



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE DOENÇA HEPÁTICA EM EQUINOS

Paula Raquel Gaspar Felício

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Doutora Maria da Conceição da Cunha e Vasconcelos  
Peleteiro

Doutora Maria Rita Martins Garcia da Fonseca

Dra. Constança Moreira da Fonseca Sepúlveda

**ORIENTADORA**

Dra. Constança Moreira da Fonseca  
Sepúlveda

**COORIENTADORA**

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia  
de Andrade Pimenta Tilley

2018

Lisboa





UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE DOENÇA HEPÁTICA EM EQUINOS

Paula Raquel Gaspar Felício

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Doutora Maria da Conceição da Cunha e Vasconcelos  
Peleteiro

Doutora Maria Rita Martins Garcia da Fonseca

Dra. Constança Moreira da Fonseca Sepúlveda

**ORIENTADORA**

Dra. Constança Moreira da Fonseca  
Sepúlveda

**COORIENTADORA**

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia  
de Andrade Pimenta Tilley

2018

Lisboa

# Agradecimentos

Os meus primeiros agradecimentos vão para as orientadora e co-orientadora de estágio, respetivamente a Dra. Constança Moreira da Fonseca e a Professora Doutora Paula Tilley, pela paciência, orientação e apoio que me proporcionaram, tendo sido fulcrais para o desenvolvimento desta dissertação de mestrado.

Também um agradecimento ao corpo clínico da Horses Therapy Services, Dra. Constança Moreira da Fonseca, Dra. Rita Costa Cabral, Dra. Sara Abreu e Dr. Rodrigo Cunha Rêgo, por todos os conhecimentos partilhados e pelo à vontade com que me integraram na equipa, tornando o estágio numa experiência muito enriquecedora a nível profissional e pessoal.

Um agradecimento à minha família, amigos e colegas que sempre me apoiaram para que a concretização deste sonho fosse possível, tendo-me estimulado e incentivado na realização do mesmo, mas principalmente me dado carinho para que compreendesse qual o meu caminho.

Quero agradecer também à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, bem como à Universidade de Évora por me terem proporcionado formação, conhecimentos e ferramentas para o meu futuro profissional, tendo durante todo o processo me feito crescer também a nível emocional e pessoal, para que seja uma profissional mais habilitada para o futuro.

Queria também agradecer às minhas colegas estagiárias, Inês Amaral Craveiro, Carolina Guerreiro e Rita Delgado, pela entre ajuda e partilha de casos clínicos, permitindo desenvolver o nosso espírito crítico e proporcionar novos conhecimentos.

Gostaria de agradecer também ao Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa e a todas as pessoas que com o seu trabalho me permitiram ter diagnóstico final e a descrição das lesões hepáticas de alguns dos casos clínicos, de modo a que os pudesse considerar nesta dissertação de mestrado.

A todos, um Muito Obrigado!



## Resumo

Esta dissertação de mestrado tem como objetivo apontar os métodos de diagnóstico de patologia hepática em equinos, úteis na prática clínica.

Os sinais clínicos também são considerados como auxiliares de diagnóstico, no entanto só estão presentes quando cerca de 80% do parênquima hepático está afetado, pelo que se torna importante realizar exames complementares de diagnóstico.

A realização de exames laboratoriais para diagnóstico e prognóstico de doença hepática são muito importantes e constituem a primeira abordagem médica na suspeita de doença hepática. Quantas mais enzimas hepáticas possuírem os seus parâmetros alterados e quanto maiores as alterações face aos parâmetros normais, mais provavelmente estará presente doença hepática. Nenhum exame é por si só indicativo de doença hepática, pois nenhum exame é 100% sensível e específico. A utilização de combinações de exames de forma seriada aumenta a sensibilidade na deteção de doença hepática.

A biópsia hepática é o método de diagnóstico mais preciso para a deteção de doença hepática, pois a amostra recolhida é sujeita a análise histopatológica. A patologia hepática é comum em equídeos, mas pouco diagnosticada *ante mortem*. As biópsias hepáticas são raramente realizadas, sendo assim também realizados poucos tratamentos específicos. A biópsia hepática também permite determinar o prognóstico de sobrevivência do animal a curto e longo prazo.

Palavras-Chave: Equinos; Patologia; Fígado; Diagnóstico; Enzimas Hepáticas; e Biópsia.

## *Abstract*

This master's dissertation aims to point out the methods of diagnosis of equine hepatic pathology which are useful in clinical practice.

Clinical signs are also considered as diagnostic aids, however they are present only when about 80% of hepatic parenchyma is affected, so it is important to perform complementary diagnostic tests.

Laboratory tests for the diagnosis and prognosis of liver disease are very important and constitute the first medical approach in the suspicion of liver disease. The more hepatic enzymes have their altered parameters and the greater the changes compared to normal parameters, the more likely liver disease will be present. No test is in itself indicative of liver disease, as no test is 100% sensitive and specific. The use of combinations of exams serially increases sensitivity in the detection of liver disease.

Liver biopsy is the most accurate method of diagnosis for detecting liver disease, since the collected sample is subjected to histopathological analysis. Liver pathologies are common in equidae, however, they are poorly diagnosed *ante mortem*, because liver biopsies are rarely performed, and thus few treatments are performed. Hepatic biopsy also allows to determine the prognosis of the animal's survival in the short and long term.

Key-words: Equine; Pathology; Liver; Diagnosis; Hepatic Enzymes and Biopsy.

# Índice

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	iii
<i>Abstract</i> .....	iv
Lista de Figuras .....	vii
Lista de Tabelas .....	ix
Lista de Abreviaturas/Siglas.....	x
1) Anatomia e Histologia Hepática.....	1
2) Fisiologia Hepática.....	6
3) Sinais Clínicos de Insuficiência Hepática .....	13
a) Encefalopatia Hepática.....	14
b) Icterícia.....	22
c) Perda de Peso.....	24
d) Fotossensibilização Hepatogénica.....	24
e) Cólica .....	24
f) Diátese Hemorrágica .....	25
g) Febre.....	26
h) Hemólise.....	26
i) Prurido e Seborreia.....	26
j) Edema.....	26
k) Endotoxémia.....	26
l) Polidipsia, Poliúria e Síndrome Hepatorenal .....	26
4) Exames Laboratoriais.....	27
a) Bilirrubinas.....	28
b) Concentração de Ácidos Biliares .....	31
c) Testes de Síntese Proteíca.....	33
d) Testes de Metabolismo de Carboidratos/Hidratos de Carbono .....	36

e) Testes de Metabolismo Lipídico.....	37
f) Enzimas hepáticas.....	38
g) Fatores de Coagulação.....	44
h) Depuração Farmacológica .....	46
i) Outros Achados Laboratoriais Não Específicos .....	47
5) Outros Exames Complementares de Diagnóstico .....	48
a) Ecografia .....	48
b) RX .....	53
c) Biópsia.....	55
d) Cintigrafia Nuclear .....	59
e) Portografia Mesentérica Operatória .....	60
6) Conclusão .....	61
Apresentação de Casos Clínicos.....	66
a) Caso Clínico 1 – Colelitíase .....	66
b) Caso Clínico 2 – Tumor Hepático .....	74
c) Caso Clínico 3 – Esteatose Hepática.....	79
d) Caso Clínico 4 – Intoxicação alimentar .....	85
Bibliografia .....	88

## Lista de Figuras

Figura 1 - Representação anatômica dos órgãos abdominais em vista lateral esquerda. Adaptado de: Budras, Sack, & Röck, 2009. ....	1
Figura 2 - Representação anatômica dos órgãos abdominais em vista lateral direita. Adaptado de: Budras, Sack, & Röck, 2009. ....	2
Figura 3 - Representação da anatomia hepática em vista caudal, com identificação dos seus lobos e dos seus ligamentos falciforme, redondo e triangulares esquerdo e direito. Adaptado de: Budras, Sack, & Röck, 2009. ....	3
Figura 4 - Representação esquemática da histologia hepática. Adaptado de: Junqueira & Carneiro, 2013.....	5
Figura 5 - Representações anatômica do estômado e porção inicial do duodeno em secção sagital, bem como papilas duodenais maior e menor. Adaptado de: Abutarbush & Carmalt, 2008. ....	6
Figura 6 - Papilas duodenais maior e menor em necrópsia de equídeo, permitindo a sua comparação. Adaptado de: Abutarbush & Carmalt, 2008.....	6
Figura 7 - Representação dos efeitos hormonais no controlo do metabolismo hepático. Adaptado de: Barton, 2010. ....	8
Figura 8 - Representação do ciclo da ureia. Adaptado de: Barton, 2010.....	8
Figura 9 - Representação do metabolismo e excreção de bÍlis. Adaptado de: Barton, 2010. ....	10
Figura 10 - Representação do papel dos aminoácidos aromáticos na patogénese de EH, resultando em aumento da inibição neuronal e diminuição da excitação neuronal. Adaptado de: Barton, 2010. ....	20
Figura 11 - Representação esquemática da localização celular das enzimas hepatocelulares AST, SDH e GLDH, das enzimas hepatobiliares ALP/FAS e GGT, e das libertações biliares de bilirrubina e ácidos biliares. Adaptado de: Meyer & Walton, 2013. ....	38
Figura 12 - Representação esquemática das variações plasmáticas das enzimas SDH, AST e GLDH após lesão hepática severa com recuperação, sendo o tempo representado em dias. Adaptado de: Meyer & Walton, 2013.....	41
Figura 13 - Representação da área de visualização hepática por ultrassonografia nos diversos espaços intercostais, com base num estudo realizado a 58 cavalos, estando o resultado indicado em percentagem. Adaptado de: Johns & Miles, 2016. ....	51
Figura 14 - Imagem ecográfica do lado direito de fígado equino com parênquima hepático de ecogenicidade normal. Adaptado de: Slovis, 2014.....	52

Figura 15 - Imagem ecográfica de abdómen cranial esquerdo. Adaptado de: Divers, 2015b. ....	53
Figura 16 - Imagem ecográfica de distensão de ducto biliar e colelitíase. Adaptado de: Divers, 2015b.....	53
Figura 17 - Imagem demonstrativa de técnica de biópsia ecoguiada. Adaptado de: Liphook Equine Hospital, 2012.....	57
Figura 18 - Imagem de ponta de agulha de biópsia, sendo perceptível o local de recolha da amostra (seta). Adaptado de: Lien, Loly, & Ferguson, 2014. ....	57
Figura 19 - Representação de exemplos de agulhas de biópsia hepática. Adaptado de: (Pearson, 1999) .....	58
Figura 20 - Imagem de vista hepática lateral direita após administração de <sup>99m</sup> Tecnécio em equino. Adaptado de: (Hornof & Baker, 1986) .....	59
Figura 21 - Imagem ecográfica dinâmica com estudo Doppler, sendo perceptíveis 3 estruturas anecogénicas tubulares com fluxo negativo (seta azul), sendo por isso considerados ductos biliares dilatados. Imagem cedida pelo Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa. ....	69
Figura 22 - Imagem ecográfica massa hepática (seta azul), podendo-se comparar com o parênquima hepático normal à esquerda da imagem. Imagem cedida pelo Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. ....	75
Figura 23 - Fotografia do fígado do cavalo após necrópsia, de notar do lado direito da foto a massa tumoral em comparação com o restante tecido hepático. Imagem cedida pelo Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. ....	76
Figura 24 - Fotografia da massa tumoral hepática do cavalo a ser pesada, tendo 16,700Kg. Imagem cedida pelo Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.....	76
Figura 25 - Imagens de alguns sinais clínicos apresentados pelo paciente. Fotos obtidas a partir de vídeos cedidos pela veterinária assistente. ....	79
Figura 26 - Fotografias da necrópsia efetuada “a campo”. Fotos cedidas pelo clínico. ....	82
Figura 27 - Imagem de <i>Senecio vulgaris</i> . Adaptado de: Pearson, 1999. ....	87

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Diagnósticos diferenciais de encefalopatia equina. Adaptado de: Divers, 2015a. ....	15
Tabela 2 - Representação das alterações nos testes bioquímicos mais comuns na presença de doença hepática em Equinos, bem como a seu significado como indicador de patologia. Adaptado de: Barton, 2010 e Pearson, 1999. ....	29
Tabela 3 - Sistema de classificação de prognóstico clínico com recurso a biópsia, devendo ser avaliado cada parâmetro individualmente e calcular-se posteriormente a soma de todos os parâmetros. Adaptado de: Liphook Equine Hospital, 2012. ....	56
Tabela 4 - Tabela representativa de relação entre combinações de testes. Adaptado de: Durham, Smith, & Newton, 2003. ....	63
Tabela 5 - Comparação das pontuações histológicas entre sobreviventes e não sobreviventes a curto prazo (<6 meses) e a longo prazo (>6 meses). Adaptado de: Dunkel, Jones, Pinilla, & Foote, 2015. ....	65
Tabela 6 – Análises realizadas ao paciente quando se apresentou à consulta. ....	66
Tabela 7 - Análises realizadas na chegada do caso clínico 1 à urgência do hospital. ....	67
Tabela 8 - Análises realizadas ao paciente a quando da alta do Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, estando apenas representados alguns dos parâmetros analisados. ....	71
Tabela 9 - Análises clínicas realizadas na primeira consulta ao paciente. ....	74
Tabela 10 - Análises realizadas ao paciente na primeira consulta. ....	80
Tabela 11 - Valores das análises realizadas ao paciente 5 dias após a primeira consulta. ....	81
Tabela 12 - Análises realizadas ao paciente na primeira consulta. ....	85

## Lista de Abreviaturas/Siglas

- > – Maior
- ≥ – Maior ou igual
- < – Menor
- ≤ – Menor ou igual
- α – Alfa
- β – Beta
- γ – Gamma
- % – Por cento (percentagem)
- °C – Graus Celsius
- ” – Polegadas
- μmol – Micromoles
- μg – Microgramas
- AAA – Aminoácidos aromáticos (Aromatic amino acid)
- Acetil coA – Acetil coenzima A
- ALP/FAS – Fosfatase Alcalina Sérica (Alkaline phosphatase)
- ALT – Alanina aminotransferase
- ARG – Arginase
- AST – Aspartato Aminotransferase (Aspartate transaminase)
- ATP – Adenosina trifosfato
- BA – Ácidos biliares
- BcAA – Aminoácidos de cadeia ramificada (Branched chain amino acid)
- BID – *Bis in die*, duas vezes ao dia
- bpm – Batimentos por minuto
- BR – Bilirrubinas
- BSP – Bromossulfaleína
- BUN – Nitrogénio ureico no sangue (Blood urea nitrogen)
- CAH – Hepatite crónica ativa (Cronic active hepatitis)
- CK – Creatina quinase
- dL – Decilitros
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético
- EEE – Encefalomiélita equina oriental (Eastern equine encephalomyelitis)
- EH – Encefalopatia hepática (Hepatic encephalopathy)

