da enzima inicia com a união do substrato ao sítio ativo da enzima que faz com que libere a molécula de água normalmente associada ao ferro (III) do grupo heme da enzima. Posteriormente a enzima recebe um elétron que reduz o FeIII a FeII e permite a incorporação de oxigênio molecular ( $O_2$ ). Através de uma



**Figura 2** - Estrutura tridimensional da P450cam, CYP450 da *Pseudomonas putida*.



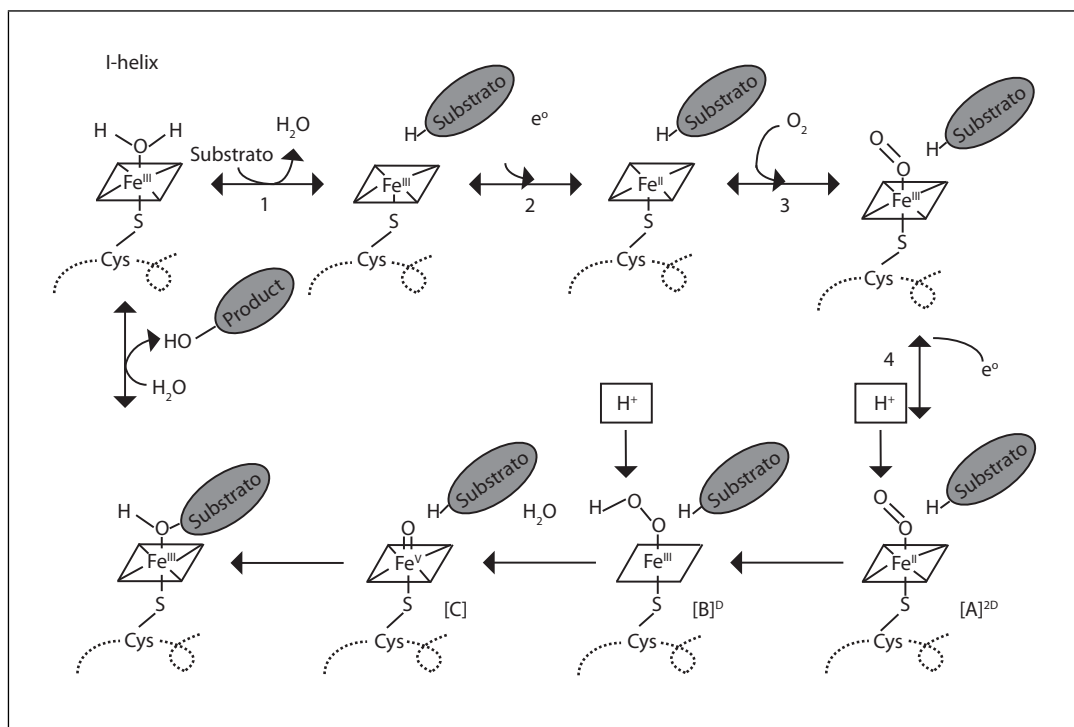
série de reações em que o átomo de ferro é importante, o  $O_2$  molecular é reduzido, um dos átomos de oxigênio é incorporado ao xenobiótico na forma de  $-OH$  e o outro é liberado na forma de  $H_2O$ . Finalmente, o produto hidroxilado é liberado e a enzima volta a seu estado basal.

#### Classificação das CYP450

A sequência de aminoácidos de centenas de enzimas CYP450 tem sido determinada, servindo para estabelecer uma nomenclatura sistemática baseada em homologia estrutural. Em geral, enzimas com menos de 40 % de identidade de sequência são designadas a diferentes famílias de genes (famílias 1, 2, 3, 4, etc.). Enzimas que são idênticas em 40-55 %

são designadas à mesma família (por exemplo, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, etc.), enquanto as enzimas de mamíferos que têm identidade superior a 55 % são designadas à mesma subfamília (por exemplo, 2A1, 2A2, 2A3, etc.).

As enzimas microsossomais hepáticas envolvidas na biotransformação de xenobióticos pertencem a três famílias principais de genes denominadas CYP1, CYP2 e CYP3. A abundância relativa das CYP450 responsáveis pelo metabolismo de xenobióticos no fígado humano foi investigada por Shimada et al. (1994), encontrando-se que a enzima mais abundante é a CYP3A4, sendo 28,8 % do total desse tipo de enzimas microsossomal. Os microsossomos hepáticos humanos podem conter 16 famílias de CYP450 diferentes com capacidade de biotransformar xenobióticos e/ou compostos endógenos.



**Figura 3** - Mecanismo catalítico das citocromo-P450 oxidases.

Fonte: Werck-Reichhart (2000).

## Outras reações fase I

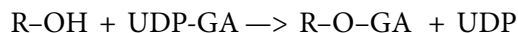
Em termos quantitativos as CYP450 são as enzimas mais importantes responsáveis pelo metabolismo fase I de xenobióticos. Contudo, existem outras enzimas que catalisam a biotransformação de substâncias tóxicas incluindo as carboxilesterases, as quais hidrolisam xenobióticos que contêm grupos funcionais incluindo ésteres de ácidos carboxílicos (procaína), amida (procaïnâmica), tioéster (espironolactona), éster de ácido fosfórico (paraoxon) e anídrido ácido. Outras enzimas capazes de realizar metabolismo fase I são as peptidases, a epóxido hidrolase, a DT-diaforase, a álcool desidrogenase, a aldeído desidrogenase, a xantina oxidase, a monoamino oxidase, a prostaglandina H sintetase e as flavina monooxigenases.

## Metabolismo fase II

O metabolismo fase II compreende reações de síntese (conjugação) nas quais um radical hidrofílico (e.g. sulfúrico, glicuronil ou glutationil) é adicionado ao composto original ou modificado durante o metabolismo fase I, a grupos funcionais pré-existentes na molécula, ou adicionados, ou expostos durante o metabolismo fase I. A maioria das enzimas de biotransformação fase II estão localizadas no citossol, exceto as UDP-glicuronosil-transferases, que são microsossomais. As reações fase II ocorrem com maior velocidade que as reações fase I (catalisadas geralmente pelas CYP450), de forma que a velocidade de eliminação dos xenobióticos, cuja excreção depende da biotransformação através de CYP450 seguida de conjugação fase II, está determinada pela primeira reação. As principais reações de conjugação ocorrem com o ácido glicurônico, sulfato e glutation (GSH).

