

VALORES DE REFERÊNCIA E INFLUÊNCIA DO FATOR ETÁRIO SOBRE OS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS UTILIZADOS PARA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO HEPÁTICA DE BUBALINOS HÍGIDOS DA RAÇA MURRAH

REFERENCE VALUES AND INFLUENCE OF AGE IN BIOCHEMISTRY OF LIVER FUNCTION IN HEALTHY MURRAH BUFFALOES

V. GOMES¹, K. M. MADUREIRA³, M. G. BLAGITZ³, J. GALDINO⁴,
G. VANTIM⁴, F. J. BENESI²

RESUMO

Para o estabelecimento de valores bioquímicos de referência e verificação da influência do fator etário sobre os parâmetros bioquímicos para avaliação da função hepática de bubalinos hígidos da raça Murrah, utilizaram-se amostras de soro sanguíneo de 125 animais, distribuídos em 04 grupos experimentais, de acordo com a idade: 0 a 3 meses de idade (Grupo 1 – G1), 4 a 6 meses de idade (Grupo 2 – G2); 7 a 12 meses de idade (Grupo 3 – G3), e com idade superior a 01 ano (Grupo 4 – G4). Os constituintes bioquímicos estudados foram: enzimas gama glutamiltransferase (GGT) e aspartato aminotransferase (AST), além da verificação dos teores séricos da proteína total (PT), da albumina e das globulinas. As atividades das enzimas GGT e AST foram determinadas através da utilização de kits cinéticos ultravioletas e a leitura realizada em aparelho analisador bioquímico semi-automático. Os valores da PT e albumina foram determinados através da utilização de métodos colorimétricos e a leitura foi realizada em espectrofotômetro. O teor sérico das globulinas foi determinado pela subtração da albumina sobre os valores séricos de PT. A atividade da GGT foi de 35,9; 19,6; 25,1; e 33,3 UI/L, respectivamente, nos animais dos grupos 1, 2, 3 e 4, sendo significativamente maior nos G1 e G4. A atividade da AST menor nos primeiros meses de vida – G1 (92,3 UI/L), aumentando para 128, 177 e 143 UI/L nos animais dos grupos 2, 3 e 4, respectivamente. Os valores médios encontrados foram de 8,2; 7,0; 6,9; 7,7 g/dL de PT; 2,4; 2,2; 2,1; e 2,5 g/dL de albumina; e 5,8; 4,7; 4,7; e 5,1 g/dL de globulinas, respectivamente, nos animais dos grupos 1, 2, 3 e 4. Com base nos resultados obtidos, foi possível verificar a influência dos fatores etários nos parâmetros avaliados.

PALAVRAS-CHAVE: Função hepática. Bubalinos. Bioquímica clínica. Murrah

SUMMARY

In order to determine biochemical reference values and to assess the influence of age in the biochemistry of liver function in healthy Murrah buffaloes, serum samples of 125 animals were analyzed. Buffaloes were divided into four experimental groups according to age: 0 to 3 months (Group 1 – G1), 4 to 6 months (Group 2 – G2), 7 to 12 months (Group 3 – G3), and over 01 year of age (Group 4 – G4). The following biochemical parameters were analyzed: enzymes gamma glutamyl transferase (GGT) and aspartate aminotransferase (AST), total serum protein (PT), albumin and globulin. GGT and AST activities were determined by means of UV assays and reading was carried out in a semi-automatic biochemistry analyzer. PT and albumin were determined by colorimetric methods and reading was carried out in a spectrophotometer. Serum globulin concentration was determined by subtracting albumin from total protein concentration. GGT activity was equal to 35.9; 19.6; 25.1; and 33.3 IU/L in animals of Groups 1, 2, 3 and 4, respectively, and was significantly greater in G1 and G4. AST activity was lower in the first months of life– G1 (92.3 IU/L), increasing to 128, 177 and 143 IU/L in animals of Groups 2, 3 and 4, respectively. Mean values recorded for PT were 8.2; 7.0; 6.9; 7.7 g/dL; albumin, 2.4; 2.2; 2.1; and 2.5 g/dL; and globulins, 5.8; 4.7; 4.7; and 5.1 g/dL in animals of Groups 1, 2, 3 and 4, respectively. Based on these results it was possible to assess the influence of age in the parameters studied.

KEY WORDS: Liver function. Buffaloes. Clinical biochemistry.

¹ Professora Doutora – Departamento de Clínica Médica – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo, E.mail: viviani.gomes@usp.br.

² Professor Titular – Departamento de Clínica Médica - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo.