EV – Endovenosa  
FDP – Produtos de degradação de fibrinogénio/fibrina  
G – Gauge  
g - Gramas  
GABA – Ácido  $\gamma$ -aminobutírico  
GLDH – Glutamato desidrogenase  
GGT – Gamma glutamiltransferase  
GOT – Transaminase oxaloacética glutâmica  
HU – Hounsfield  
HVE – Herpes vírus  
ICD – Isocitrato desidrogenase  
IM – Intramuscular  
K<sup>+</sup> – Potássio  
Kg – Quilogramas  
kV – Quilovolts  
L – Litros  
LDH – Lactato desidrogenase  
mA – Miliampères  
mg – Miligramas  
min – Minutos  
mL – Mililitros  
mm<sup>3</sup> – Milímetros cúbicos  
n.º - Número  
Na<sup>+</sup> – Sódio  
NH<sub>3</sub> – Amónia  
NH<sub>4</sub><sup>+</sup> – Amoníaco  
NMDA – N-metil-D-aspartato  
PCR – Polymerase chain reaction  
PSL – Puro Sangue Lusitano  
PT – Tempo de Protrombina  
PTT – Tempo de Tromboplastina Parcial  
RM – Ressonância Magnética  
rpm – Respirações por minuto  
RX – Raios X  
SDH – Sorbitol Desidrogenase  
SNC – Sistema nervoso central  
SID – Uma vez ao dia

TAC – Tomografia axial computadorizada

TNF $\alpha$  – Fator de necrose tumoral alfa

U/UI – Unidades Internacionais

VEE – Encefalomielite equina venezuelana (Venezuelan equine encephalomyelitis)

VLDL – Lipoproteínas de muito baixa densidade (Very low density lipoprotein)

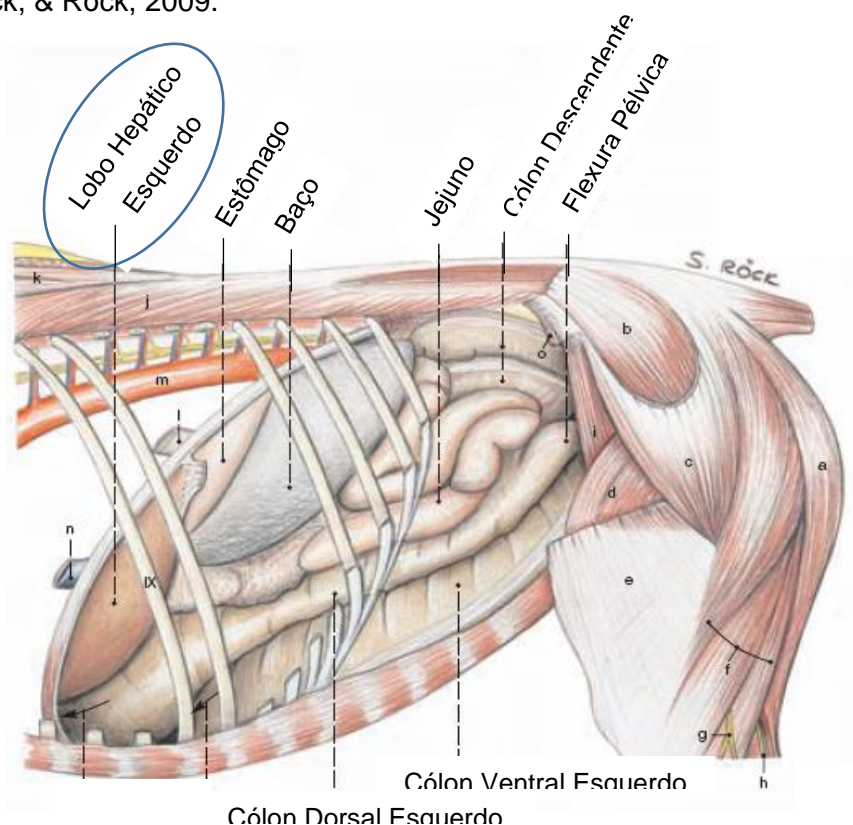
WEE – Encefalomielite equina ocidental (Western equine encephalomyelitis)

WNV – Virus da febre do nilo ocidental (West Nile virus)

## 1) Anatomia e Histologia Hepática

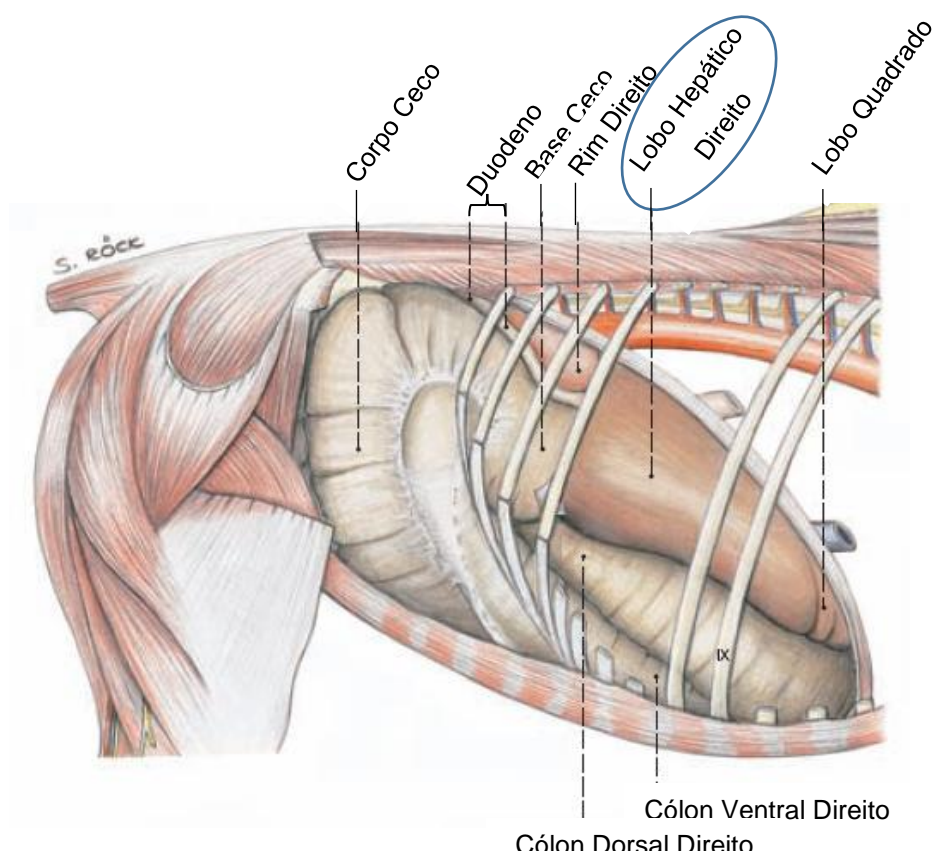
O fígado é o segundo maior órgão no cavalo, sendo a maior glândula do corpo, representa aproximadamente 1,5% do peso corporal e possui uma dimensão reduzida comparada com o dos carnívoros, como por exemplo o dos cães (Budras, Sack, & Röck, 2009; Divers, 2015b; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). No cavalo adulto localiza-se no abdômen cranial totalmente protegido pelas costelas, sendo acessíveis os lobos esquerdos entre os 7° e 10° espaços intercostais (figura 1) e os lobos direitos mais dorsalmente entre os 9° e 16° espaços intercostais (figura 2) e, projeta-se para o abdômen médio pelos lobos quadrado ventral e caudado dorsal direito, sem nunca contactar com a parede abdominal ventral (Barton, 2010; Divers, 2015b). A principal característica do fígado dos equídeos é a ausência de vesícula biliar, que nas outras espécies de mamíferos domésticos delimita os bordos entre os lobos quadrado e o grande lobo direito (Budras, Sack, & Röck, 2009; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). O fígado localiza-se entre os sistemas gastrointestinal e cardíaco, sendo esta localização de grande importância funcional devido às suas capacidades de metabolismo, secretórias, excretórias e propriedades de armazenamento (Barton, 2010; Brokenshire-Dyke, 2014).

Figura 1 - Representação anatômica dos órgãos abdominais em vista lateral esquerda. Adaptado de: Budras, Sack, & Röck, 2009.



Legenda: Identificação da localização hepática pela elipse azul presente na imagem.

Figura 2 - Representação anatômica dos órgãos abdominais em vista lateral direita. Adaptado de: Budras, Sack, & Röck, 2009.



Legenda: Identificação da localização hepática pela elipse azul presente na imagem.

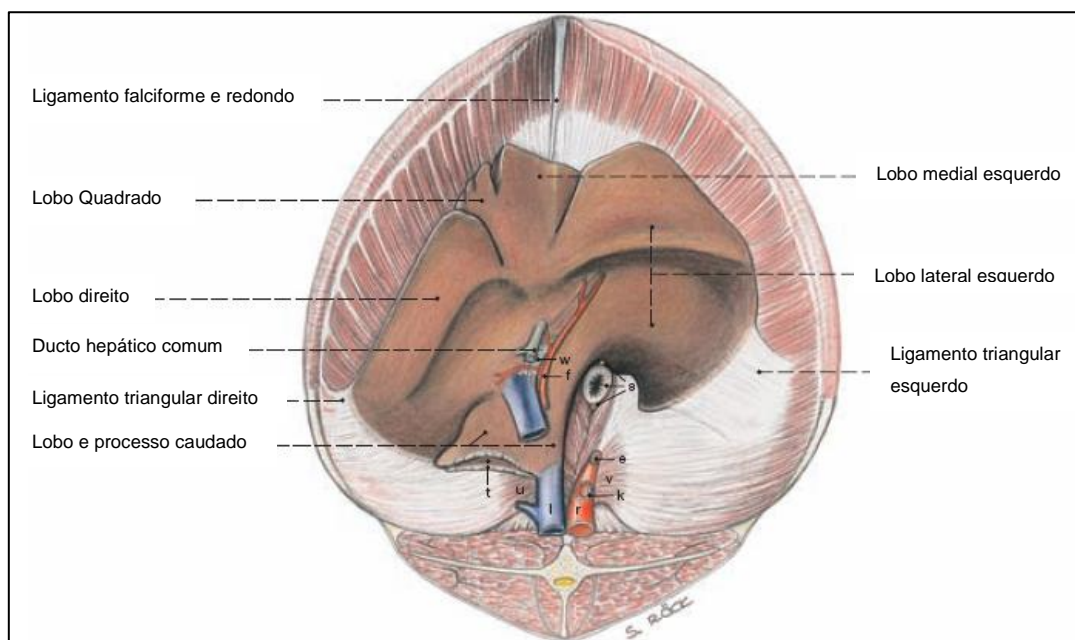
O fígado apresenta segundo o eixo sagital 1/3 da sua massa à esquerda e os restantes 2/3 à direita. Do lado esquerdo situa-se o baço caudalmente ao fígado, permitindo localizar e comparar os órgãos através de ultrassonografia. Em alguns cavalos de meia-idade pode ocorrer uma variação anatômica pouco comum que consiste na atrofia do lobo hepático direito, podendo esta condição dificultar ou até mesmo impedir a sua localização através de exame ecográfico (Divers, 2015b). Nesta alteração exclusiva no cavalo ocorre perda de hepatócitos e condensação do estroma hepático, tornando-se a cápsula hepática espessa e rugosa, devido à compressão prolongada exercida pela distensão anômala do cólon dorsal direito e ceco (Barton, 2010; Budras, Sack, & Röck, 2009; Divers, 2015b). Em casos de patologia que provoque hepatomegália ou no caso de fígados de neonatos sem patologia o bordo hepático caudal pode estender-se para além do bordo caudal da última costela (Barton, 2010).

O fígado é formado por células hepáticas independentes com conexões específicas tanto vasculares como biliares, os hepatócitos. A anatomia hepática pode ser definida pela aparência externa do órgão ou pela sua arquitetura vascular e biliar, sendo esta última fundamental em caso de cirurgia hepática (Lencioni, Cioni, & Bartolozzi, 2005). Em termos descritivos o fígado

apresenta duas superfícies: a diafragmática (cranialmente) e a visceral (caudalmente), sendo dividido por fissuras em 4 lobos: direito, esquerdo, quadrado e caudado (figura 3). A superfície visceral é maleável, permitindo assim a impressão dos órgãos que consigo contactam, sendo que nesta zona se localiza o hilo hepático, onde ocorre a entrada de vasos sanguíneos, linfáticos e de fibras nervosas, e onde existe o ducto hepático (Barton, 2010).

O fígado nos cavalos está ligado à parede abdominal por 6 ligamentos: coronário, falciforme, redondo, hepatorenal e triangulares esquerdo e direito. O ligamento coronário apresenta duas lâminas (direita e esquerda) que fixam a superfície diafragmática do fígado à veia cava caudal e ao esófago abdominal, sendo que estas duas lâminas se unem ventralmente formando o ligamento falciforme. O ligamento falciforme corresponde ao remanescente do mesentério ventral fetal que se estende do diafragma à zona umbilical, permitindo a fixação dos lobos quadrado e esquerdo à parede abdominal ventral e ao diafragma esternal (figura 3). O ligamento redondo corresponde ao remanescente da veia umbilical fetal, estando este contido no interior do bordo livre do ligamento falciforme (figura 3). Os ligamentos triangulares direito e esquerdo unem o lobo dorsal direito ao diafragma costal direito e o lobo dorsal esquerdo ao centro tendinoso diafragmático (figura 3). O ligamento hepatorenal liga o processo quadrado do lobo caudado ao rim direito e à base do ceco (Barton, 2010).