## Glicuronidação

Quantitativamente a glicuronidação é a principal via de biotransformação de xenobióticos em mamíferos, exceto nos felinos. As enzimas responsáveis por essa reação denominam-se uridin-difosfo-glicuronosil-transferases (UGTs). Essa família de enzimas catalisa a transferência do açúcar-nucleotídeo do ácido uridina-5'-glicurônico (UDP-GA) a uma grande variedade de compostos endógenos e exógenos que contêm grupos funcionais nucleofílicos de oxigênio, nitrogênio, enxofre e carbono. Desta forma, os substratos para glicuronidação incluem compostos como álcoois alifáticos e fenóis (para formar éteres O-glicuronídeos), ácidos carboxílicos (para formar ésteres O-glicuronídeos), aminas aromáticas e alifáticas primárias e secundárias (para formar N-glicuronídeos), e grupos tiol livres (para formar S-glicuronídeos). Alguns poucos compostos (como a fenilbutazona) contêm átomos de carbono que são suficientemente nucleofílicos para formar C-glicuronídeos. A reação geral catalisada pelas UGTs é a seguinte:



O UDP-GA é sintetizado a partir de UDP-glicose, a qual é sintetizada da glicose-1-fosfato. A ligação entre o ácido glicurônico e UDP tem uma configuração  $\alpha$ , mas durante a reação de conjugação ocorre inversão da configuração do carbono assimétrico e o glicosídeo final tem configuração  $\beta$ . Contrariamente ao que ocorre com o cofator UDP-GA, os glicuronídeos constituem substratos apropriados para a enzima  $\beta$ -glicuronidase, a qual está presente na microflora intestinal. Com a hidrólise causada pela  $\beta$ -glicuronidase, libera-se a aglicona, que pode ser reabsorvida e entrar no ciclo

da circulação êntero-hepática. Os suínos, por exemplo, apresentam grande atividade  $\beta$ -glicuronidase em seu conteúdo intestinal, ocasionando que os glicuronídeos excretados na bile possam ser hidrolisados para formar o composto original, que pode assim entrar na circulação êntero-hepática, prolongar sua meia-vida e causar maiores efeitos adversos.

As UGTs são enzimas associadas a membranas com valor de Mr de ~50-60 kDa, ancoradas à membrana do REL mediante uma hélice hidrofóbica simples localizada perto do extremo carboxila da proteína. Acredita-se que a maior parte da proteína, incluindo o sítio ativo, esteja orientada para o lúmen do REL. A sequência de aminoácidos que determina a especificidade no substrato está localizada na segunda metade terminal do extremo amina do polipeptídeo UDP-GT. A orientação luminal do sítio ativo das UGTs tem levado a postular a existência de pelo menos dois transportadores de membrana, um dos quais transportaria o cofator UDP-GA desde o citossol até o interior do REL e outro que teria como função transportar o produto da glicuronidação desde o lúmen do REL para o citossol.

As UGTs humanas pertencem a três famílias de genes: UGT1, UGT2 e UGT8. Os membros da família UGT1 originam-se do mesmo gene mediante sobreposição alternada, enquanto os membros da família UGT2 são produzidos por diferentes genes. Dentro da família UGT1 há enzimas capazes de glicuronidar bilirrubina (UGT1A1), quinonas e fenóis, incluindo os produzidos a partir de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. A deficiência na atividade da enzima UGT1A1 ocasiona hiperbilirrubinemia não conjugada devido à deficiente conjugação da bilirrubina com o ácido glicurônico. Existem doenças genéticas tanto em humanos como em

animais associadas à atividade deficiente da UGT1A1. Mais adiante são descritos alguns exemplos dessas anormalidades.

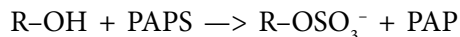
Em ratos, a UGT1A6 é a principal enzima UGT induzível mediante o 3-metilcolantreno, enquanto a contraparte (ortólogo) humana desta enzima conjuga UDP-GA com acetaminofen. A glicuronidação de acetaminofen nos humanos aumenta em fumantes e com o consumo de repolho e couve de Bruxelas, o que sugere que a UGT1A6, igual ao seu ortólogo no rato, é induzível pelos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e o indol-3-carbinol.

Os glicuronídeos podem ser excretados na urina ou na bile dependendo do peso molecular da aglicona (composto original ou metabólito fase I). No rato, os glicuronídeos são preferencialmente excretados na urina quando seu peso molecular é inferior a 250, ao passo que glicuronídeos de moléculas maiores (agliconas com peso molecular > 350) são excretados preferencialmente na bile.

### Conjugação com sulfatos

A conjugação com sulfatos (sulfatação) é uma das reações de conjugação mais importantes no metabolismo de uma grande variedade de compostos tanto endógenos como exógenos (xenobióticos). As sulfotransferases (SULTs) catalisam a transferência do grupo sulfonato do 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato (PAPS) a um composto receptor para formar um éster sulfato ou um sulfamato. A fenol-SULT 1 (SULT1A1, PST 1) é a mais importante das enzimas que catalisam a sulfatação de medicamentos. A SULT1A1 é uma enzima citossólica, homodimérica, com valor Mr monomérico de ~35 kDa. Uma grande variedade de compostos fenólicos endógenos e exógenos são sulfatados pela SULT1A1 humana e atividade desta enzima tem sido detectada em muitos tecidos

incluindo fígado, adrenais, pulmão, cérebro, plaquetas, jejuno e placenta. A reação geral catalisada pelas SULTs é a seguinte:



Em geral, a sulfatação é uma via de conjugação de xenobióticos de alta afinidade, porém de baixa capacidade, em contraste com a glicuronidação, a qual é uma via de conjugação de baixa especificidade mas de alta capacidade. A concentração celular de PAPS (~75 µM) é consideravelmente inferior à do UDP-GA (~350 µM) e GSH (~10 mM), o que limita a capacidade de sulfatação. O PAPS é sintetizado a partir de sulfato inorgânico e ATP, em duas reações sequenciais catalisadas pela sulfato-adenilil-transferase e pela adenilil-sulfato-quinase. Apesar de o fornecimento tisular de ATP ser normalmente adequado para estas reações, sob certas condições a concentração de sulfato inorgânico pode estar limitada e a disponibilidade de sulfato no organismo pode limitar o grau de sulfatação.

A sulfatação usualmente é uma reação de detoxificação que leva à rápida eliminação dos conjugados. Porém, em alguns casos a sulfatação causa uma ativação metabólica do composto a uma forma biologicamente ativa (e.g. colestistoquinina e minoxidil) ou a

uma forma tóxica. Em roedores, a sulfatação tem sido implicada na bioativação de vários compostos (por exemplo N-hidroxi-2-acetilaminofluorene e 7-hidroximetil-12-metilbenzantraceno) em metabólitos eletrofílicos altamente reativos e tóxicos.

Na atualidade considera-se que as SULTs são uma superfamília de enzimas que compreende três famílias (1, 2 e 4) e 10 membros individuais em humanos. O Quadro 1 resume as SULTs mais importantes: as três fenol-SULTs (SULT1A1, 1A2 e 1A3), a estrógeno-SULT (SULT1E1) e a hidroxisteroide-SULT (SULT2A1). As três fenol-SULTs e a estrógeno-SULT pertencem à mesma família (Família 1) enquanto a hidroxisteroide-SULT pertence a uma família diferente (Família 2). Somente existe um membro da família 4, a enzima SULT4A1, a qual é expressada no cérebro e não tem substrato conhecido. Enzimas pertencentes à mesma família compartilham uma identidade de aminoácidos de pelo menos 45 %. Em humanos existem duas subfamílias dentro da família 1: a subfamília A (“subfamília fenol-SULT”), correspondente a enzimas que catalisam preferencialmente a sulfatação de fenóis planares simples, e a subfamília B (“subfamília estrógeno-SULT”), a qual catalisa a sulfo-

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO DAS SULFOTRANSFERASES HUMANAS COM BASE NA SEQUÊNCIA PRIMÁRIA DE AMINOÁCIDOS

Família	Subfamília	Enzima
1 (Fenol-SULTs)	A (Fenol-SULTs)	SULT1A1
		SULT1A2
		SULT1A3
2 (Hidroxisteroide-SULT)	E (Estrógeno-SULTs)	SULT1E1
		A

Nota: “Famílias” de enzimas incluem proteínas com sequência idêntica em 45 % ou mais. Dentro das “subfamílias” a sequência é idêntica em 60 % ou mais.

nação de estrógenos. Os membros de uma mesma subfamília têm uma sequência de aminoácidos idêntica em 60 % ou mais. Em humanos, os três membros da subfamília 1 têm sido classificados conforme sua estabilidade térmica em duas formas termoes-táveis (SULT1A1 e SULT1A2) e uma forma termolábil (SULT1A3). O único membro da subfamília estrógeno SULT em humanos co-nhece-se como SULT1E1 e o único membro da família hidroxisteroide-SULT é conhe-cido como SULT2A1. Em contraste com os humanos, ao menos seis formas diferentes de fenol-SULT têm sido isoladas e caracteriza-das a partir de citossol hepático de rato.