³ Doutoranda - Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo.

⁴ Médica-veterinária autônoma.

INTRODUÇÃO

As provas bioquímicas realizadas no soro sanguíneo dos animais domésticos apresentam resultados que constituem excelente subsídio ao diagnóstico das enfermidades do fígado, sendo esses exames reunidos em baterias de provas referidas como avaliadoras da função hepática (SOUZA et al., 2004). As disfunções hepáticas dos animais da espécie bubalina estão relacionadas com agentes hepatotóxicos, doenças carenciais, enfermidades infecciosas e a fasciolose (BARBOSA et al., 2005, YANG et al., 1998, SETHURAMAN & VERMA, 1979).

O diagnóstico das enfermidades hepáticas baseando-se apenas no exame físico do fígado é limitado, tornando importante para tal finalidade a utilização de exames complementares (HAGIWARA, 1982). Portanto, na rotina clínica, recomenda-se a realização de provas laboratoriais para avaliação da função hepática, como: atividade enzimática da aspartatoaminotransferase (AST), gama-glutamilttransferase (GGT), e dosagens séricas das proteínas totais, albumina e globulina (SOUZA et al., 2004).

Apesar da importância do conhecimento do perfil bioquímico sérico para a correta interpretação dos resultados, no que se refere à avaliação da função hepática, raras foram as pesquisas nacionais e internacionais dedicadas ao assunto, direcionadas à espécie bubalina (SETHURAMAN & VERMA, 1979), encontrando-se alguns estudos focados na espécie bovina (GREGORY et al., 1999, LEAL et al., 2003, BENESI et al., 2003).

Para suprir-se a carência de informações relativas aos métodos auxiliares utilizado no diagnóstico das enfermidades hepáticas, delineou-se esta pesquisa com o objetivo de estabelecer os valores de referência de parâmetros bioquímicos que avaliem a função hepática, por meio da determinação da atividade enzimática das enzimas gama-glutamilttransferase (GGT) e aspartatoaminotransferase (AST), e dosagens séricas das proteínas totais, albumina e globulina de bubalinos hígidos da raça Murrah, assim como avaliar a influência dos fatores etários sobre os referidos parâmetros bioquímicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 125 bubalinos, sendo 39 animais machos e 126 fêmeas, da raça Murrah, clinicamente sadios, criados em quatro propriedades leiteiras do Município de Analândia, localizado no interior do Estado de São Paulo. Os critérios adotados para o exame físico foram aqueles estabelecidos por Dirksen et al. (1993).

Os animais foram selecionados e distribuídos, segundo a idade, em quatro grupos experimentais: Grupo 1, animais com idade entre o nascimento e 3 meses (n=15); Grupo 2, animais entre 4 e 6 meses (n=50); Grupo 3, entre 7 e 12 meses (n=50); e Grupo 4, 13 meses a 05 anos de idade (n=50).

A influência da covariável sexo sobre os parâmetros bioquímicos de bubalinos não foi realizada, pois pesquisas em bovinos mostraram que esta covariável não influencia estas variáveis (GREGORY et al., 1999). Além disso, o número de machos nas criações avaliadas era escasso, impedindo a formação de grupos homogêneos. Os grupos G1, G2, G3 e G4, respectivamente, foram compostos por 02 machos e 13 fêmeas; 18 machos e 32 fêmeas; 19 machos e 31 fêmeas; e G4 com 50 fêmeas.

O estágio gestacional das fêmeas não foi considerado nesta pesquisa, pois as propriedades estudadas não possuíam tronco de contenção, impossibilitando a realização de palpação retal e identificação das fêmeas gestantes.

Durante o período compreendido entre 2006 e 2007, foram colhidas amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular, com a utilização de tubos de colheita a vácuo siliconizados sem anticoagulante. Após a colheita, as amostras foram centrifugadas por cerca de 15 minutos, sendo o soro sanguíneo separado e armazenado sob congelamento a -20°C até o momento da execução dos testes bioquímicos. A atividade enzimática da GGT e AST foi avaliada utilizando-se kit comercial, com o uso de analisador bioquímico semi-automático, nos comprimentos de onda de 405nm e 340nm, respectivamente (BENESI et al., 2003).

A determinação dos teores séricos de proteínas totais foi realizada por meio do método do biureto, com leitura da coloração da reação obtida em espectrofotômetro, utilizando-se comprimento de onda igual a 550 nm, enquanto a determinação dos teores séricos de albumina foi realizada utilizando-se o reativo de verde bromocresol com leitura da coloração da reação obtida em espectrofotômetro utilizando-se comprimento de onda igual a 630 nm. A determinação dos teores séricos de globulinas foi obtida pela subtração dos valores individuais de proteína total e albumina séricos, sendo os valores expressos em g/dL (GREGORY et al., 1999).