Figura 3 - Representação da anatomia hepática em vista caudal, com identificação dos seus lobos e dos seus ligamentos falciforme, redondo e triangulares esquerdo e direito. Adaptado de: Budras, Sack, & Röck, 2009.



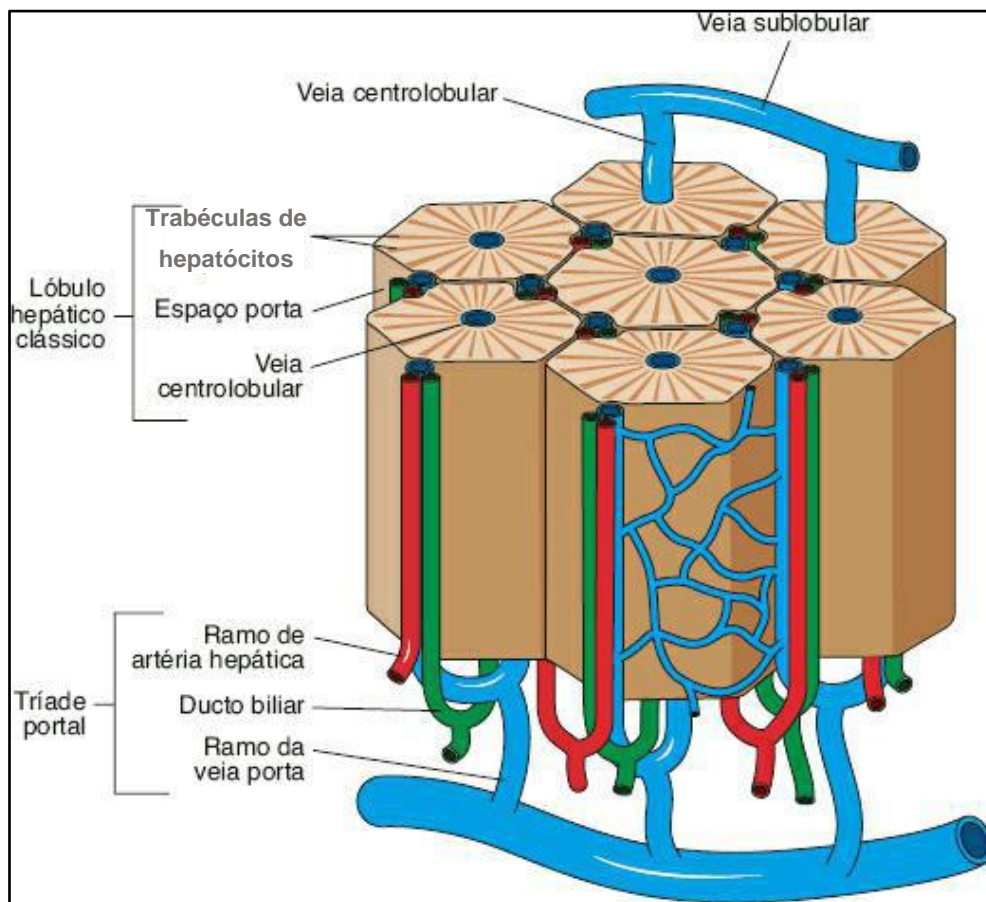
Histologicamente o fígado encontra-se organizado em unidades estruturais, os lóbulos hepáticos, sendo classicamente definidos como unidades histológicas poligonais compostas por

numerosas placas de células parenquimatosas hepáticas denominadas hepatócitos, dispostas radialmente em torno de uma veia central (veia centrolobular) (figura 4) (Divers, 2015b; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). Os lóbulos hepáticos compõem cerca de 50% a 60% da massa hepática e consistem em células epiteliais classicamente descritas como possuindo aparência histológica hexagonal quando em corte transversal (figura 4). Cada canto do hexágono é definido por 3 a 8 canais portais (Barton, 2010; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016).

Através do hilo hepático uma rede de tecido conjuntivo entra no parênquima hepático. (Barton, 2010). A cada vértice do lóbulo existem ramificações de artéria hepática, veia hepática e ducto biliar, sendo que estas estruturas em conjunto formam a tríade portal, mais os vasos linfáticos (figura 4) (Divers, 2015b; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). Os hepatócitos podem estar organizados de diversos modos (trabéculas), formando anastomoses entre si de modo a permitir o fluxo sanguíneo, designando-se estas por sinusóides (Barton, 2010; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). Os sinusóides hepáticos são de maiores dimensões que os capilares sanguíneos e encontram-se revestidos por células endoteliais e células de Kupffer (macrófagos que estima-se representarem cerca de 20% da massa hepática). As células endoteliais devem representar cerca de 20% da massa hepática e entre estas e os hepatócitos existe uma fenda designada de espaço de Disse, onde está presente um líquido semelhante ao sangue com a exceção de não possuir eritrócitos (Barton, 2010).

O sangue proveniente de arteríolas e vénulas hepáticas mistura-se nos sinusóides hepáticos e drena para os hepatócitos, tendo esse sangue origem principalmente no sistema gastrointestinal e no baço através do sistema portal. O sangue sinusoidal flui através dos hepatócitos até à veia centrolobular, sendo eventualmente recebido por veias hepáticas de maior calibre que convergem na veia cava caudal ao nível do diafragma (Divers, 2015b). Os lóbulos acinares descrevem o suprimento vascular do parênquima hepático com base no teor em oxigénio dos tecidos, podendo assim definir-se 3 zonas. A zona I do lóbulo acinar localiza-se imediatamente adjacente às ramificações das artérias hepáticas e veias portais, sendo a zona metabolicamente mais ativa, recebendo a melhor oxigenação. A zona III localiza-se adjacientemente às veias centrolobulares, possuindo funções mistas de atividade oxidase, sendo a menos favorável face ao aporte de oxigénio. A zona II situa-se entre as zonas I e III. Quanto mais próximo da veia centrolobular menor o teor em oxigénio para os hepatócitos, sendo por isso essa a zona (zona III) menos susceptível a danos tóxicos e de hipóxia (Barton, 2010).

Figura 4 - Representação esquemática da histologia hepática. Adaptado de: Junqueira & Carneiro, 2013.



Cada hepatócito produz um fluido designado de bÍlis que é excretada por canalÍculos biliares microscÓpicos no sentido oposto ao fluxo sangÍneo atÉ aos ductos biliares tributÁrios na periferia de cada lÓbulo hepÁtico. Os ductos biliares de cada lobo convergem formando os ductos hepÁticos esquerdo e direito, confluindo estes para o ducto biliar comum (Divers, 2015b). O ducto biliar comum e o ducto pancreÁtico drenam conjuntamente para o inÍcio da flexura sigmÓide do duodeno (anteriormente à flexura cranial duodenal) através da papila duodenal maior (figuras 5 e 6) (Budras, Sack, & Röck, 2009; Divers, 2015b; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). Devido ao cavalo não possuir vesÍcula biliar nem nenhum esfÍncter na ligação do ducto biliar comum ao duodeno, a bÍlis é continuamente drenada para o intestino, não sendo por isso concentrada (Barton, 2010; Budras, Sack, & Röck, 2009). A papila duodenal maior pode ser observada através de exame endoscÓpico em que é perceptÍvel um relevo na mucosa na margem convexa da flexura, sendo também perceptÍvel um relevo de menores dimensões na margem oposta que corresponde à papila duodenal menor, por onde drena o ducto pancreÁtico acessÓrio (figuras 5 e 6) (Divers, 2015b).

Figura 5 - Representações anatômica do estômado e porção inicial do duodeno em secção sagital, bem como papilas duodenais maior e menor. Adaptado de: Abutarbush & Carmalt, 2008.

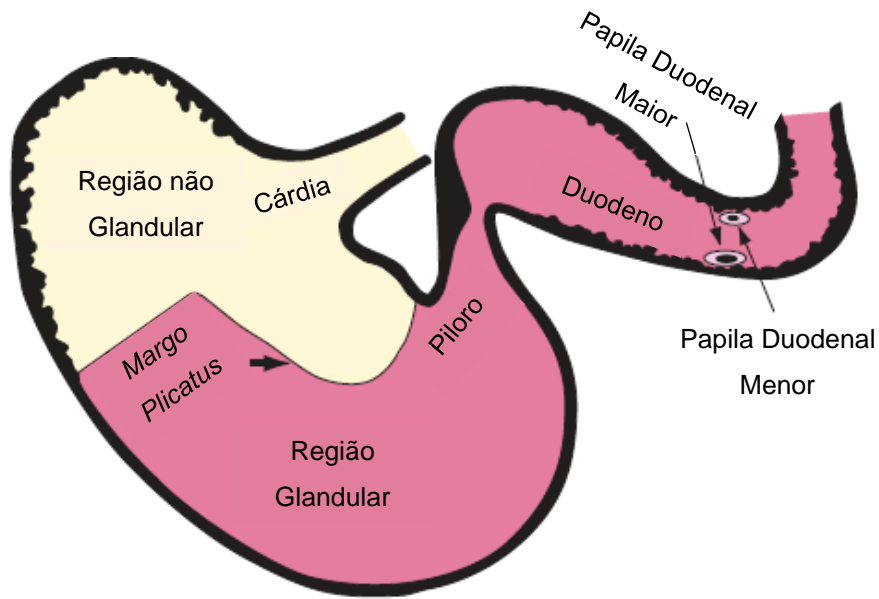
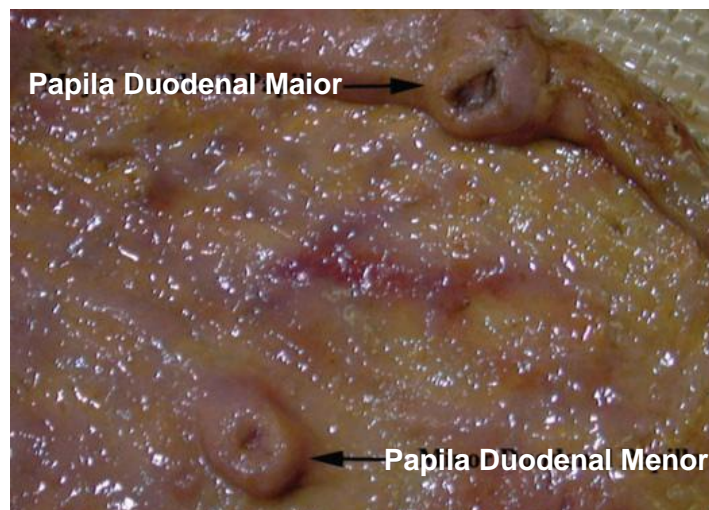


Figura 6 - Papilas duodenais maior e menor em necrópsia de equídeo, permitindo a sua comparação. Adaptado de: Abutarbush & Carmalt, 2008.



## 2) Fisiologia Hepática

O fígado é o principal órgão de assimilação e metabolização de nutrientes, drogas administradas *per os* e de toxinas derivadas do intestino ou bactérias, pois 70% do seu volume sanguíneo provém da veia porta hepática, consistindo em sangue desoxigenado proveniente do estômago, baço, pâncreas, intestino delgado, ceco e cólon maior (Brokenshire-Dyke, 2014; Divers, 2015b). A veia porta não recebe sangue da porção mais caudal do cólon, reto, rins, órgãos

reprodutivos e glândula mamária. Os restantes 30% do volume sanguíneo hepático são provenientes da artéria hepática e consistem em sangue oxigenado. Cerca de 10% do volume sanguíneo total encontra-se sempre no fígado (Divers, 2015b).

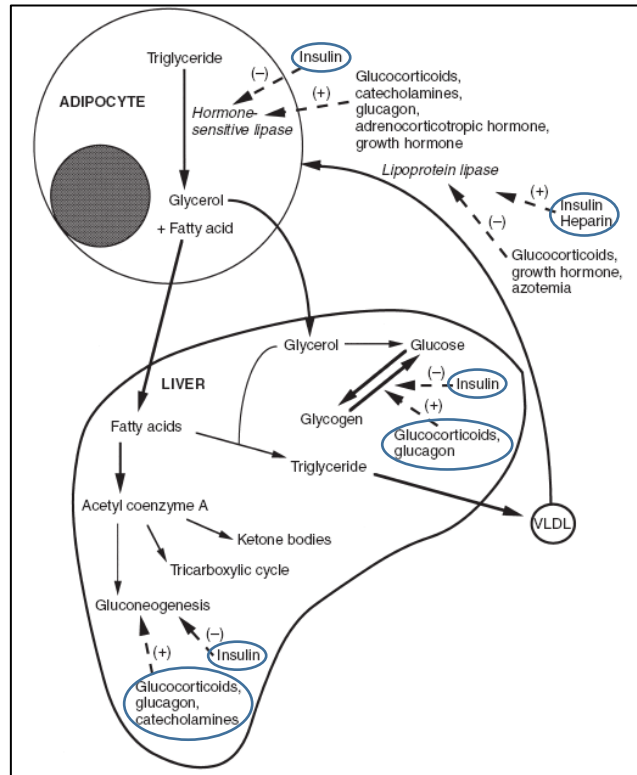
As lesões hepáticas são muito comuns devido à sua ação de filtração de toxinas entéricas, tanto de origem bacteriana como química, mas felizmente o fígado possui elevada capacidade regenerativa, não evoluindo na maioria dos casos de lesão hepática para insuficiência hepática. Os hepatócitos são células altamente diferenciadas, mas conseguem proliferar ativamente por duplicação, quer em resposta a estimulação aguda externa quer por aumento de regulação de fatores humorais, sem necessitarem da contribuição de células progenitoras de células estaminais hepáticas. No entanto, quando ocorrem lesões hepáticas crônicas os hepatócitos deixam de proliferar normalmente, mas as células biliares continuam a proliferar formando ductos em redor das veias portais (Diver , 2015b).