Apesar de os cDNAs humanos para as SULTs 1A1, 1A2 e 1A3 terem uma identida-de de sequência de 94,3 %, codificam enzimas distintas que diferem não somente na sua es-trutura mas também em função, mecanismos de regulação e distribuição tisular.

A SULT1A1 catalisa a sulfoconjugação de p-nitrofenol e outros fenóis simples sen-do sensível à inibição por 2,6-dicloro-4-ni-trofenol (DCNP) e pentaclorofenol (PCP). A SULT1A3 é ativa com dopamina e outras monoaminas endógenas sendo resistente à inibição por DCNP e PCP. Tradicionalmente,

a dopamina tem sido o substrato mais utilizado para medir a atividade da SULT1A3, enquanto o p-nitrofenol é considerado o substrato mode-lo para a medição da atividade da SULT1A1. O substrato protótipo para a SULT2A1 hepática humana (hDHEAST) é a desidroepiandroste-rona (DHEA). Esta enzima também pode con-jujar outros esteroides incluindo testosterona, estrona e ácidos biliares, mas não catalisa a sulfoconjugação de fenóis. A SULT2A1 é resis-tente à inibição por DCNP. A estabilidade tér-mica, os substratos preferidos e a sensibilidade a inibidores das principais sulfotransferases são apresentados no Quadro 2.

Os sulfoconjugados de xenobióticos são eliminados principalmente na urina e em menor quantidade na bile. Similar ao que acontece com os glicuronídeos, os sul-foconjugados excretados na bile podem ser hidrolizados por aril-sulfatases presentes na microflora intestinal, liberando o composto original que pode assim entrar na circulação êntero-hepática.

#### Conjugação com glutatíon

O glutatíon (GSH, Figura 4) é um tri-peptídeo ( $\gamma$ -glutamil-cisteinil-glicina) pre-

QUADRO 2 – CARACTERÍSTICAS DAS SULFOTRANSFERASES HUMANAS MAIS ESTUDADAS.

Enzima	Estabilidade térmica	Substratos	Substrato modelo	Inibição por DCNP	Inibição por PCP
SULT1A1	estável	fenóis simples	p-nitrofenol	sensível <sup>1</sup>	sensível <sup>1</sup>
SULT1A3	lábil	monoaminas fenólicas	dopamina	resistente <sup>1</sup>	resistente <sup>1</sup>
SULT2A1	intermediária	hidroxi-esteroides, ácidos biliares, colesterol	DHEA	resistente <sup>2</sup>	?

Nota: Sinal convencional utilizado:

? Efeito desconhecido.

<sup>1</sup>Ver Rein, Glover e Sander (1982). <sup>2</sup>Ver Weinshilboum e Ottorness (1994).

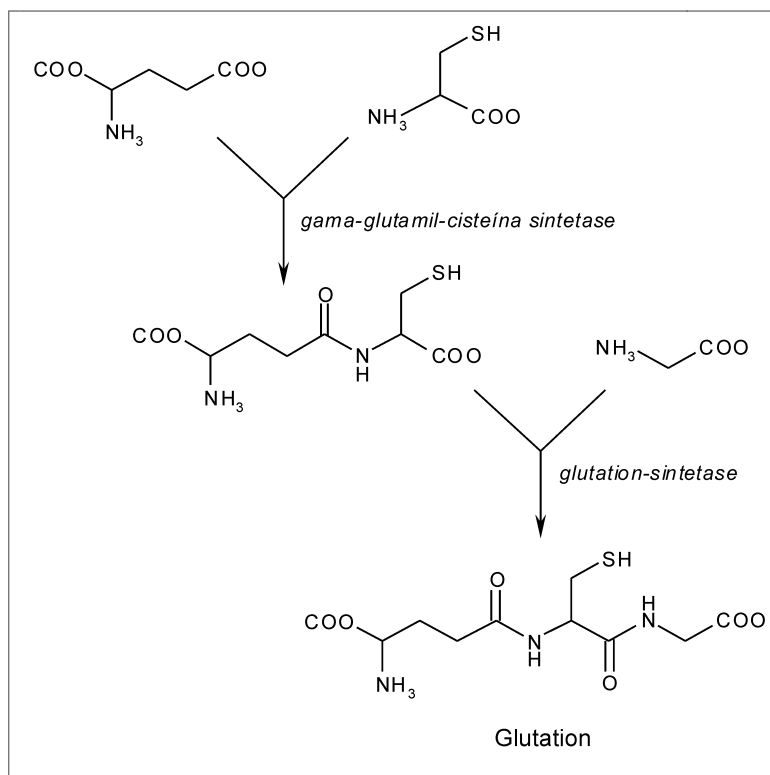
sente em grandes quantidades (10 mM) no citossol de muitas células. O GSH é sintetizado em duas reações sequenciais catalisadas pela gama-glutamil-cisteína sintetase e a glutathion sintetase. O GSH faz feedback negativo sobre a primeira enzima para controlar a sua síntese. A cisteína é o aminoácido limitante na síntese do GSH e, em intoxicações nas quais o GSH tem papel importante como agente detoxificante (por exemplo toxicose por acetaminofen), recomenda-se administrar um precursor de cisteína (N-acetil-cisteína) para favorecer a síntese de GSH.

O GSH é utilizado como cofator da superfamília de enzimas conhecidas como glutathion transferases (GST). As GSTs catalisam uma variedade de reações nas quais o ânion tiolato do GSH participa como nucleófilo e desta maneira inativa compostos eletrofílicos altamente reativos que de outra

forma poderiam reagir com macromoléculas celulares. As GSTs são proteínas intracelulares presentes na maioria de organismos aeróbicos (procariotas e eucariotas) protegendo as células contra a toxicidade e o estresse oxidativo induzido por muitas substâncias químicas, catalisando a sulfoconjugação entre o grupo tiol do GSH e a porção eletrofílica do substrato.

As GSTs estão presentes na maioria de tecidos atingindo altas concentrações no fígado, rim, testículos, adrenais e pulmões, onde estão localizadas principalmente no citoplasma (> 95 %) e em menor proporção no REL (< 5 %).

Quatro classes de enzimas solúveis e microsomais têm sido identificadas em humanos: alpha (A), mu (M), pi (P) e theta (T). Os membros de uma mesma classe têm sequên-



**Figura 4** - Reações na biossíntese do glutathion.

cias idênticas em mais de 90 %. As enzimas citossólicas são dímeros com subunidades de ~25 kDa, enquanto a forma microsomal é uma proteína trimérica (com subunidades de 17 kDa). Dentro de cada classe, a enzima pode estar conformada por sequências de proteínas (subunidades) iguais ou diferentes.