Os valores da atividade sérica do aspartato aminotransferase e gama glutamil transferase, e as dosagens séricas da proteína total, albumina e globulina, apresentaram distribuição Gaussiana e foram submetidos à análise de variância (One-way ANOVA) e suas diferenças foram avaliadas pelo teste de Tukey-Kramer. Para todos os resultados, foram consideradas significantes as análises que apresentaram $p \leq 0,05$. (SAMPAIO, 1998).

Foi utilizado o software estatístico GraphPad InSTAT versão 3.0 (GraphPad software, San Diego, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os bubalinos são acometidos por diversas enfermidades hepáticas (HILALI et al., 2006, BARBOSA et al., 2005, YANG et al., 1998, SETHURAMAN & VERMA, 1979), porém, o diagnóstico destas afecções, baseado somente no exame físico do fígado é limitado, tornando importante

para tal finalidade a utilização de exames complementares, como a mensuração da atividade sérica das enzimas hepáticas GGT e AST (SOUZA et al., 2004, HAGIWARA, 1982). No entanto, inexistiam valores de normalidade estabelecidos para os animais da espécie bubalina, para a adequada interpretação dos resultados.

Através da presente investigação foi possível o estabelecimento dos parâmetros bioquímicos de normalidade dos animais da espécie bubalina de diferentes faixas etárias. A influência da idade também foi observada por Gregory et al. (1999), em animais da espécie bovina.

A atividade enzimática sérica da GGT no soro de bubalinos da raça Murrah foi de 35,9; 19,6; 25,1; e 33,3 UI/L, respectivamente, nos animais do grupo 1, 2, 3 e 4 (Tabela 01), observando maior atividade enzimática no soro dos animais pertencentes aos grupos G1 e G4. A elevação da atividade desta enzima no G1 ocorreu em decorrência da ingestão de colostro materno pelos bezerros, nas primeiras horas de vida pós-parto, concordando com os resultados encontrados em bezerros neonatos da espécie bovina (BENESI et al., 2003, LEAL et al., 2003). Este fenômeno sugere

que a mensuração da atividade sérica da GGT pode ser utilizada para avaliar indiretamente a transferência de imunidade passiva, assim como ocorre em bezerros da espécie bovina. No entanto, este exame deve ser utilizado em associação com outros testes laboratoriais para avaliação da função hepática em animais da espécie bubalina, com idade inferior a 03 (três) meses.

A atividade enzimática sérica da AST foi significativamente menor nos animais pertencentes ao G1 (92,3 UI/L), elevando-se para 128, 177 e 143 UI/L, respectivamente, nos animais dos grupos 2, 3 e 4 (Tabela 1). A mesma variação foi verificada em bovinos, no estudo realizado por Gregory et al. (1999). Os teores médios de proteínas séricas totais encontrados nesta pesquisa foram de 8,2; 7,0; 6,9 e 7,7 g/dL, e os teores médios de albumina foram de 2,4; 2,2; 2,1; e 2,5 g/dL, respectivamente, nos animais dos grupos 1, 2, 3 e 4, respectivamente (Tabela 2).

Os teores médios das globulinas séricas foram de 5,8; 4,7; 4,7 e 5,1 g/dL, respectivamente, nos grupos 01, 02, 03 e 04.

As maiores concentrações séricas de proteína total, albumina e globulinas foram observadas nos animais dos grupos G1 e G4 (Tabela 2). Estas variações, provavelmente estão relacionadas com o crescimento do animal nesta fase da vida, associada com a oferta de alimento durante este período.

Tabela 1 – Valores médios séricos das enzimas hepáticas GGT e AST de bubalinos hípidos da raça Murrah, de diferentes faixas etárias, criados no Estado de São Paulo.

Grupos	Faixa Etária	GGT (U/L)	AST (U/L)
G1	0–3 meses	35,9 ± 9,7 ^a	92,3 ± 40,1 ^c
G2	4–6 meses	19,6 ± 3,9 ^b	128,4 ± 39,1 ^b
G3	7–12 meses	25,1 ± 5,8 ^b	177,6 ± 34,0 ^a
G4	> 1 ano	33,3 ± 10,2 ^a	143,1 ± 28,3 ^b
Significância		P<0,0001	P<0,0001

Valores com letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre si.