O fígado é um órgão vital pois realiza diversas funções essenciais, tais como: produção de cerca de 90% das proteínas plasmáticas (incluindo a albumina); produção de quase todos os fatores de coagulação; produção de proteínas de fase aguda (tais como o fibrinogénio e amilóide A); e realização de funções hematopoiéticas quando em condições extremas (Barton, 2010; Brokenshire-Dyke, 2014; Divers, 2015b). O fígado é o único local de síntese de albumina e fibrinogénio (Barton, 2010). Para além disso funciona como reserva de glucose sob a forma de glicogénio, permitindo a sua disponibilização através da glicogenólise (Brokenshire-Dyke, 2014; Divers, 2015b). O fígado é o órgão mais importante no metabolismo intermediário de proteínas, hidratos de carbono e lípidos, permitindo a gluconeogénese com recurso a glicerol, lactato, ácidos gordos voláteis (tais como o proprionato) e alguns aminoácidos (Divers, 2015b; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). A gluconeogénese é favorecida pelo aumento da concentração de glucocorticóides (endógenos e exógenos), glucagon e hormona tiroidea, sendo pelo contrário inibida pela insulina (figura 7). O fígado tem a capacidade de oxidar ácidos gordos livres em acetil coenzima A (acetil coA), sendo este um composto fundamental no ciclo dos ácidos tricarbóxicos (figura 7). A acetil coA pode ser convertida em outros ácidos gordos, colesterol, esteróides, corpos cetónicos, acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato (figura 7). A utilização de corpos cetónicos como fonte energética periférica, especialmente pelo cérebro, devido aos níveis de glucose serem insuficientes, resulta em cetoacidose. A insulina atua de modo a aumentar a síntese de ácidos gordos (figura 7) (Barton, 2010).

O fígado constitui o principal depósito de armazenamento e conversão de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e de substâncias elementares tais como o ferro, chumbo, selénio e molibdénio. Este órgão tem uma função destoxicante do organismo para muitos xenobióticos (compostos químicos como drogas, pesticidas ou carcinogénicos) e é o primeiro local de passagem para metabolização de muitas substâncias e para excreção de algumas (Divers, 2015b; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). O fígado tem um importante papel na eliminação do

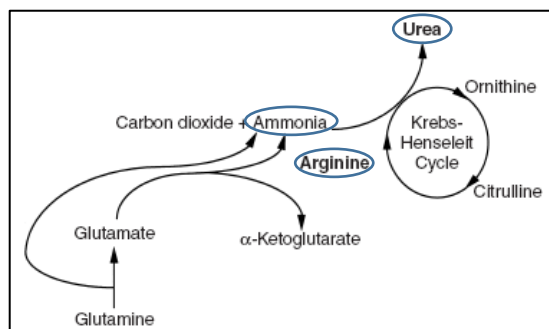
subproduto tóxico designado por amónia, resultante da catabolização de aminoácidos através da sua conversão em ureia, nas mitocôndrias dos hepatócitos através do *Ciclo de Krebs-Henseleit*, sendo a ureia transportada para o rim sob a forma de nitrogénio ureico no sangue (BUN) para a sua excreção (figura 8) (Barton, 2010).

Figura 7 - Representação dos efeitos hormonais no controlo do metabolismo hepático. Adaptado de: Barton, 2010.



Legenda: (-) – efeitos inibitórios; (+) – efeitos estimulatórios; VLDL – Very low density lipoprotein (lipoproteína de muito baixa densidade).

Figura 8 - Representação do ciclo da ureia. Adaptado de: Barton, 2010.



A bÍlis é uma substância composta principalmente por bilirrubina conjugada, ácidos biliares, lecitina, água e eletrólitos. A bÍlis nos cavalos é secretada para o intestino de forma contínua através do ducto hepático, sendo por isso menos concentrada que noutras espécies. 90% da porção orgânica da bÍlis é composta por ácidos biliares, sendo estas moléculas anfotéricas com capacidade de facilitarem a excreção de colesterol e fosfolípidos e, facilitar a absorção intestinal de lípidos e compostos lipossolúveis. Mais de 95% dos ácidos biliares excretados pela bÍlis no intestino são reabsorvidos no íleo, sendo devolvidos ao fígado através da circulação enterohepática (Barton, 2010).

A bilirrubina é formada principalmente a partir de hemoglobina e mioglobina, mais pigmentos não heme tais como os citocromos. Os macrófagos do baço, medula óssea e fígado envolvem primeiro os pigmentos e convertem-nos em biliverdina, sendo esta depois convertida em bilirrubina livre e insolúvel (também designada indireta ou não conjugada), chegando através do plasma ao fígado ligada a albumina, de modo a diminuir o seu teor hidrofóbico (figura 9). A bilirrubina indireta é transferida da albumina para uma proteína de transporte e armazenamento hepático na superfície dos hepatócitos designada ligandina. Dentro do hepatócito a bilirrubina indireta é conjugada com glicuronídeos no retículo endoplasmático, designando-se a partir daí por bilirrubina conjugada. A bilirrubina conjugada, também designada por bilirrubina direta, apresenta solubilidade em água, sendo excretada nos canalículos biliares (figura 9). Em circunstâncias fisiológicas, uma pequena parte de bilirrubina conjugada escapa para a circulação geral (figura 9) (Barton, 2010).

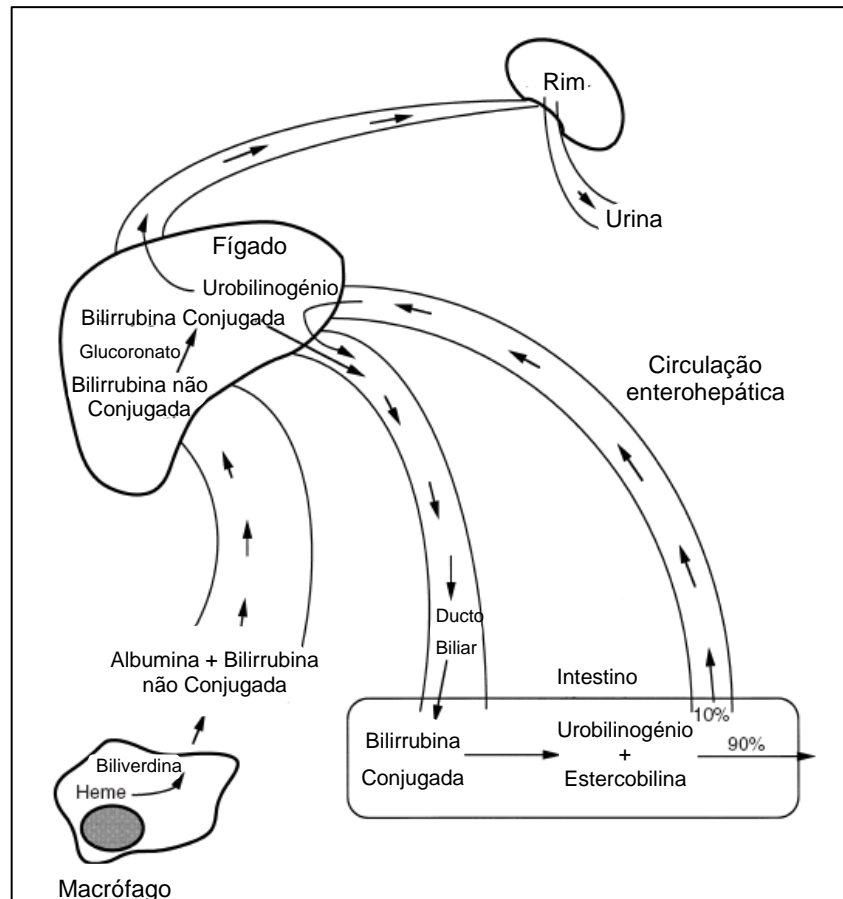
A nível intestinal a bilirrubina conjugada é convertida pela microflora existente em estercobilina e urobilinogénio, atribuindo estes a coloração amarelo-acastanhado às fezes. No entanto, nos herbívoros muitas vezes o pigmento atribuído pela clorofila mascara essa pigmentação. O urobilinogénio é na sua maioria absorvido a nível intestinal regressando ao fígado através da circulação entero-hepática, sendo uma pequena quantidade excretada a nível renal (figura 9). Alguma bilirrubina conjugada é hidrolisada no lúmen intestinal, tornando-se novamente em bilirrubina não conjugada e sendo novamente reabsorvida (figura 9) (Barton, 2010).

Clinicamente a doença hepática pode ser dividida em aguda e crónica, sendo sempre que possível descrita como predominantemente hepatocelular ou biliar. Os exames laboratoriais podem ser muito úteis para determinar se as lesões são predominantemente hepatocelulares ou biliares através da medição das enzimas hepatocelulares e biliares específicas e, através da comparação entre bilirrubinas direta e indireta.

A distinção entre doença hepática aguda ou crónica deve ser efetuada com base na avaliação da história clínica, sinais clínicos e evidência de fibrose, quer por imagem ecográfica, quer por biópsia (sendo este um importante determinante do prognóstico a longo prazo). A distinção entre lesões predominantemente hepatocelulares ou biliares pode ser importante para

realizar a lista de diagnósticos diferenciais e escolher mais rapidamente a terapia indicada, no entanto na maioria dos casos esta distinção torna-se dúbia (Divers, 2015b).

Figura 9 - Representação do metabolismo e excreção de bÍlis. Adaptado de: Barton, 2010.



A fibrose hepática acredita-se ser promovida predominantemente pelas células estreladas (também conhecidas como perissinusoidais ou células Ito) após a lesão hepática, estando estas células localizadas no espaço de Disse, muito próximas dos hepatócitos, sendo apenas entrepostas por células endoteliais sinusoidais e células de Kupffer adjacentes. Estas células são normalmente quiescentes e em pequena quantidade, contendo no seu espaço intracelular lípidos que servem de fonte de vitamina A. Quando o fígado é lesionado as células de Kupffer produzem fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), provocando a proliferação de células estreladas mas em número mais reduzido. Neste processo estas células tornam-se quimiotáticas, diminuindo o seu teor em vitamina A, segregando colagénio (fator essencial para a fibrose) e tornando-se eventualmente senescentes (Divers, 2015b).

As células de Kupffer são macrófagos especializados que fazem parte do sistema mononuclear fagocitário, sendo responsáveis pela destruição das bactérias de origem

gastrointestinal, endotoxinas, produtos de degradação de fibrina e de outras substâncias (Barton, 2010; Divers, 2015b). São também responsáveis pela reciclagem do ferro dos eritrócitos danificados ou senescentes, acumulando assim hemossiderina mesmo na ausência de doença do equino (Divers, 2015b).

A lesão hepática pode classificar-se como reversível (tal como a degenerescência lipídica) ou irreversível (como por exemplo a necrose); focal, zonal ou difusa; aguda ou crónica; e inflamatória, anatómica ou funcional (Barton, 2010).

Lesões hepáticas agudas únicas apresentam-se como lesões uniformes em pequenas áreas hepáticas, tal como abscesso hepático, enfarte hepático único e crescimento neoplásico. Devido à presença de reservas hepáticas adequadas nas regiões não afetadas, raramente estão presentes sinais clínicos de insuficiência hepática em lesões hepáticas focais, sendo contudo possível demonstrar a presença de doença hepática. Lesões hepáticas agudas multifocais resultam mais provavelmente em doença hepática clinicamente significativa. As lesões hepáticas agudas podem ser de natureza degenerativa, necrosante ou inflamatória. A degenerescência hepática define-se como um insulto tóxico ou imunológico que provoca tumefação dos hepatócitos. A degenerescência em balão é usada para descrever o citoplasma tumefacto e irregularmente compactado com grandes áreas claras. Na degeneração espumosa o material biliar é mantido, apresentando-se os hepatócitos com um aspeto espumoso e tumefacto. Na necrose coagulativa isquémica os hepatócitos apresentam-se pouco corados e mumificados com lise nuclear, enquanto que na necrose lítica os hepatócitos apresentam-se osmoticamente inchados e por vezes até raturados (consequência da pressão osmótica). A necrose de hepatócitos contíguos que confluem para áreas adjacentes é designada por necrose em ponte (Barton, 2010).

As lesões hepáticas podem ser zonais, ou seja, apenas afetam determinadas zonas do fígado uniformemente ao longo de todo o órgão, ficando o fígado com um aspeto pálido com um padrão lobular mais marcado na superfície de corte. Os tipos mais comuns de lesões hepáticas zonais são os centrolobulares e periacinares. Nas lesões zonais centrolobulares a área adjacente às veias centrais (zona acinar III) está uniformemente atingida, enquanto que nas lesões periacinares a degenerescência celular ocorre apenas numa área em forma de cunha em torno da veia central. Os hepatócitos mais próximos da veia centrolobular são mais susceptíveis a danos provocados por anóxia, pois a tensão de oxigénio nessa zona é mais baixa e a atividade oxidase de função mista é superior. Lesões centrolobulares podem ser causadas por anemia aguda severa, congestão passiva causada por insuficiência cardíaca congestiva (fígado “noz moscada”) e hepatopatias tóxicas. As lesões periportais (zona acinar I) são raras, no entanto podem ocorrer em casos de enfartes de vasos hepáticos, arterite verminosa e na exposição a toxinas tais como o fósforo (Barton, 2010).

A lesão hepática aguda difusa é normalmente acompanhada de sinais clínicos de insuficiência hepática, dependendo a gravidade dos sinais clínicos da extensão dos danos. Neste

quadro clínico frequentemente ocorre hepatomegalia, com o órgão a possuir aspeto pálido e textura friável. As lesões hepáticas agudas generalizadas podem ocorrer como consequência de infeção, necrose, inflamação ou agentes hepatotóxicos. Infeções bacterianas ou virais, parasitismo e distúrbios imunológicos podem provocar necrose aguda generalizada ou inflamação. Independentemente da causa, qualquer processo que resulte em resposta inflamatória no parênquima hepático é denominado de hepatite. A inflamação aguda é acompanhada frequentemente de necrose, sendo caracterizada pela presença de macrófagos e leucócitos (neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e plasmócitos) nas áreas de morte celular ou em volta das tríades portais. O processo inflamatório que envolve primariamente o sistema biliar designa-se por colangite, sendo geralmente resultado de infeção ascendente do trato intestinal ou consequência de colestase (Barton, 2010).