As GSTs são proteínas extremamente abundantes no citossol dos hepatócitos conformando cerca de 5 % da proteína citossólica no fígado humano e até 10 % no rato. A abundância de GSTs no citossol parece estar relacionada com sua capacidade de unir-se de forma inespecífica a substâncias tóxicas, “sequestrando-as” e impedindo seu efeito tóxico. A capacidade das GSTs de unir-se inespecificamente a substâncias químicas fez com que fossem denominadas “ligandinas”.

Considera-se que as GSTs conformam a família de enzimas mais importante no metabolismo de compostos alquilantes. Protegem as células contra a toxicidade e o estresse oxidativo induzidos por certas substâncias químicas e, além disso, previnem o dano oxidativo por sua atividade GSH peroxidase intrínseca. Apesar de as GSTs terem atividade peroxidase, elas são enzimas diferentes da glutathion peroxidase.

### Metilação

A metilação é uma reação fase II comum, porém de menor relevância na biotransformação de substâncias tóxicas. Difere das demais reações de conjugação em que diminui a hidrossolubilidade dos xenobióticos com o que pode mascarar grupos funcionais que de outra forma poderiam ser conjugados por outras enzimas fase II. O cofator para a metilação é a S-adenosilmetionina (SAM) e os grupos funcionais suscetíveis de sofrer a conjugação com o radical metila correspondem a fenóis, catecóis, aminas alifáticas e aromáticas, compostos N-heterocíclicos e compostos

que contêm grupos sulfidríla (-SH). As enzimas responsáveis pela metilação de fenóis e catecóis são conhecidas como fenol O-metil-transferase (POMT) e catecol O-metil-transferase (COMT), respectivamente.

### Acetilação

A N-acetilação é a principal rota de biotransformação de xenobióticos que contêm grupos amina ( $R-NH_2$ ) ou hidrazina ( $R-NH-NH_2$ ), os quais são convertidos em amidas ( $N-NH-COCH_3$ ) e hidrazidas ( $R-NH-NH-COCH_3$ ), respectivamente. A N-acetilação é catalisada por N-acetil transferases que utilizam como cofator acetil-coenzima A (acetil-CoA). Os humanos, coelhos e porquinhos-da-índia expressam constitutivamente duas N-acetiltransferases conhecidas como NAT1 e NAT2.

### Rodanase

A rodanase é uma enzima mitocondrial que converte o cianeto ( $CN^-$ ) num metabolito bem menos tóxico (tiocianeto,  $SCN^-$ ) usando como cofator o enxofre que toma do tiosulfato ou de algum outro composto doador de enxofre. Esta reação é chave na detoxificação do íon nitrila proveniente de fontes como os sais de cianeto (NaCN ou KCN) ou das plantas tóxicas conhecidas como plantas cianogênicas.

### Fase III: excreção

Intensos estudos realizados nos últimos anos têm levado à caracterização funcional e molecular de várias proteínas encarregadas de transportar xenobióticos de um lado da membrana celular ao oposto para internalizar ou para excretar. Esses estudos têm identificado transportadores de membrana específicos localizados nos domínios basolateral

(basal) e canalicular (apical) do hepatócito. O hepatócito, igual às células epiteliais, apresenta polaridade, isto é, apresenta assimetria espacial. Todas as células estão rodeadas por uma membrana plasmática composta por uma bicamada lipídica rica em proteínas. Nas células epiteliais e nos hepatócitos, essa membrana está dividida em dois domínios funcionais: o domínio apical orientado para o espaço central do órgão e o domínio basolateral orientado para as células adjacentes e o tecido subjacente. Esses domínios têm funções e composição diferentes. Adicionalmente, os domínios apical e basolateral estão separados por junções especiais entre células vizinhas, conhecidas como junções “tight”. As junções “tight” evitam que as proteínas se difundam de um domínio ao outro e atuam também como uma chancela entre células adjacentes para prevenir que moléculas de grande tamanho atravessem a camada epitelial. O domínio lateral dos hepatócitos não tem funções de transporte de moléculas e corresponde ao segmento da membrana que faz contato com a do hepatócito adjacente. O Quadro 3 resume as características dos diferentes domínios da membrana do hepatócito.

A Figura 5 mostra os principais transportadores basolaterais e canaliculares do hepatócito. O polipeptídeo transportador de ânion orgânico ou OATP (*organic anion transporter polypeptide*) localizado na membrana basolateral do hepatócito é o responsável pelo transporte de xenobióticos desde o espaço sinusoidal para o interior da célula. Estando ali, os xenobióticos não conjugados de caráter neutro, aniônico ou catiônico podem ser secretados na bile pela proteína MRD-1 (*multidrug-resistance P-glycoprotein*) localizada no domínio canalicular.

Os xenobióticos conjugados (por exemplo, glicuronídeos e conjugados do glutathion mencionados anteriormente) são secretados aos canalículos biliares pelo transportador

cMOAT (*canalicular multispecific organic anion transporter*). Outros transportadores têm importante papel fisiológico incluindo a captura basolateral de sais biliares (NCTP, *sodium-taurocholate cotransporter*) e a secreção na bile de sais biliares conjugados e não conjugados (BSEP, bile salt export pump) e de fosfolipídeos (MDR2). O número total de transportadores canaliculares e basolaterais do hepatócito não se conhece ainda, mas os estudos atuais assinalam a existência de ao menos quatro presentes na membrana basolateral e cinco no domínio canalicular.

Os transportadores de membrana têm importante papel na cinética de eliminação dos compostos tóxicos e a alteração de suas funções, seja congênita ou adquirida, leva a doenças metabólicas de severidade variável. Alguns exemplos de anormalidades congênitas em transportadores Fase III são resumidos a seguir. Em geral, estas anormalidades levam à apresentação de hiperbilirrubinemias hereditárias crônicas.

#### Hiperbilirrubinemia não conjugada

Caracterizada pela deficiência na atividade da bilirrubina UDP-glicuronosil transferase (UGT1A1). Pode ser de três tipos:

1. Síndrome Criegler-Najjar tipo I: o mais severo, não se detecta atividade UGT1A1 ou somente em níveis muito baixos.
2. Síndrome Criegler-Najjar tipo II: detecta-se atividade residual UGT1A1 baixa.
3. Síndrome de Gilbert: deficiência leve na atividade de glicuronidação acompanhada de níveis levemente elevados de bilirrubina.