CONCLUSÃO

Os constituintes bioquímicos avaliados na presente pesquisa sofrem variações influenciadas pelo fator etário. A avaliação da função hepática através da atividade sérica da GGT e teores de PPT devem ser realizados com cautela, pois nos primeiros três primeiros de vida dos animais da espécie bubalina, estes parâmetros estão elevados pelo consumo de colostro materno. Além disso, foi possível verificar oscilações nos teores médios da proteína sérica total, albumina e globulina, nos bubalinos com idade compreendida entre 4 a 12 meses, provavelmente causadas pelo crescimento do animal, disponibilidade e qualidade dos alimentos oferecidos.

Tabela 02 – Valores médios séricos da proteína total, albumina e globulina de bubalinos hípidos da raça Murrah, de diferentes faixas etárias, criados no Estado de São Paulo.

Grupos	Faixa Etária	Proteína Total (g/dL)	Albumina (g/dL)	Globulinas (g/dL)
G1	0–3 meses	8,2 ± 0,6 ^a	2,4 ± 0,3 ^{ab}	5,8 ± 0,5 ^a
G2	4–6 meses	7,0 ± 0,9 ^b	2,2 ± 0,4 ^b	4,7 ± 0,9 ^b
G3	7–12 meses	6,9 ± 0,6 ^b	2,1 ± 0,3 ^b	4,7 ± 0,8 ^b
G4	> 1 ano	7,7 ± 0,9 ^a	2,5 ± 0,4 ^a	5,1 ± 0,9 ^{ab}
Significância		P<0,0001	P<0,002	P<0,0001

Valores com letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre si.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, J. D., OLIVEIRA, C. M. C., DUARTE, M. D., SIVEIRA, J. A. S. *Doenças de Búfalos na Amazônia*. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE BUIATRIA, 2., 2005, Belo Horizonte. **Proceedings...** Belo Horizonte, 2005.
- BENESI, F. J., LEAL, M. L. R., LISBOA, J. A. N., COELHO, C. S., MIRANDOLA, R. M. S. Parâmetros bioquímicos para avaliação da função hepática em bezerras sadias da raça Holandesa, no primeiro mês de vida. **Ciência Rural**, v. 23, n. 02, p. 311-317, 2003.
- DIRKSEN, G., GRÜNDER, H-D, STÖBER, M. (3 ed.). **Exame Clínico dos Bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, 419 p.
- GREGORY, L., BIRGEL JÚNIOR, E. H., MIRANDOLA, R. M. S., ARAUJO, W. P., BIRGEL, E. H. Valores de referência da atividade enzimática da aspartato-aminotransferase e da gama-glutamilttransferase em bovinos da raça Jersey. Influência dos fatores etários, sexuais e da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 06, 1999.
- HAGIWARA, M. K. Bioquímica Clínica. In: BIRGEL, E. H., LARSSON, M. H. M. A., HAGIWARA, M. K., VASCONCELLOS, S. A., LARSSON, C. E., OGASSAWARA, S., BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**, São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, p. 177-213, 1982.
- HILALI, M., ABDEL-GAWAD, A., NASSAR, A., ABDEL-WAHAB, A. Hematological and biochemical changes in water buffalo calves (*Bubalus bubalis*) infected with *Trypanosoma evansi*. **Veterinary Parasitology**, v. 139, p. 237-243, 2006.
- LEAL, M. L. R., BENESI, F. J., LISBÔA, J. A. N., COELHO, C. S.; MIRANDOLA, R. M. S. Proteinograma sérico de bezerras sadias, da raça Holandesa, no primeiro mês pós-nascimento. **Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, p. 138 – 145, 2003.
- SAMPAIO, I. B. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1998. 221 p.
- SETHURAMAN, V.; VERMA, B. B. Liver function tests in buffalo calf. **Indian Veterinary Journal**, v. 56, p. 184-288, 1979.
- SOUZA, R. M., BIRGEL JÚNIOR, E. H., AYRES, M. C. C., BIRGEL, E. H. Influência dos fatores raciais na função hepática de bovinos da raça Holandesa e Jersey. **Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 306 – 312, 2004.
- YANG, Q., MAO, W. H., FERRE, I., BAYÓN, J. E., MAO, X. Z., GONZÁLEZ-GALLEGO, J. Plasma Aspartate Aminotransferase (AST), Glutamate Dehydrogenase (GLDH) and Gamma-Glutamyl Transpeptidase (GGT) Activities in Water Buffaloes with Experimental Subclinical Fasciolosis. **Veterinary Parasitology**, v.78, n.2, p.129-136, 1998.