Na lesão hepática crónica verifica-se a presença de sinais clínicos de insuficiência hepática quando mais de 80% da massa hepática está destruída ou substituída por tecido fibroso. Quando a taxa de necrose progressiva excede a taxa de regeneração, então ocorre fibrose, com presença de colagénio e fibroblastos, aparentando na maioria dos casos o órgão possuir menores dimensões que o normal. Por norma a fibrose resulta de hipóxia crónica, inflamação crónica, colestase ou colangite crónica, neoplasia metastática, trauma ou ingestão de agentes antimitóticos, tais como plantas contendo alcalóides de pirrolizidina. Tanto a cirrose como doenças hepáticas em estadio final são doenças hepáticas crónicas caracterizadas pela presença de fibrose generalizada, regeneração nodular e hiperplasia biliar. A regeneração nodular ocorre quando o suprimento sanguíneo e a arquitectura normal do fígado são destruídos ou interrompidos pela presença de fibrose. A fibrose em ponte implica fibrose que se estende de uma área portal para outra, ou de áreas portais para áreas centrais. A ocorrência de hiperplasia biliar ainda não tem causas definidas. A hepatite crónica ativa (CAH) é uma doença hepática crónica caracterizada por cirrose associada a resposta inflamatória aguda (Barton, 2010).

A ocorrência de anastomoses anatómicas ou funcionais causa lesões hepáticas por danos anóxicos, sendo que ocorre um desvio do sangue que devia ser canalizado para o fígado, não conseguindo este realizar as suas funções metabólicas e de destoxificação em condições normais, tornando-se assim iminente a ocorrência de sinais clínicos de insuficiência hepática. As anastomoses anatómicas podem ser classificadas como congénitas ou adquiridas e, intrahepáticas ou extrahepáticas (Barton, 2010).

O fígado responde a insultos de maneiras muito limitadas, pelo que as alterações clínicas e laboratoriais são semelhantes independentemente da etiologia (Pearson, 1999).

As doenças hepáticas são comuns nos equinos, compreendendo animais de todas as idades e raças, independentemente do sexo. Segundo um estudo realizado por Smith *et al.* (2003), os equinos com idades compreendidas entre os 8 e os 11 anos são os mais propensos a apresentar patologia hepática. Algumas patologias são mais frequentes em alguns grupos

específicos de animais, como é o caso do carcinoma dos ductos biliares que é mais comum em animais idosos e da lipidose hepática que afeta mais pôneis machos (Byars, 2003; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016; Smith, Stevens, Durham, & Marr, 2003). As doenças hepáticas mais frequentemente documentadas em cavalos são a necrose hepática aguda, hepatite crônica ativa causada por alcalóides de pirrolizidina, colelitíase e hemocromatose (Hurcombe, 2007). Em cavalos adultos normalmente antes da falha na produção de fatores de coagulação e de albumina ocorrem aumentos séricos das enzimas hepáticas, falha na conversão de amônia em ureia e na conjugação de bilirrubina (Pearson, 1999). O desfecho fatal é mais provável em casos de colangiohepatite, toxicidade por alcalóides de pirrolizidina e hepatite crônica ativa (Smith, Stevens, Durham, & Marr, 2003).

### 3) Sinais Clínicos de Insuficiência Hepática

A insuficiência hepática é referida como a incapacidade do fígado em realizar as suas funções normais de forma apropriada. O fígado é responsável por várias atividades fisiológicas, pelo que qualquer processo patológico pode alterar uma ou mais das suas funções, sem no entanto afetar outras. Se ocorrer perda gradual de hepatócitos e a regeneração for paralela à destruição, então pode não ocorrer necessariamente insuficiência hepática. Deste modo podemos compreender que pode estar presente doença hepática, sem contudo estar presente necessariamente insuficiência hepática, pelo que por vezes a doença hepática não tem manifestação clínica (Barton, 2010).

Os sinais clínicos de insuficiência hepática são altamente variáveis e inespecíficos, dependendo da extensão, padrão, localização e taxa de lesão hepática, sendo a evolução da doença hepática também dependente destes fatores (Barton, 2010). Por norma, mais de 80% do parênquima hepático deve ser perdido para ocorrer a manifestação de sinais clínicos, independentemente da causa de doença hepática (Barton, 2010; Pearson, 1999; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). Assim, independentemente da duração da doença hepática, a manifestação de sinais clínicos é geralmente abrupta. Segundo Barton (2010), os sinais clínicos de insuficiência hepática mais comuns em cavalos são: depressão, anorexia, cólica, encefalopatia hepática (EH), perda de peso e icterícia, sendo os menos frequentemente relatados: fotossensibilização hepatogénica, diarreia, dor abdominal, paralisia laríngea bilateral e diátese hemorrágica e, os mais raramente reportados: ascite, edema abdominal, esteatorréia, tenesmo, seborreia generalizada, prurido, choque endotóxico, polidipsia e hemólise (Barton, 2010). Segundo Queiroz *et al.* (2016), os sinais clínicos mais frequentes de doença hepática são: icterícia, EH, edema, emaciação, diarreia, obstipação, fotossensibilização, diátese hemorrágica e dor abdominal (Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). Segundo Pearson (1999), os sinais

clínicos de doença hepática mais comuns são a icterícia, alterações de comportamento e perda de peso, no entanto podem ocorrer outros sinais tais como fotossensibilização, estridor inspiratório e ocasionalmente diarreia. A ocorrência de tenesmo e ascite ocorrem na doença hepática em bovinos, no entanto são sinais pouco comuns em cavalos, sendo a hemorragia e as concentrações baixas de albumina eventos finais. Obviamente, nenhum destes sinais clínicos é patognomônico de doença hepática e nenhum está presente consistentemente em todos os casos (Pearson, 1999).

### a) Encefalopatia Hepática

A encefalopatia hepática (EH) é uma síndrome clínica complexa (condição clínica neuropsicótica), caracterizada pelo estado mental anômalo que acompanha a insuficiência hepática severa (Barton, 2010; Divers, 2015a; Divers, 2015b; Hurcombe, 2007; Nout, 2011; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). A EH ocorre devido à incapacidade ou à ineficácia do fígado em metabolizar e depurar neurotoxinas endógenas e exógenas (Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). A EH é um sinal clínico muito comum em Humanos com doença hepática avançada, sendo estimado que cerca de 60-80% dos pacientes com cirrose hepática desenvolve EH, dos quais 10% desenvolve EH grave em algum momento da doença (Nout, 2011).

A EH é comum em equinos com insuficiência hepática tanto aguda como crônica e em poldros com anastomoses portossistêmicas (Divers, 2015a; Divers, 2015b; Pearson, 1999). Em equinos adultos com doença hepática adquirida encontra-se muitas vezes associada à ingestão de plantas que contêm alcalóides de pirrolizidina, tais como *Senecio sp.*, *Crotalaria sp.*, *Amsinckia sp.*, *Heliotropium sp.* e *Cynoglossum sp.* (Mair, 1997; Meyer & Walton, 2013). Os sinais clínicos são muito variáveis mas representam manifestações do aumento da inibição neuronal, provocando alterações motoras, déficits cognitivos e mudanças no estado de alerta. Os sinais clínicos podem ser apenas ligeiros tais como depressão, anorexia e bocejo frequente ou, sinais mais fulminantes tais como *head pressing* (pressão física exercida pelos animais sobre a cabeça), cegueira, *circling* (andar em círculo) e coma (Barton, 2010; Divers, 2015a; Divers, 2015b; Hurcombe, 2007; Nout, 2011; Pearson, 1999). Alguns cavalos com EH tornam-se mais amigáveis que o habitual, sendo que outros demonstram comportamentos viciosos (Pearson, 1999). Este distúrbio ocorre em pacientes com descompensação avançada de doença hepática de todos os tipos, podendo ocorrer em doença hepatocelular aguda, subaguda ou crônica. Esta síndrome é considerada uma encefalopatia metabólica potencialmente reversível, no entanto múltiplos episódios podem conduzir provavelmente a danos neuronais irreversíveis (Barton, 2010; Hurcombe, 2007; Nout, 2011). Na maioria dos casos de EH ocorrem evidências laboratoriais tanto de doença como de disfunção hepática (Divers, 2015a).

Tabela 1 - Diagnósticos diferenciais de encefalopatia equina. Adaptado de: Divers, 2015a.

<b>Diagnósticos diferenciais de encefalopatia equina</b>
Traumatismo craniano
Encefalites viral (Raiva, Febre do nilo ocidental - WNFV, Encefalomielite equina oriental - EEE, Encefalomielite equina ocidental - WEE e Encefalomielite equina venezuelana - VEE)
Mieloencefalite protozoária equina
Abcessos intracranianos (incluindo <i>Streptococcus</i> , <i>Rodococcus</i> e <i>Listeria</i> )
Leucoencefalomalácia
Encefalopatia parasitária (por exemplo por <i>Halicephalobus spp.</i> )
Toxicidade a organofosforados
Encefalopatia nigropalidal
Encefalopatia hepática
Hiperamoniémia
Hiponatrémia
Toxicose a metais pesados (arsénio e chumbo)
Neoplasia intracraniana
Reações adversas a drogas
Meningite

Não existe nenhum sinal clínico com características específicas que permita distinguir esta síndrome de outras causas de disfunção cerebral (tabela 1). A encefalopatia hepática pode ser caracterizada em 4 estádios clínicos, sendo que o estádio I não é detetado na maioria dos pacientes equinos, pois representam apenas alterações mínimas de comportamento, com comprometimento intelectual subtil devido à disfunção bilateral do prosencéfalo (telencéfalo + diencéfalo). Nos seres humanos, esta primeira fase de encefalopatia hepática é mais facilmente detetada por amigos próximos e familiares do paciente do que propriamente por um médico, tal como muitas vezes passa mais despercebida para o veterinário do que para o dono do cavalo. Com o progresso da encefalopatia hepática vão diminuindo as funções motoras, as habilidades intelectuais e o estado de consciência, sendo que geralmente no estádio II já se tornam óbvias as alterações no animal. Nesta fase, os sinais clínicos presentes incluem depressão, irritabilidade, *head pressing*, *circling*, leve ataxia, desorientação, bocejo persistente e outras alterações comportamentais. No estádio III ocorre desenvolvimento de sonolência, começando o animal a reagir excessivamente ou minimamente a estímulos habituais, manifestando comportamento agressivo ou violento intercalado por períodos de estupor e ptialismo. No estádio IV ocorre perda do controlo motor e perdas de consciência, culminando em coma ou até mesmo na morte do

animal (Barton, 2010; Divers, 2015a; Hurcombe, 2007). Podem ocorrer convulsões nos últimos estádios de EH, no entanto estas manifestações são atípicas (Barton, 2010; Divers, 2015a). A gravidade de encefalopatia hepática está relacionada com o grau de insuficiência hepática, no entanto nenhum destes parâmetros está relacionado com o tipo e reversibilidade da doença hepática subjacente (Barton, 2010).

A causa de EH é por definição a insuficiência hepatocelular, independentemente da causa de doença hepática, sendo por isso fundamental um bom funcionamento hepático para o normal funcionamento dos neurónios cerebrais e astrócitos (Barton, 2010; Hurcombe, 2007; Divers, 2015a). No entanto, não existe nenhum estudo que tenha demonstrado a associação entre neurónios e astrócitos com funções normais e a integridade do parênquima hepático, pelo que a causa exata de EH continua por esclarecer (Hurcombe, 2007). Doenças predominantemente biliares, tais como a colangiohepatite são menos prováveis que resultem em EH que doenças que causem disfunção hepatocitária fulminante (como a doença de Theiler) (Divers, 2015a). Na doença hepática aguda o desenvolvimento de EH é insidioso, sendo a EH causada principalmente por edema dos astrócitos, edema cerebral citotóxico agudo e hipertensão intracraniana (Barton, 2010). Para além do edema, os astrócitos também apresentam alterações de Alzheimer do tipo II (Barton, 2010; Divers, 2015a; Divers, 2015b; Hurcombe, 2007; Nout, 2011). As alterações de Alzheimer de tipo II consistem em aumento dos astrócitos, com núcleo basófilo que parecem ser metabolicamente hiperativos. Estas alterações estão intimamente associadas ao aumento de amónia a nível sanguíneo e no líquido cefalorraquidiano, sendo frequentemente identificadas no cérebro de cavalos que morrem de hiperamoniémia intestinal primária e, segundo estudos, também em poldros ao fim de 2 dias de insuficiência hepática (Divers, 2015a; Divers, 2015b).

Pacientes com EH apresentam alterações no fluxo sanguíneo cerebral e na permeabilidade da barreira hematoencefálica, conduzindo a hipertensão e edema cerebral, bem como alterações do metabolismo cerebral (Barton, 2010). A barreira hematoencefálica é uma barreira física e metabólica que separa a circulação periférica do sistema nervoso central, regulando as trocas entre ambos. Alterações na permeabilidade da barreira hematoencefálica podem ser devidas a alterações estruturais subtis e a efeitos vasculares inflamatórios, bem como a alterações funcionais (Divers, 2015a; Divers, 2015b). Os mecanismos responsáveis por estas alterações não são completamente conhecidos, no entanto provavelmente as alterações das funções dos astrócitos e os aumentos diretamente ou indiretamente das concentrações sanguíneas de amónia estão envolvidos (Barton, 2010).

Quer seja de natureza aguda ou crónica, a patogénese precisa de EH não é clara, e considerando as numerosas hipóteses propostas, a causa é provavelmente multifactorial (Barton, 2010; Hurcombe, 2007; Meyer & Walton, 2013; Nout, 2011; Pearson, 1999). A patogénese de EH é complexa, estando envolvidas neurotoxinas de origem intestinal, inflamação cerebral e

sistêmica, disfunção cerebral e sistêmica e anormalias neuroendócrinas (Divers, 2015a; Divers, 2015b).