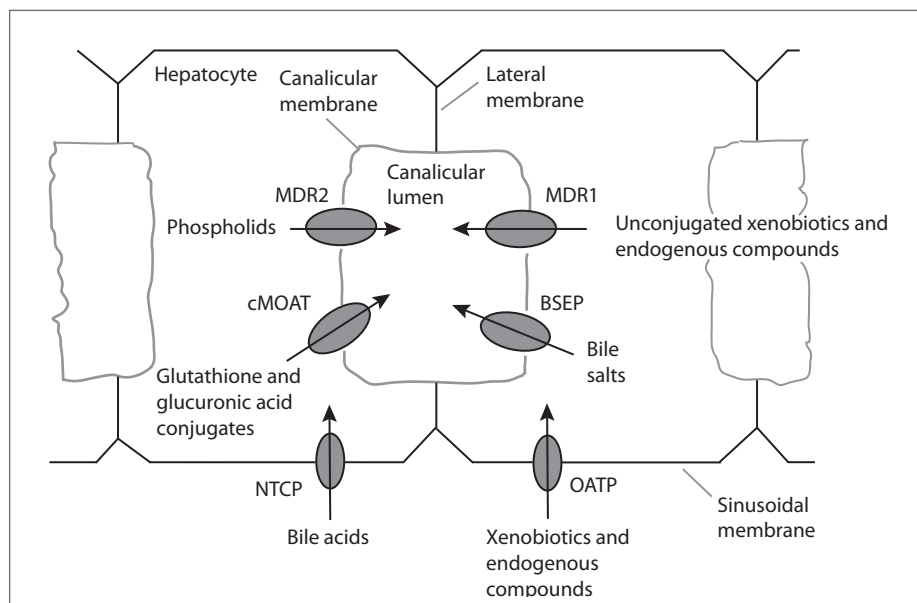
#### Hiperbilirrubinemias conjugadas

- Síndrome Dubin-Johnson: não existe cMOAT. Anormalidade benigna de rara ocorrência.



QUADRO 3 – CARACTERÍSTICAS DOS DIFERENTES DOMÍNIOS DA MEMBRANA DO HEPATÓCITO.

Membrana	Área superficial	Microvilosidades	Transportadores
Canalicular (apical)	15%	Sim	Sim
Lateral	15%	Não	Não
Basolateral (sinusoidal)	70%	Sim	Sim



**Figura 5** - Representação esquemática de dois hepatócitos adjacentes incluindo um canalículo biliar que mostra as principais proteínas envolvidas na captura e excreção de xenobióticos e componentes biliares.

Fonte: Diaz (2000).

cia descrita pela primeira vez em 1954. A histologia do fígado é normal exceto pela acumulação característica de pigmento escuro (melanina) nos lisossomos. Apresenta excreção urinária compensatória de LTC<sub>4</sub> (leucotrieno C<sub>4</sub> conjugado com GSH). A excreção urinária de coproporfirina é anormal e diagnóstica: relação corproporfirina I/III elevada. Dois tipos de corproporfiri-

nas encontram-se normalmente na circulação: o isômero III (precursor na síntese do grupo heme) e o isômero I (produto de degradação do grupo heme). Normalmente, a excreção total de coproporfirinas (I e III) é três vezes maior na bile que na urina, excretando-se na bile 75 % do isômero I e 25 % do III e na urina 25 % do isômero I e 75 % do isômero III. Na síndrome Dubin-

-Johnson a excreção urinária total de coproporfirina não é alterada, porém mais de 80 % correspondem ao isômero I.

- Síndrome de Rotor: doença benigna autosômica recessiva similar à síndrome Dubin-Johnson, mas sem acúmulo de pigmento nos lisossomos dos hepatócitos. Há aumento sérico de bilirrubina conjugada e icterícia não prurítica. Não requer tratamento.

- Colestase intra-hepática familiar progressiva tipo 2 (PFIC2): não existe o transportador BSEP. Caracterizada por uma alteração na excreção canalicular de sais biliares em presença de níveis séricos normais de colesterol e de gama-glutamil-transpeptidase (GGT). O transportador SPGP (BSEP) não é funcional em pacientes que sofrem desta síndrome devido a várias mutações no gene SPGP. Os pacientes morrem na infância devido à falha hepática.

- Colestase intra-hepática familiar progressiva tipo 3 (PFIC3): não existe o MRD3. A colestase está acompanhada de níveis séricos elevados de GGT.

#### MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE AÇÃO DE TÓXICOS RELEVANTES EM MEDICINA VETERINÁRIA

As intoxicações que ocorrem nos animais podem afetar o metabolismo de diversas formas, entre as quais estão o bloqueio à cadeia respiratória, a alteração no DNA, o bloqueio ao ciclo de Krebs, a interferência no transporte de oxigênio e a inibição (reversível e irreversível) de enzimas. A seguir, são apresentados alguns exemplos de tóxicos de importância em veterinária que atuam através desses mecanismos.

#### **Tóxicos que bloqueiam a cadeia respiratória**

A intoxicação pelo ácido cianídrico (HCN) e seus sais (cianetos sódico e potássico)

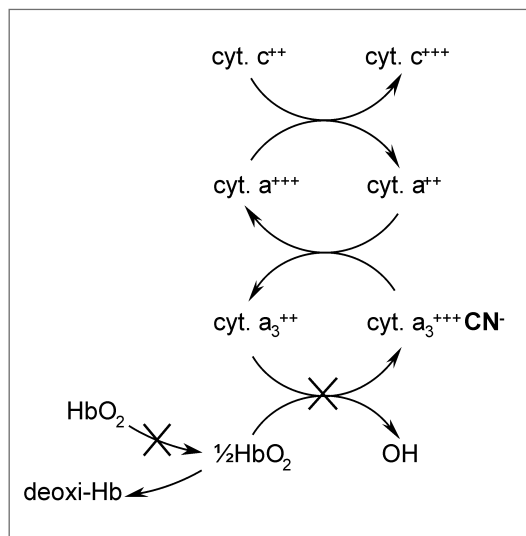
está caracterizada pela impossibilidade de utilizar oxigênio em nível celular. O cianeto (mais exatamente, o íon nitrilo  $CN^-$ ) liga-se ao ferro férrico ( $Fe^{3+}$ ) das citocromo oxidases a3 mitocondriais, bloqueando a transferência de elétrons e a respiração celular ao impedir que a oxiemoglobina possa liberar o oxigênio (Figura 6). O sangue permanece oxigenado (inclusive o sangue venoso) fazendo com que fique com uma coloração vermelho-cereja, característica da intoxicação.

#### **Tóxicos que alteram o DNA**

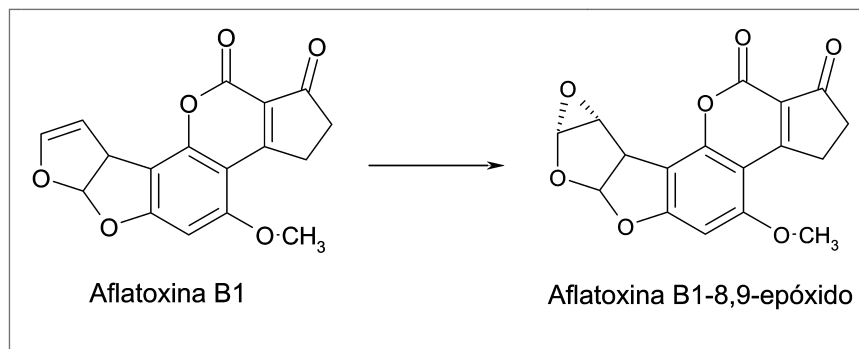
As aflatoxinas, especialmente a aflatoxina B1, é bioativada através de enzimas CYP450 em um metabólito eletrofílico, altamente reativo e instável que, após formado, reage com macromoléculas, especialmente com DNA. Este metabólito, conhecido como aflatoxina-8,9-epóxido (Figura 7), é capaz de unir-se aos resíduos de guanina dos ácidos nucleicos causando alterações irreversíveis que podem levar à carcinogenicidade, mutagenicidade e teratogenicidade. A aflatoxina B1 é a única micotoxina classificada no Grupo I (compostos carcinogênicos para humanos) da Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (IARC, na sigla em inglês).

#### **Tóxicos que bloqueiam o ciclo de Krebs**

O fluoracetato de sódio, também chamado de “composto 1080”, é uma substância muito tóxica sendo metabolizada através de um mecanismo conhecido como síntese letal, que leva ao bloqueio do ciclo de Krebs. Após absorvido, o fluoracetato é bioativado em fluoroacetil-CoA, substituindo o acetil-CoA na conjugação com oxalacetato e formando fluorocitrato (em vez do citrato). O fluorocitrato inibe a enzima aconitase, a qual é responsável por converter o ácido cítrico



**Figura 6** - Ligação do íon CN<sup>-</sup> ao ferro férrico (Fe<sup>+3</sup>) da citocromo oxidase a3, causando bloqueio da respiração celular.



**Figura 7** - Bioativação da aflatoxina B1 em seu correspondente 8,9-epóxido. Esta reação é catalisada pelas CYP450 1A2, 3A4 e 2A6.

em ácido cis-aconítico/isocítrico (Figura 8). A inibição da aconitase pelo fluorocitrato ocasiona um acúmulo letal de ácido cítrico. O citrato acumulado pode ligar-se ao cálcio sérico causando hipocalcemia e adicionalmente produzir acidose metabólica.

### **Tóxicos que interferem com o transporte de oxigênio**

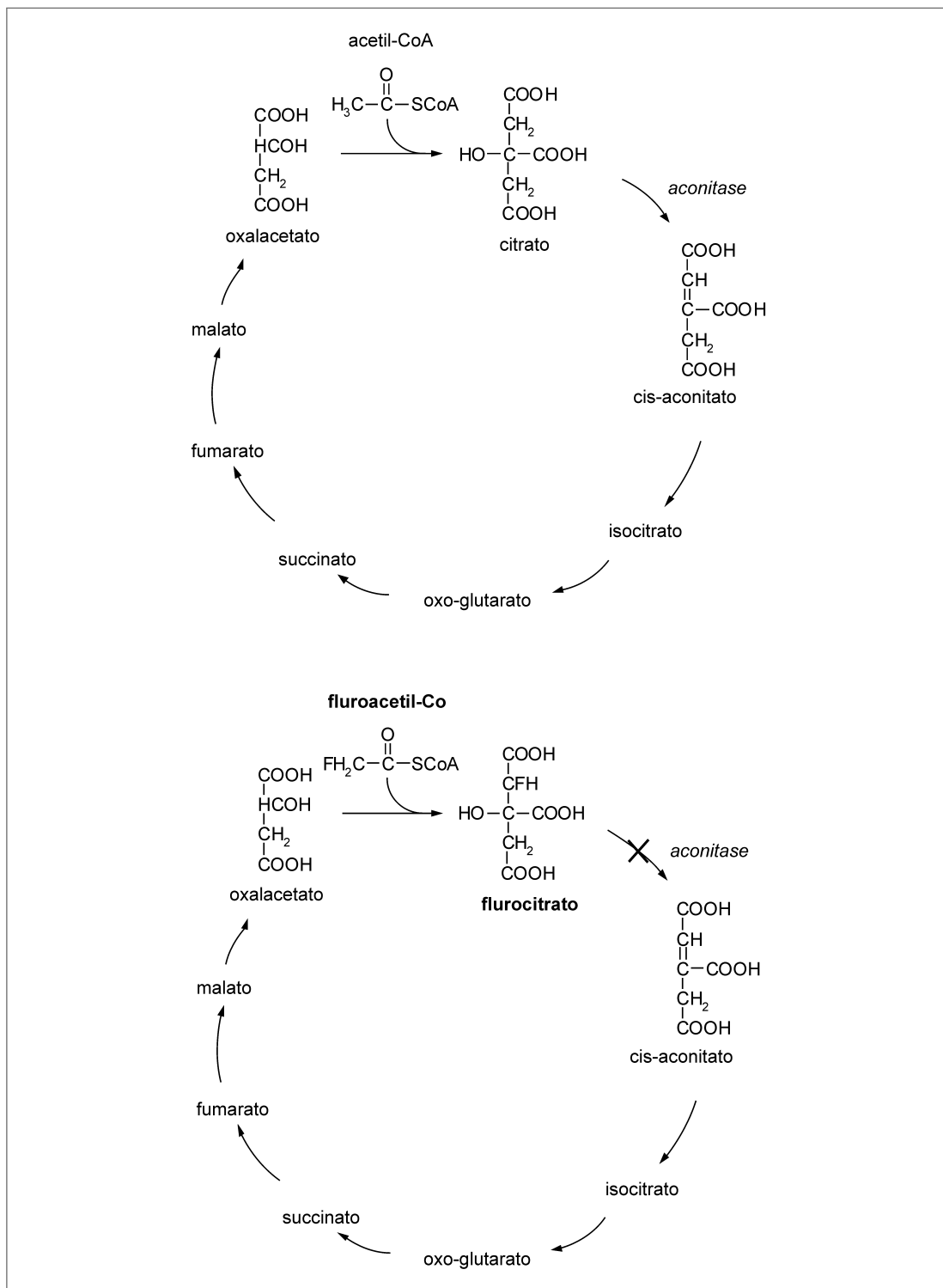
Algumas substâncias tóxicas podem ligar-se à hemoglobina (Hb) ou podem alterar o estado de oxidação do ferro do grupo heme afetando o transporte de oxigênio. O monóxido de carbono (CO), por exemplo, une-se à Hb no sítio onde normalmente se liga o O<sub>2</sub>. Esta união é reversível, porém o CO tem uma afinidade muito maior pela Hb que o O<sub>2</sub> sendo que, a concentrações relativamente baixas de CO no ar inspirado, uma fração elevada da Hb é transformada em carbomonoxi-Hb (CO + Hb). Em fumantes habituais 5-10 % da Hb circula como carbomonoxi-Hb. Outra forma da Hb incapaz de transportar O<sub>2</sub> é a metemoglobina (MHb), forma oxidada da Hb. Na MHb o ferro, que normalmente está na forma ferrosa (Fe<sup>2+</sup>), fica na forma férrica (Fe<sup>3+</sup>), a qual não pode reagir com o O<sub>2</sub>. Existem várias substâncias metemoglobinizantes, incluindo o clorato de sódio (NaClO<sub>3</sub>, usado como herbicida), as aminas aromáticas (anilina), os compostos nitroaromáticos (transformados em aminas aromáticas pelo organismo), as sulfonamidas, a nitrofurantoína e os nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). Estes últimos são muito importantes na toxicologia veterinária, particularmente em animais ruminantes. Diferentemente da intoxicação com cianeto, no caso da intoxicação por compostos metemoglobinizantes, o sangue fica com coloração café ou achocolatada.