A hipótese mais antiga e predominante para a ocorrência de EH tem como causa a acumulação de produtos tóxicos no sangue, sendo estes derivados de substratos nitrogenados do trato gastrointestinal, que contornam o fígado através de anastomoses anatómicas ou funcionais. A EH pode assim ser consequência também de falha primária hepática em remover certas substâncias da corrente sanguínea, tendo essas substâncias capacidade direta ou indiretamente de modular as funções do SNC (Barton, 2010; Hurcombe, 2007). A amônia proveniente da degradação de aminoácidos, aminas e purinas por parte das bactérias entéricas, é considerada a maior neurotoxina na doença hepática (Barton, 2010; Divers, 2015b; Hurcombe, 2007). A amônia apresenta-se em elevadas concentrações sanguíneas e no líquido cefalorraquidiano na maioria dos casos de EH (Divers, 2015a; Divers, 2015b; Pearson, 1999). Aumentos das concentrações cerebrais de amônia podem provocar efeitos diretos no pH, nos potenciais de membrana e na neurotransmissão, bem como no metabolismo celular e no balanço osmótico cerebral (Divers, 2015a; Divers, 2015b). A inflamação e a produção de radicais livres induzida pela amônia no tecido cerebral podem também causar edema vasogênico (Divers, 2015a). A amônia ( $\text{NH}_3$ ) é uma base fraca, não ionizada e tóxica em elevadas concentrações, que atravessa facilmente a barreira hematoencefálica por difusão, comparativamente com a sua forma ionizada e não tóxica ( $\text{NH}_4^+$ ) que apenas a atravessa através de translocação transcelular (Divers, 2015a; Divers, 2015b). As alterações da permeabilidade da barreira hematoencefálica podem dever-se a alterações estruturais das suas estreitas junções, a efeitos inflamatórios vasculares ou a alterações funcionais (Divers, 2015a). Em paciente com insuficiência hepática, a amônia não é corretamente metabolizada no ciclo da ureia, pelo que as suas concentrações plasmáticas aumentam, permitindo a sua passagem para o SNC com desenvolvimento de encefalopatia (Barton, 2010; Divers, 2015b; Hurcombe, 2007). Outra possível causa para a EH é a deficiência em zinco, sendo este um componente muito importante no ciclo da ureia (Barton, 2010; Hurcombe, 2007).

A hiperamoniemia induz a produção de óxido nítrico e de espécies reativas de oxigênio, culminando na acumulação de peróxidos, stress oxidativo e danos nas células nervosas. Os efeitos cumulativos de amônia no tecido neuronal desempenham um papel importante na patogénese de EH, tendo sido possível induzir encefalopatia de modo experimental. Deficiências enzimáticas congénitas podem causar encefalopatia em crianças com hiperamonémia. A EH tende a melhorar com terapia destinada a reduzir a absorção intestinal de amônia. Estudos clínicos mais antigos discutiam o papel da amônia na patogénese de EH, pois as concentrações plasmáticas de amônia pareciam correlacionar-se mal com a gravidade de EH, no entanto estudos recentes mostram elevada correlação entre os níveis sanguíneos de amônia e a gravidade de EH (Barton, 2010; Hurcombe, 2007). Os efeitos da amônia no SNC são complexos, sendo a provável neurotoxina envolvida na patogénese de EH mas não a única (Barton, 2010; Divers, 2015a;

Hurcombe, 2007). A EH pode confundir-se do ponto de vista clínico e laboratorial com outros dois síndromes de hiperamoniémia primária, sendo eles a síndrome de hiperamoniémia entérica primária principalmente em cavalos adultos e a presumível falha no metabolismo de amónia inerente ao poldro Morgan (Divers, 2015a).

As concentrações sanguíneas de amónia na EH situam-se na maioria das vezes entre 100-200  $\mu\text{mol/L}$  ou no limite superior dos parâmetros considerados normais, ou seja, entre 70-90  $\mu\text{mol/L}$ , no entanto em poucos casos podem até ser superiores a 200  $\mu\text{mol/L}$ . Concentrações de amónia superiores a 300  $\mu\text{mol/L}$  em pacientes com EH ocorrem mais frequentemente em casos de hiperamoniémia entérica primária, de anastomoses portossistémicas ou na síndrome dos poldros Morgan, do que em casos de insuficiência hepática (Divers, 2015a).

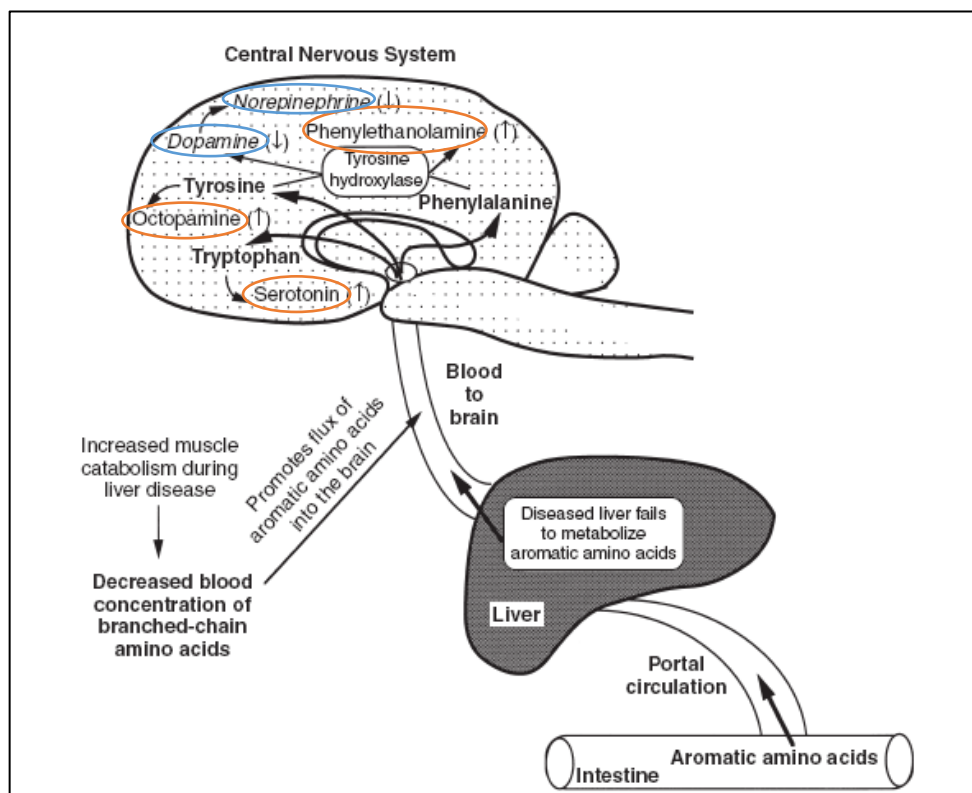
A hipótese sinérgica de neurotoxinas na patogénese de EH implica não só amónia como também outras neurotoxinas intestinais, tais como fenóis, mercaptanos e ácidos gordos de cadeia curta. Em pacientes com insuficiência hepática, todas estas substâncias apresentam aumentos sanguíneos, sendo esses aumentos considerados separadamente insuficientes para causar EH. Estes aumentos em conjunto podem, no entanto, causar encefalopatia devido à sua ação sinérgica e aumentando as alterações metabólicas endógenas, principalmente pela inibição cerebral de  $\text{Na}^+$  e de ATPase dependente de  $\text{K}^+$  com subsequente prejuízo da transmissão neuronal. As concentrações sanguíneas e cerebrais de mercaptanos correlacionam-se fracamente com o estágio de EH (Barton, 2010; Hurcombe, 2007).

Outra hipótese muito popular sobre a patogénese de EH envolve o aumento da atividade inibitória dos sistemas neurotransmissores, GABA-benzodiazepina e serotonina, e a depressão funcional do sistema excitatório glutamatérgico. Em pacientes com doença hepática a hiperamoniémia demonstrou um aumento GABAérgico (Barton, 2010). Quando libertado nos neurónios pré-sinápticos, os GABA ligam-se a recetores específicos nos neurónios pós-sinápticos, resultando no aumento das trocas iónicas de iões cloreto através das membranas pós-sinápticas, hiperpolarizando a membrana e gerando um potencial inibitório pós-sináptico (Barton, 2010; Hurcombe, 2007). O receptor GABA é um complexo ionóforo supramolecular de cloreto que possui locais de ligação interativos para 3 classes de ligandos sinérgicos: os GABA agonistas; os benzodiazepínicos; e os barbitúricos. As ligações das benzodiazepinas e barbitúricos nos seus locais de ligação dos recetores GABA potenciam a sedação induzida por GABA. A hipótese GABA na patogénese de EH foi originalmente baseada numa série de observações em coelhos com EH, em que foi identificado o aumento da atividade GABA no soro e líquido cefalorraquidiano, bem como o aumento da densidade dos receptores GABA (Barton, 2010). O fígado é responsável por pelo menos 80% da metabolização de GABA em cavalos saudáveis, sendo que quando ocorre doença hepática é expectável um efeito no metabolismo e acumulação de GABA (Hurcombe, 2007).

O aumento dos níveis cerebrais das benzodiazepinas naturais provavelmente constitui um mecanismo do aumento GABAérgico na EH. O amoníaco atua de forma sinérgica com os benzodiazepínicos naturais, aumentando também a neurotransmissão GABAérgica. Os agonistas benzodiazépicos aumentam a frequência da abertura dos canais de cloreto induzidas pelos GABA, enquanto que os barbitúricos aumentam o tempo médio de abertura desses canais. Estudos clínicos demonstraram melhores estados de consciência e menores alterações de encefalograma de EH em pacientes tratados com antagonistas do receptor de benzodiazepina, tal como o flumazenil (Barton, 2010; Hurcombe, 2007).

Outra hipótese baseia-se no facto de durante a insuficiência hepática ocorrer esgotamento dos verdadeiros neurotransmissores do SNC, tais como a norepinefrina e a dopamina, e ocorrer o aumento dos falsos neurotransmissores, principalmente de octopamina e a feniletanolamina (figura 10). O efeito neurofisiológico destas alterações é a diminuição da excitação neuronal e o aumento da sua inibição (figura 10). O mecanismo deste efeito na insuficiência hepática está relacionado com o aumento das concentrações séricas de aminoácidos aromáticos (AAA), tais como a fenilalanina, tirosina e triptofano, e com a diminuição da concentração de aminoácidos de cadeia ramificada (BcAA), tais como a valina, leucina e isoleucina (figura 10). O metabolismo hepático de AAAs é reduzido, sendo que como os BcAA são metabolizados pelo tecido muscular e adiposo, então ocorre um aumento relativo de aminoácidos aromáticos face aos de cadeia ramificada, conduzindo à diminuição do rácio de aminoácidos de cadeia ramificada face aos aminoácidos aromáticos (ratio BcAA/AAA) (figura 10). A redução deste rácio durante a insuficiência hepática e o aumento da concentração cerebral de glutamina são considerados promotores de trocas da barreira hematoencefálica, permitindo a entrada cerebral de AAA com saída de glutamina. A fenilalanina consegue competir com a tirosina pela ligação da tirosina hidroxilase, culminando na diminuição da produção de dopamina. A tirosina pode assim ser descarboxilada em tiramina, sendo posteriormente convertida em octopamina, um falso neurotransmissor (figura 10). A tirosina também compete pela  $\beta$ -oxidase da dopamina, reduzindo assim a formação de norepinefrina. No SNC a fenilalanina é convertida em feniletanolamina (falso neurotransmissor) e o triptofano em serotonina (neuroinibidor) (figura 10). Em pacientes com EH são observados aumentos das concentrações séricas de AAA e aumentos no fluido cerebrospinal de octopamina, serotonina e feniletamina, o que sustenta esta hipótese (figura 10). A octopamina por si só não induz encefalopatia, bem como a relação entre o rácio BcAA/AAA se correlaciona fracamente com a EH em humanos (Barton, 2010; Hurcombe, 2007). Ensaios clínicos controlados utilizando aminoácidos de cadeia ramificada como terapêutica oral ou intravenosa, demonstraram melhoras inconsistentes nos sinais clínicos de EH (Barton, 2010).

Figura 10 - Representação do papel dos aminoácidos aromáticos na patogênese de EH, resultando em aumento da inibição neuronal e diminuição da excitação neuronal. Adaptado de: Barton, 2010.



Legenda: (↑) – Aumento do neurotransmissor; (↓) – Diminuição do neurotransmissor.

O manganês é um oligoelemento excretado pelo fígado, sendo que pacientes com doença hepática crônica possuem as suas concentrações sanguíneas e cerebrais aumentadas. A exposição crônica ao manganês provoca perda não só neuronal mas também glial, e alterações semelhantes às de Alzheimer de tipo II nos astrócitos (Barton, 2010).

Uma hipótese mais recente sobre a fisiopatologia de EH centra-se no papel dos mediadores inflamatórios em lesões cerebrais. Esta hipótese baseia-se principalmente pelo facto de que pacientes humanos com insuficiência hepática aguda possuem maior propensão para progredir para EH severa se simultaneamente possuírem evidências de resposta inflamatória sistémica. Vários estímulos são capazes de induzir a libertação de mediadores inflamatórios pelos astrócitos e células microgliais no cérebro, bem como pelas células mononucleares periféricas (Barton, 2010). A inflamação sistémica e sepsis provocadas por endotoxémia ou translocação bacteriana são muitas vezes parte integrante da síndrome de EH. Os produtos de degradação resultante dos hepatócitos lesionados, bem como o aumento da produção de citocinas inflamatórias, radicais livres e metaloproteinases na insuficiência hepática possuem efeitos sistémicos severos, assim como o aumento da permeabilidade hematoencefálica (Divers, 2015a; Divers, 2015b). Diversos estudos demonstraram aumentos significativos dos níveis de citocinas e do fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) em doentes tanto com doença hepática aguda como crônica. As concentrações

de TNF $\alpha$  relacionam-se com a gravidade e o prognóstico de EH, sendo que as estratégias terapêuticas com vista a diminuir os níveis de TNF melhoram a EH. Vários mecanismos-chave no aumento da concentração de TNF estão envolvidos na patogénese de EH, tais como o aumento da difusão de amónia a nível cerebral, inibição da absorção de glutamato pelos astrócitos e inibição de glutamato sintetase, aumento da expressão de receptores de benzodiazepina no cérebro, e aumento do extravasamento de líquido capilar cerebral com formação de edema cerebral. Foi também demonstrado que o excesso de manganês potencia a produção de TNF na microglia (Barton, 2010).

Os efeitos tóxicos cerebrais de todos estes eventos na presença de EH acredita-se que resultem nos edemas cerebrais tanto citotóxicos (extravasamento intracelular sem aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica) e vasogénicos (aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica com ganho dos níveis líquidos de fluídos) (Divers, 2015a).