### **Tóxicos que causam inibição reversível de enzimas**

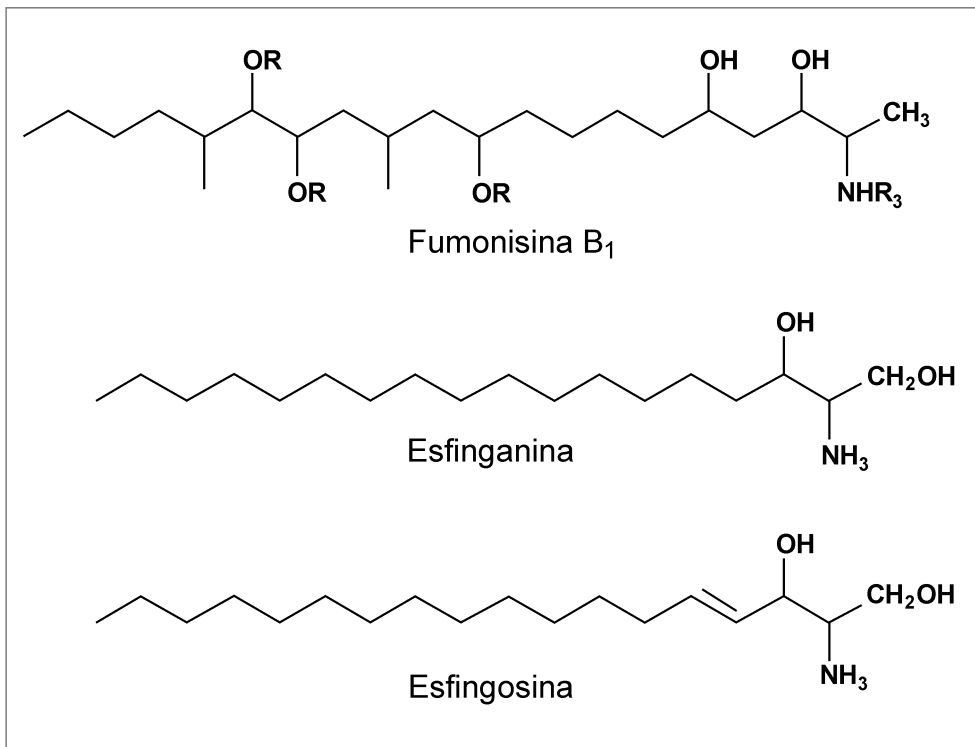
Algumas substâncias tóxicas atuam como inibidores competitivos de enzimas ao serem reconhecidas como substrato, sem que ocorra biotransformação. Um exemplo deste mecanismo de ação é o das micotoxinas produzidas pelo fungo *Fusarium verticillioides*, conhecidas como fumonisinas. Estas substâncias, devido a sua similaridade estrutural com os substratos naturais (Figura 9), são confundidas pelas enzimas esfinganina e esfingosina N-acil-transferases, causando bloqueio na síntese de esfingolípídeos complexos. As fumonisinas, especialmente a fumonisina B1, causa leucoencefalomalácia nos equinos e edema pulmonar nos suínos.

### **Tóxicos que causam inibição irreversível de enzimas**

O exemplo clássico de inibidores irreversíveis de enzimas são os inseticidas organofosforados, inibidores da acetilcolinesterase (AChE) e outras esterases. O grupo fosfato do inseticida reage de forma covalente com o sítio ativo da enzima impedindo que se una a seu substrato (acetilcolina) para hidrolisá-lo em acetato e colina. Outros inibidores enzimáticos menos seletivos são o arsênico (um metaloide) e os metais pesados mercúrio e chumbo. Esses elementos inibem grande quantidade de enzimas reagindo covalentemente com os grupos tiol (-SH) presentes na estrutura da enzima, os quais são indispensáveis para a atividade enzimática. A administração de compostos quelantes com grupos -SH como o BAL (British Anti-Lewisite) previne o efeito tóxico.



**Figura 8** - Ciclo de Krebs normal (acima) e bloqueado por fluoracetato (abaixo). A inibição da enzima aconitase ocasiona acúmulo de citrato e queda no pH sanguíneo.



**Figura 9** - Estrutura química da fumonisina B<sub>1</sub> e das bases esfinganina e esfingosina. A homologia estrutural da fumonisina com essas bases a torna reconhecida como substrato pelas enzimas esfinganina e esfingosina N-acil-transferases.

## REFERÊNCIAS

- AKSOY, I. A.; WEINSHILBOUM, R. M. Human thermolabile phenol sulfotransferase gene (STM): molecular cloning and structural characterization. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 208, p. 786-795, 1995.
- BOCK, K.W. et al. The influence of environmental and genetic factors on CYP2D6, CYP1A2 and UDP-glucuronosyltransferases in man using sparteine, caffeine, and paracetamol as probes. *Pharmacogenetics*, v. 4, p. 209-218, 1994.
- CLARKE, D. J.; BURCHELL, B. The uridine diphosphate glucuronosyltransferase multigene family: function and regulation. In: KAUFFMAN, F. C. (Ed.). *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 112, Conjugation-Deconjugation Reactions in Drug Metabolism and Toxicity. Springer-Verlag, Berlin, pp. 3-43, 1994.
- DIAZ, G. J. Basolateral and canalicular transport of xenobiotics in the hepatocyte: A review. *Cytotechnology*, v. 34, p. 225-236, 2000.
- DIAZ, G. J.; SQUIRES, E. J. Metabolism of 3-methylindole by porcine microsomes: responsible cytochrome P450 enzymes. *Toxicological Sciences*, v. 55, p. 284-292, 2000.
- DIAZ, G. J.; SQUIRES, E. J. Role of aldehyde oxidase in the hepatic in vitro metabolism of 3-methylindole in pigs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.48, p.833-837, 2000.
- DIAZ, G. J.; SQUIRES, E. J. Phase II in vitro metabolism of 3-methylindole metabolites in porcine liver. *Xenobiotica*, v. 33, p. 485-498, 2003.
- DIAZ, G. J. et al. Identification of Phase I metabolites of 3-methylindole produced by pig liver microsomes. *Drug Metabolism and Disposition*, v. 27, p. 1150-1156, 1999.
- FALANY, C. N. Enzymology of human cytosolic sulfotransferases. *Faseb Journal*, v. 11, p. 206-216. 1997.
- HERNÁNDEZ, S. J.; POWERS, S.P.; WEINSHILBOUM, R.M. Human liver arylamine N-sulfotransferase activity. Thermostable phenol sulfotransferase catalyzed the N-sulfation of 2-naphthylamine. *Drug Metabolism and Disposition*, v. 19, p. 1071-1079, 1991.
- JOSEPHY, P. D. *Molecular Toxicology*. New York: Oxford University Press. 1997.
- JOSEPHY, P. D.; MANNERVIK B. *Molecular Toxicology*, 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2006.
- LOZANO, M. C.; DIAZ, G.J. Microsomal and cytosolic biotransformation of aflatoxin B1 in four poultry species. *British Poultry Science*, v. 47, p. 734-741, 2006.
- MACKENZIE, P. I. Expression of chimeric cDNAs in cell culture defines a region of UDP glucuronosyltransferase involved in substrate selection. *Journal of Biological Chemistry*, v.265, p.3432-3435, 1990.
- MACKENZIE P. I. et al. The UDP glycosyltransferase gene superfamily: recommended nomenclature update based on evolutionary divergence. *Pharmacogenetics*, v. 7, p. 255-269, 1997.
- MULDER, G. J. Sulfate availability in vivo. In: MULLER, G. J. (Ed.). *Sulfation of Drugs and Related Compounds*, CRC Press, Boca Raton, pp. 31-52, 1981.
- MULDER, G. J.; JAKOBY, W. B. Sulfation. In: MULDER, G. J. (Ed.). *Conjugation reactions in Drug Metabolism*. Taylor and Francis, London, pp. 107-161, 1990.
- NELSON, D. R. et al. P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics*, v. 6, p. 1-42. 1996.
- OMURA, T.; SATO, R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *Journal of Biological Chemistry*, v. 239, p. 2370-2378, 1964.
- PARKINSON, A. Biotransformation of Xenobiotics. In: KLAASSEN, C. D. (Ed.) *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 5th Edn. McGraw-Hill, New York, pp. 113-186, 1996.

- PORTER, T. D.; M. J. COON. Cytochrome P-450: Multiplicity of isoforms, substrates, and catalytic and regulatory mechanisms. *Journal of Biological Chemistry*, v. 266, p. 13469-13472, 1991.
- RADOMINSKA, A. et al. Human liver steroid sulphotransferase sulphates bile acids. *Biochemical Journal*, v. 272, p. 597-604, 1990.
- REIN, G.; GLOVER, V.; SANDLER M. Multiple forms of phenolsulfotransferase in human tissues. Selective Inhibition by dichloronitrophenol. *Biochemical Pharmacology*, v. 31, p. 1893-1897, 1982.
- RITTER, J. K. et al. A novel complex locus UGT1 encodes human bilirubin, phenol, and other UDP-glucuronosyltransferase isozymes with identical carboxyl termini. *Journal of Biological Chemistry*, v. 267, p. 3257-3261, 1992.
- RUNGE-MORRIS, M. A. Regulation of expression of the rodent cytosolic sulfotransferases. *FASEB Journal*, 11:109-117, 1997.
- SALINAS, A.E.; WONG, M. G. Glutathione S-transferases: A Review. *Current Medicinal Chemistry*, v. 6, p. 279-310, 1999.
- SEPPEN, J. et al. A mutation which disrupts the hydrophobic core of the signal peptide of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase, an endoplasmic reticulum membrane protein, causes Crigler-Najjar type II. *FEBS Letters*, v. 390, p. 294-298, 1996.
- SHIMADA, T. et al. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 270, p. 414-423, 1994.
- SPOELSTRA, S. K. Simple phenols and indoles in anaerobically stored piggy wastes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 28, p. 415-423, 1977.
- TIMBRELL, J. A. *Principles of Biochemical Toxicology*. 2nd ed. Taylor and Francis, London. 1992.
- WEINSHILBOUM, R. Sulfotransferase pharmacogenetics. *Pharmacology and Therapeutics*, v. 45, p. 93-107, 1990.
- WEINSHILBOUM, R.; OTTORNESS D. Sulfotransferase enzymes. In: KAUFFMAN, F. C. (Ed.). *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 112, Conjugation-Deconjugation Reactions in Drug Metabolism and Toxicity. Springer-Verlag, Berlin, pp. 45-78, 1994.
- WEINSHILBOUM R. M. et al. Sulfotransferase molecular biology: cDNAs and genes. *FASEB Journal*, v. 11, p. 3-14, 1997.
- WERCK-REICHHART, D. Cytochromes p450: a success story. *Genome Biology*, v. 1(6), Dec. 2000.
- WILBORN, T. W. et al. Sequence analysis and expression of the cDNA for the phenol-sulfating form of human liver phenol sulfotransferase. *Molecular Pharmacology*, v. 43, p. 70-77, 1993.





# Série Graduação

**Físico-química:** um estudo dirigido sobre equilíbrio entre fases, soluções e eletroquímica

*Yeda Pinheiro Dick e Roberto Fernando de Souza*

**Físico-química I:** termodinâmica química e equilíbrio químico

*Luiz Pilla*

**Histologia:** texto, atlas e roteiro de aulas práticas

*Tatiana Montanari*

**Introdução à bioquímica clínica veterinária (3. ed. revisada e ampliada)**

*Félix H. Díaz González e Sérgio Ceroni da Silva*

**Métodos numéricos**

*Alejandro Borche*

**Ciências Humanas:** pesquisa e método

*Celi Regina Jardim Pinto e Cesar A. Barcellos Guazzelli (Org.)*

**Pesquisa quantitativa nas Ciências Sociais**

*Marcello Baquero*

**Físico-química II:** equilíbrio entre fases, soluções líquidas e eletroquímica  
**(2. ed. rev. e atual.)**

*Luiz Pilla*

**Introdução à cefalometria radiográfica (4. ed. revisada e ampliada)**

*Cléber Bidegain Pereira, Carlos Alberto Mundstock e Telmo Bandeira Berthold (Org.)*

**Pré-Cálculo (3. ed.)**

*Claus Ivo Doering, Liana Beatriz Costi Nácul e Luisa Rodríguez Doering (Org.)*

**Gestão ambiental em bibliotecas:** aspectos interdisciplinares sobre ergonomia, segurança, condicionantes ambientais e estética nos espaços de informação

**(2. ed. revista e ampliada)**

*Jussara Pereira Santos (Org.)*

**Planejamento em saúde coletiva:** teoria e prática para estudantes e profissionais da saúde

*Deison Alencar Lucietto, Sonia Maria Blauth de Slavutzky*

*e Vania Maria Aita de Lemos*

**Química geral experimental**

*Mara Bertrand Campos de Araujo e Suzana Trindade Amaral*

**Tópicos educacionais I**

*Maria Bernadette Castro Rodrigues e Maria Isabel Habstock Dalla Zen (Org.)*

**Tópicos de Físico-química**

*José Schifino*

**Transtornos metabólicos nos animais domésticos (2. ed.)**

*Félix H. Díaz González, Márcio Nunes Corrêa e Sérgio Ceroni da Silva*

**As melhores práticas em Biblioteconomia no Rio Grande do Sul**

*Jussara Pereira Santos (Org.)*



Este livro foi composto na tipologia Minion Pro, em corpo 11,2  
e impresso no papel Offset 90 g/m<sup>2</sup>

---

Editora da UFRGS • Ramiro Barcelos, 2500 – Porto Alegre, RS – 90035-003 – Fone/fax (51) 3308-5645 – editora@ufrgs.br –  
www.editora.ufrgs.br • Direção: Alex Niche Teixeira • Editoração: Luciane Delani (coordenadora), Carla M. Luzzatto, Clarissa Felkl  
Prevedello, Cláudio Marzo da Silva, Cristina Thumé Pacheco e Lucas Ferreira de Andrade • Administração: Aline Vasconcelos da  
Silveira, Cláudio Oliveira Rios, Fernanda Kautzmann, Gabriela Campagna de Azevedo, Getúlio Ferreira de Almeida, Heloísa Polese  
Machado, Janer Bittencourt, Jaqueline Trombin e Laerte Balbinot • Apoio: Luciane Figueiredo



Este livro foi escrito com a finalidade de facilitar a abordagem à Bioquímica Clínica, incluindo os transtornos metabólicos, endócrinos e minerais nos animais domésticos.

Reúne, ao mesmo tempo, conceitos básicos do metabolismo e aspectos aplicados da clínica veterinária.

Além de servir como livro-texto para estudantes de Medicina Veterinária, o texto inclui informações relevantes também aos profissionais da área. A obra reflete o trabalho de mais de duas décadas realizado junto a alunos de graduação e de pós-graduação em Medicina Veterinária.