O diagnóstico de EH em cavalos baseia-se na presença de sinais neurológicos de disfunção cerebral, tanto através de historial clínico e exame físico, como de achados laboratoriais compatíveis com doença hepática (Barton, 2010; Hurcombe, 2007). Devem ser excluídas outras possíveis causas para a presença dos sinais neurológicos, pois não existe nenhuma característica que permita distinguir a EH de outras encefalopatias. Outras possíveis causas para a presença de sinais neurológicos são: traumatismos, encefalomielite viral, raiva, leucoencefalomalácia, abscesso cerebral, mieloencefalite protozoária equina, migrações larvares parasitárias, toxicose bacteriana do besouro, toxicidade a organofosforados, encefalomalacia nigropalidal, botulismo, flufenazina ou outra overdose sedativa e toxicose de metais pesados. A maioria destes diagnósticos diferenciais possui outros sinais clínicos característicos, pelo que podem ser excluídos quando ocorre a ausência desses sinais. Na anamnese deve ser apurado todo o potencial acesso do paciente a toxinas ou medicamentos (Barton, 2010).

A avaliação dos níveis séricos de electrólitos, valores de cálcio e creatinina, e contagem sanguínea completa podem ser úteis para excluir outras encefalopatias (Barton, 2010). A contagem sanguínea completa e a concentração sérica de fibrinogénio podem refletir lesões inflamatórias ou infecciosas, no entanto a contagem sanguínea também pode estar em valores normais na EH (Hurcombe, 2007). A realização de serologia para encefalopatias virais e pesquisa toxicológica para organofosforados e metais pesados são na maioria dos casos apropriadas (Barton, 2010; Hurcombe, 2007). Quando as suspeitas de outras causas de encefalopatia forem elevadas é indicada a análise do líquido cefalorraquidiano, sendo que em casos de EH este se encontra sem alterações. No Homem, alterações simétricas de diminuição da atividade cerebral elétrica generalizada em encefalograma são indicadores sensíveis de EH, no entanto não é específico, pois outras encefalopatias metabólicas provocam alterações similares (Barton, 2010). Em geral, o cérebro não manifesta alterações estruturais microscópicas nos eletrões e na definição de luz, no entanto pacientes com cirrose hepática ou anastomoses portossistémicas

possuem astrócitos em maior número e também de maiores dimensões (alterações típicas de Alzheimer tipo II) na matéria cinzenta do sistema nervoso central (Barton, 2010; Divers, 2015a). Estas alterações parecem ser revertidas e específicas de anastomoses portossistêmicas. A relevância destas alterações na disfunção comportamental de EH é desconhecida (Barton, 2010).

Em 2005, Haussinger e Schliess discutiram a ligação próxima entre o edema dos astrócitos e a sinalização dos recetores N-metil-D-Aspartato (NMDA), a acumulação de glutamato, o stress oxidativo e os níveis de óxido nítrico, chegando à conclusão final que todos estes fatores desempenham um papel crítico na patogénese de EH e resultam mutuamente na amplificação dos distúrbios neurológicos (Divers, 2015a; Hurcombe, 2007). Os fatores de precipitação de EH em humanos já foram identificados, sendo eles a acumulação de amónia, benzodiazepinas, citocinas inflamatórias e hiponatrémia, contribuindo todos eles para a severidade da patologia dos astrócitos. Nos cavalos esses fatores de risco ainda não foram identificados (Hurcombe, 2007).

No estudo efetuado a 116 cavalos com doença hepática, 13,8% demonstravam sinais de EH, sendo que os que apresentavam sinais de EH possuíam 5 vezes maior probabilidade de não sobreviver no espaço de 6 meses, comparativamente com os cavalos sem sinais de EH. Aumentos das concentrações plasmáticas de fibrinogénio e concentrações séricas baixas de creatinina têm associação direta com a não sobrevivência (Divers, 2015a). Segundo observações, foi relatado que mais de 40% dos cavalos com EH sobrevive para além de 6 meses, pelo que se torna importante o início atempado da terapêutica (Divers, 2015a; Hurcombe, 2007).

## b) Icterícia

A icterícia é causada por hiperbilirrubinémia com conseqüente deposição de pigmento nos tecidos, conferindo coloração amarelada. A icterícia é mais evidente em pele não pigmentada, membranas mucosas (sobretudo na mucosa vulvar) e na esclera. Cerca de 10 a 15% dos cavalos apresentam a esclera amarelada em condições normais (Barton, 2010; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). Estados de doença que resultam em hiperbilirrubinémia podem classificar-se como: aumento da produção de bilirrubina; diminuição da absorção hepática ou conjugação de bilirrubina; e diminuição da excreção de bilirrubina (Barton, 2010; Pearson, 1999). Aumentos da produção de bilirrubina ocorrem em casos de hemólise, tanto intravascular como extravascular, e após a destruição maciça de eritrócidos devido a hemorragia interna. Esta forma de hiperbilirrubinémia é muitas vezes denominada de icterícia hemolítica ou pré-hepática, ocorrendo com o fígado em normal funcionamento, contudo a taxa de conjugação e excreção de bilirrubina está diminuída. Esta forma de icterícia é definida classicamente como o aumento da concentração sanguínea de bilirrubina não conjugada, no entanto a concentração de bilirrubina conjugada também se encontra ligeiramente aumentada devido reabsorção. A presença e intensidade de icterícia hemolítica são definidas pela taxa e extensão da hemólise, e pela taxa de absorção de

bilirrubina pelo fígado (Barton, 2010; Pearson, 1999). Como causa de icterícia pré-hepática temos também o jejum prolongado (Pearson, 1999; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016).

Alterações na absorção e conjugação de bilirrubina resultam também no aumento dos níveis sanguíneos de bilirrubina não conjugada e subsequente icterícia. Esta forma de icterícia também é denominada por icterícia de retenção ou hepática, sendo a forma mais comum em cavalos com doença hepática, sendo normalmente resultado de doença hepatocelular aguda. Nos cavalos a presença de icterícia é altamente inconsistente na doença hepatocelular crónica. Na presença de função hepática normal, a absorção e conjugação de bilirrubina pelos hepatócitos pode estar impedida, não só em casos de doença hepatocelular, mas também devido a certas drogas, anorexia ou prematuridade. A administração de heparina em equinos por vezes resulta em icterícia, devendo-se este facto provavelmente à diminuição de absorção de bilirrubina pelos hepatócitos. A anorexia provoca graus variáveis de hiperbilirrubinémia em cavalos e podem estar relacionados com o tempo de semivida da ligandina. A ligandina é uma proteína intrahepática responsável por extrair a bilirrubina não conjugada da albumina no sangue sinusoidal. O tempo de semivida da ligandina é relativamente curto (dias) e a anorexia noutras espécies reduz a reserva de ligandina nos hepatócitos, impedindo assim a captação de bilirrubina. Os poldros prematuros e neonatos são mais susceptíveis a icterícia de retenção na ausência de doença hepática. A icterícia em neonatos equinos é provavelmente causada por concentrações hepatocelulares de ligandina inferiores comparativamente aos adultos. Foi descrito um caso de hiperbilirrubinémia persistente num cavalo castrado saudável de 4 anos, sem anorexia, hemólise ou evidência de doença hepática. Neste caso as concentrações de bilirrubina conjugada estavam dentro dos parâmetros normais, mas as concentrações séricas totais de bilirrubina variaram de 9,0 a 12,3 mg/dL durante o período de monitorização de 2,5 anos, sendo o caso mais parecido com a síndrome de *Gilbert* (Barton, 2010).

Quando a excreção de bilirrubina conjugada no trato biliar é impedida, ocorre icterícia por pós-hepática. A icterícia de pós-hepática resulta do bloqueio do fluxo biliar podendo ser provocada por colangite, hepatite, colelitíase obstrutiva, infiltração neoplásica e fibrose ou hiperplasia do trato biliar. A bilirrubina conjugada é hidrossolúvel, pelo que neste caso a icterícia pode ser acompanhada de bilirrubinúria (Barton, 2010).

Na doença hepatocelular, a icterícia é resultado do aumento combinado da bilirrubina conjugada e não conjugada, sendo o maior aumento na fração de bilirrubina não conjugada. No entanto, a bilirrubina conjugada é o indicador mais sensível de doença hepatocelular. Aumentos na bilirrubina conjugada superiores a 25% do total de bilirrubinas são indicativos de doença hepatocelular, sendo que quando são superiores a 30% são indicativos de colestase (Barton, 2010; Pearson, 1999).

Cerca de 10% dos equinos sem patologia hepática apresentam mucosas com tonalidade amarelada devido à digestão normal dos pigmentos carotenoides, podendo esta tonalidade ser confundida com icterícia (Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016).

### c) Perda de Peso

A perda de peso pode ser devida à insuficiência das funções metabólicas hepáticas, no entanto é mais comum devido a problemas dentários, nutrição inadequada, parasitismo ou doenças crônicas (tais como neoplasias, inflamação crônica ou falência de outros órgãos) (Pearson, 1999).

Em caso de doença hepática a perda de peso significativa e a falha no ganho de peso ocorrem mais consistentemente em casos de insuficiência hepática crônica, devendo-se essa perda de peso sobretudo à anorexia e à perda das atividades metabólicas hepatocelulares normais. A doença hepática crônica pode estar presente sem a perda aparente de peso (Barton, 2010).

### d) Fotossensibilização Hepatogénica

A fotossensibilização é a reatividade aumentada da pele à luz solar ultravioleta de forma anómala, devido ao aumento da concentração sanguínea de um agente fotodinâmico. Na fotossensibilização hepatogénica o agente fotodinâmico é a filoteritina. A filoteritina é normalmente formada no trato gastrointestinal como resultado da degradação da clorofila por parte da flora bacteriana, sendo absorvida para a circulação geral, conjugada e excretada pelo fígado. A insuficiência hepática provoca aumento das concentrações sanguíneas de filoteritina, que com a subsequente exposição à radiação ultravioleta provoca ativação dos eletrões conduzindo as moléculas a estados excitados, levando à formação de radicais livres. A produção local de radicais livres causa danos nas membranas celulares, sendo as áreas não pigmentadas as que absorvem mais eficazmente a radiação ultravioleta e, por isso, onde se localizam as lesões de fotossensibilização. Inicialmente a pele apresenta eritema e edema, evoluindo para prurido, dor, descamação, vesiculação, ulceração e necrose (Barton, 2010).

### e) Cólica

A dor abdominal associada a doença hepatocelular aguda pode resultar de edema hepático agudo ou de obstrução biliar (colelitíase). Os principais sinais de dor no abdómen cranial são anorexia, bruxismo, sentar como os cães, decúbito e cifose. A palpação junto às últimas costelas, sobretudo no lado direito, ou imediatamente caudal à última costela pode resultar numa resposta dolorosa. Alterações da motilidade intestinal podem causar sinais de cólica na presença de doença hepática (Barton, 2010).

## f) Diátese Hemorrágica

O fígado é responsável pela síntese de inúmeros fatores envolvidos na coagulação e fibrinólise, pelo que alterações hemostáticas podem ocorrer como sequela de insuficiência hepática. Os sinais clínicos podem variar de petéquias ou equimoses, a hemorragias após traumatismos ou punções venosas, ou até hemorragias espontâneas (epistáxis, melena, hemoptise, hematúria ou hematomas). A síntese de fibrinogénio e de fatores dependentes de vitamina K (II, VII, IX, X e proteína C) são especialmente sensíveis à doença hepática. Estes fatores possuem tempos de semivida curtos, sendo o tempo de semivida do fator VII de apenas 4-5 horas e, o de outros fatores dependentes da vitamina K e do fibrinogénio na ordem dos 4-5 dias. A vitamina K é lipossolúvel, dependendo da excreção de ácidos biliares para a sua correta absorção no trato gastrointestinal, pelo que os fatores dependentes de vitamina K são particularmente afetados quando ocorre insuficiência hepática com diminuição de excreção biliar (Barton, 2010).

A síntese de proteína C e de antitrombina III podem ficar alteradas durante a insuficiência hepática, sendo que a diminuição plasmática destes dois agentes anticoagulantes resulta na formação não controlada de coágulos e consumo de outros fatores de coagulação. Na doença hepática crónica, a concentração plasmática de proteína C está normal ou diminuída, contudo a antitrombina III pode apresentar-se em concentrações normais, aumentadas ou diminuídas. As mulheres grávidas com esteatose possuem diminuição da atividade de antitrombina III, mas pacientes com cirrose ou obstrução biliar possuem aumento da atividade de antitrombina III. Os cavalos com doença hepática têm aumento da atividade de antitrombina III e teoricamente tendem a sangrar. Alterações nos fatores que controlam a fibrinólise variam na doença hepática crónica, sucedendo que condições que promovam a fibrinólise, tais como o aumento do plasminogénio e seu fator de coagulação resultam em tendências para hemorragia. As condições que favorecem a formação de trombos, tal como a diminuição de plasminogénio, promovem ainda mais a coagulopatia de consumo. Os fatores fibrinolíticos não foram avaliados em cavalos com doença hepática (Barton, 2010).

O fígado desempenha um importante papel equilibrando a normal hemostase, através das células de Kupffer na remoção de fatores de coagulação ativados e produtos de degradação do fibrinogénio da circulação geral. A falha de remoção dos fatores de coagulação ativados promove a coagulação, e a falha de remoção de produtos de degradação do fibrinogénio interfere na função plaquetária e na formação de coágulos de fibrina (Barton, 2010).

### g) Febre

Os cavalos que possuam abscessos hepáticos, hepatite aguda, hepatite crônica ativa, colelitíase obstrutiva, esteatose ou neoplasia podem apresentar febre persistente ou intermitente (Barton, 2010).

### h) Hemólise

A hemólise em cavalos é raramente observada, mas é um indicador de prognóstico severo de insuficiência hepática fulminante. A causa exata de hemólise não é conhecida, no entanto acredita-se que resulte do aumento da fragilidade eritrocitária (Barton, 2010).

### i) Prurido e Seborreia

O prurido e a seborreia são raramente reportados em cavalos, resultando na retenção e acumulação de ácidos biliares na pele (Barton, 2010).

### j) Edema

Na insuficiência hepática crônica pode ocorrer hipoalbuminemia e retenção de água, resultando assim em edemas. Nos cavalos o tempo de semivida da albumina é longo (cerca de 19-20 dias), pelo que o edema é um sinal clínico que ocorre poucas vezes. Pode ocorrer edema abdominal por hipertensão portal e ascites significativas, ou no caso de pôneis com hiperlipemia como resultado de trombose vascular (Barton, 2010).

### k) Endotoxemia

As células de Kupffer desempenham um papel fundamental na remoção das endotoxinas bacterianas, absorvidas no lúmen do trato intestinal e conduzidas ao fígado através da circulação portal, sendo que quando ocorre falha no mecanismo fagocitário das células de Kupffer resulta no aparecimento de evidências clínicas e laboratoriais de endotoxemia (Barton, 2010).

### l) Polidipsia, Poliúria e Síndrome Hepatorenal

Doenças hepáticas graves podem ser acompanhadas de alterações da função renal, incluindo perturbações nas concentrações de sódio, diminuição da excreção de água e na capacidade de concentração da urina. A retenção de sódio resulta do aumento da concentração sanguínea de aldosterona, devido à falha na biotransformação hepática e à diminuição do volume sanguíneo circulatório efetivo como resultado de hipertensão portal e hipoalbuminemia. A retenção de sódio aumenta a osmolaridade do fluido extracelular, estimulando assim o centro da sede, o que conduz a polidipsia. A polidipsia foi descrita em cavalos com doença hepática crônica.

Apesar do aumento potencial de sódio permutável, as concentrações séricas de sódio estão habitualmente normais ou diminuídas, como resultado da sobreposição da retenção de água. O mecanismo de retenção de água é multifatorial, sendo as causas mais provavelmente envolvidas: o aumento da hormona antidiurética, a diminuição do volume circulatório efetivo e a alteração da síntese renal de prostaglandinas. Por vezes a capacidade de concentração de urina encontra-se prejudicada devido à diminuição da ureia intersticial medular, provocando poliúria e/ou isostenúria (Barton, 2010).

A síndrome hepatorenal é caracterizada por azotémia aguda e anúria, podendo ocorrer em póneis com hiperlipémia e lipidose hepática. A patogénese desta síndrome não é completamente conhecida, mas pensa-se ser causada pela: diminuição do volume de circulação efetiva, diminuição da inativação de renina por parte do fígado e endotoxémia (Barton, 2010).

#### 4) Exames Laboratoriais

A realização de exames bioquímicos é fundamental para o diagnóstico de doença ou insuficiência hepática, sendo também muito úteis para as considerações terapêuticas (Barton, 2010; Divers, 2015b). Numa perspectiva clínica, os resultados bioquímicos podem ser úteis no diagnóstico diferencial de doenças hepáticas, sendo que quando avaliados atempadamente podem ser indicadores de prognóstico (tabela 2) (Divers, 2015b). Existem vários indicadores laboratoriais de disfunção hepática, mas muitos são inespecíficos e nem sempre apresentam alteração no decurso da doença (Pearson, 1999). Para se efetuar um diagnóstico de insuficiência hepática é fundamental conhecer a sensibilidade e especificidade dos testes, sendo que como as diversas funções hepáticas não são afetadas da mesma forma nas doenças hepáticas, também alguns testes laboratoriais podem não apresentar alterações mesmo na presença de patologia, pelo que quantos mais valores alterados ou quanto maior a magnitude da alteração mais fácil o diagnóstico de patologia hepática (Barton, 2010).

A evidência laboratorial de doença hepática pode ser inferida através do aumento serológico das enzimas derivadas do fígado, sendo a disfunção hepática observada pelos aumentos serológicos das bilirrubinas (direta e indireta) e dos ácidos biliares (Divers, 2015a). Aumentos da síntese e libertação na circulação de ácidos biliares e bilirrubinas são geralmente representativos de comprometimento do fluxo biliar (colestase), sendo que se a causa for aguda ou severa ocorrem aumentos de sorbitol desidrogenase (SDH), glutamato desidrogenase (GLDH) e aspartato aminotransferase (AST) e, no caso de causas crónicas ou difusas ocorrem aumentos de gamma glutamiltransferase (GGT) e/ou fosfatase alcalina sérica (FAS). O aumento dos ácidos biliares normalmente precede o aumento das bilirrubinas (Meyer & Walton, 2013).

Os achados laboratoriais mais comuns de insuficiência hepática incluem também o prolongamento de tempo de protrombina (PT) e de tromboplastina parcial (PTT), aumento do lactato sanguíneo, aumento das globulinas, diminuição da albumina e diminuição de BUN (mais comum em casos de fibrose hepática prolongada) (Divers, 2015a).

Os testes bioquímicos podem também ser usados para identificar exposições a hepatotoxinas subclínicas, tais como as observadas na toxicidade ao alcalóide de pirrolizidina ou doença hepática induzida por drogas (Divers, 2015b).

### a) Bilirrubinas

As bilirrubinas são principalmente subprodutos do metabolismo da hemoglobina, mas também de outros compostos que possuam na sua constituição porfirina (tais como: mioglobina, citocromo P 450, peroxidase e catalase). Os eritrócitos em senescência são, em condições normais, fagocitados pelo sistema mononuclear fagocítico a uma taxa constante, no entanto, em caso de doenças hemolíticas a percentagem de destruição encontra-se aumentada. Através da fagocitose, que ocorre principalmente no fígado, baço e medula óssea, os eritrócitos são destruídos e a hemoglobina é metabolizada, sendo a porção da globina convertida em aminoácidos e a porção heme convertida em ferro e protoporfirina. A protoporfirina é convertida em biliverdina, sendo em seguida transformada em bilirrubina lipossolúvel (não conjugada) (figura 9). A bilirrubina lipossolúvel é transportada para o fígado por proteínas transportadoras: albuminas e globulinas (Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). A bilirrubina não conjugada ou indireta é transportada principalmente pela albumina para recetores nos hepatócitos, que a internalizam e convertem em bilirrubina conjugada (hidrossolúvel) (figura 9) (Meyer & Walton, 2013; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016; Pearson, 1999). A bilirrubina conjugada é secretada na bÍlis para o intestino delgado (Meyer & Walton, 2013).

A incapacidade do fígado em absorver, conjugar e excretar bilirrubina pode conduzir ao aumento das concentrações séricas de bilirrubinas conjugadas e/ou não conjugadas (Liphook Equine Hospital, 2012). A avaliação da concentração das bilirrubinas séricas não é um indicador sensível de doença hepática equina, pois segundo um estudo efetuado em cavalos com doença hepática, apenas ¼ dos animais apresentaram aumento da concentração das bilirrubinas séricas. A concentração de bilirrubinas totais no sangue é obtida através do teste de *Van Den Berg*, obtendo-se assim os valores conjuntos das bilirrubinas conjugadas e não conjugadas, devendo estas ser determinadas individualmente para avaliação diagnóstica de doença hepática consoante a fração aumentada (Barton, 2010).

Tabela 2 - Representação das alterações nos testes bioquímicos mais comuns na presença de doença hepática em Equinos, bem como a seu significado como indicador de patologia. Adaptado de: Barton, 2010 e Pearson, 1999.

Indicadores de Doença Hepática em Cavalos				
Testes	Pârametros fisiológicos	Alteração mais comum	Significado	
Indicadores Específicos de Doença Hepática	SDH	<8 U/L	Aumento	Específica para danos hepatocelulares. Pode não se manter elevada em doença hepática crónica.
	GGT	<30 U/L	Aumento	Indicador de colestase, doença pancreática ou hiperplasia biliar. Mantém-se elevada em doença hepática crónica e pós doença transitória. Sensível para doença hepática.
	Concentração de Ácidos Biliares	<15 µmol/L	Aumento	Sensível para insuficiência hepática (>30 µmol/L) e doença hepática severa (>20 µmol/L). Mantém-se elevada em doenças hepatocelulares, colestase e anastomoses portossistémicas.
	Arginase	Não avaliada	Aumento	Específica, elevada em lesão hepatocelular.
	GLDH	<3,5 U/L	Aumento	Específica, sensível e mais estável que SDH. Indicador de doença hepática aguda ou necrose hepática. Pode não se manter elevada em doença hepática crónica. Não disponível em muitos laboratórios.
	Bilirrubina Direta/conjugada	0-0,4 mg/dL (0-6,8 µmol/L)	Aumento	Mais sensível que a bilirrubina total para colestase e lesão hepatocitária. >25% indicativa de doença hepatocelular; >30% indicativo de colestase.
	Amónia	< 90 µmol/L Depende do laboratório	Aumento	Sensível de doença hepática, mas não específica. Aumentos em doença hepatocelular e EH.
	Tempo de Semivida de BSP	<3,5 minutos	Prolongado	Compete com a bilirrubina pelo que aumenta em casos de icterícia. Teste de função de excreção bom para distinguir EH de outras encefalopatias.
	Ratio BcAA/AAA	3,5-4,5	Diminui	Indicador de insuficiência hepática.
	Bilirrubina Urinária		Aumento	Indicadora de colestase .
Indicadores Não Específicos de Doença Hepática	Bilirrubina Total	0,2-5,0 mg/dL	Aumento	Inconsistente, também elevada em anorexia, colestase e hemólise. Pouco sensível para doença hepática. Indicadora de insuficiência hepática.
	Bilirrubina Indireta/não conjugada		Aumento	Teste sensível mas não específico. Indicador de doença hepatocelular aguda. Também aumentado em casos de anorexia, colestase e hemólise.
	LDH	162-412 U/L	Aumento	Na maioria dos tecidos. Associada a doença hepatocelular aguda. Pode não se manter elevada em doença hepática crónica.
	AST	98-278 U/L	Aumento	Falsos aumentos em hemólise e lipémia. Elevada em lesão hepatocelular. 100% sensível para lipidose hepática e 72% para necrose hepática aguda.
	ALT	3-25 U/L Não avaliada	Aumento	Em níveis baixos no fígado dos herbívoros. Pouco sensível.
	ALP/FAS	<250 U/L	Aumento	Também no osso, placenta, macrófagos e intestino. Mantém-se elevada em doença hepática crónica. Indicador de lesões hepáticas ou colestase.
	BUN	8 – 27 mg/dL	Diminui	Indicador de doença hepatocelular crónica. Mais comum em casos de fibrose prolongada.
	Globulinas	≤36 g/L	Aumento	Teste inespecífico para doença hepática crónica. Indicadora de insuficiência hepática.
	Albumina	≥28 g/L	Diminui	Inespecífica. Melhor indicador de doença hepática crónica que aguda. Alterações em estados terminais.
	Glucose	72 – 114 mg/dL	Diminui	Associada em poldros a insuficiência hepática. Indicador de doença hepática crónica ou insuficiência hepática maciça aguda. Alterações raras em adultos.

A concentração de bilirrubinas séricas mantêm-se estável durante alguns dias, desde que a amostra esteja protegida da luz solar. A concentração total de bilirrubinas séricas é primeiramente determinada através de um ensaio cromogénico através da reação por 30 minutos com ácido sulfanílico, nitrito de sódio e álcool metílico. A bilirrubina conjugada, também denominada de bilirrubina de reação direta, é determinada de forma similar ao fim de 5 minutos, no entanto sem a adição do álcool metílico. A quantificação de bilirrubina não conjugada, também denominada de indireta, obtém-se de forma aritmética pela diferença entre as bilirrubinas totais e a bilirrubina direta. A concentração de bilirrubina total deve variar entre 0,2 a 5,0 mg/dL, devendo a bilirrubina conjugada apresentar valores até 0,4 mg/dL (Barton, 2010).

Aumentos da fração de bilirrubina não conjugada são sensíveis como teste de patologia hepática, no entanto não é um teste específico, pois também pode ocorrer em casos de hemólise, jejum, obstrução intestinal, insuficiência cardíaca, síndrome de Gilbert, algumas medicações (tais como esteróides, heparina e halotano) e em cavalos aparentemente saudáveis (presumivelmente por deficiência congénita em glucoronil transferase) (Barton, 2010; Divers, 2015b; Liphook Equine Hospital, 2012; Pearson, 1999). O jejum é associado a aumentos moderados a marcados das bilirrubinas totais, devido ao aumento da fração não conjugada (2 a 3 vezes o normal), devendo-se este aumento à competição pelos recetores de bilirrubinas não conjugada por parte dos ácidos gordos livres e outros constituintes metabólicos que se encontram aumentados (Meyer & Walton, 2013; Pearson, 1999). A bilirrubina não conjugada não é hidrossolúvel, pelo que normalmente não passa para a urina (Divers, 2015b). Se a concentração bilirrubina não conjugada estiver aumentada, deve avaliar-se o eritrão de modo a excluir a hemólise dos fatores causais para este evento. Quando ocorre hemólise a concentração de bilirrubina não conjugada pode estar aumentada até aos 80 mg/dL (1368  $\mu\text{mol/L}$ ). A anorexia completa pode causar um aumento de bilirrubina não conjugada a partir de 12 horas, mas esses aumentos normalmente não ultrapassam os 6 a 8 mg/dL se os animais apenas sofrerem de anorexia, contudo já foram descritos aumentos até cerca de 10,5 mg/dL em casos de cavalos anoréticos. A utilização de medicações e a idade do cavalo também devem ser tidas em conta, pois os neonatos apresentam maior concentração de bilirrubina não conjugada que os adultos, pensando este facto dever-se à passagem de hemoglobina fetal para hemoglobina adulta, em conjugação com a deficiência do fígado em enzimas de ligação e conjugação. Nos cavalos os aumentos de bilirrubina não conjugada com doença hepática ocorrem mais provavelmente em doença hepatocelular aguda, sendo que nesse caso o aumento raramente excede os 25 mg/dL (427,5  $\mu\text{mol/L}$ ). O aumento de concentração de bilirrubina pode ser indicativo de doença hepática, mas não necessariamente de insuficiência hepática. A bilirrubina pode estar dentro de valores normais, tal como ocorre normalmente na doença hepática crónica, não impedindo necessariamente o diagnóstico de insuficiência hepática (Barton, 2010).

O aumento de bilirrubina conjugada em cavalos é um indicador mais fiável de doença hepática, sendo que segundo Divers (2015), aumentos de mais de 0,2 mg/dL acima dos parâmetros considerados normais já é um marcador sensível de insuficiência hepática (Barton, 2010; Divers, 2015b). Segundo Barton (2010), se a porção de bilirrubina conjugada for superior a 25% do valor total de bilirrubinas deve suspeitar-se de doença hepatocelular, sendo que em aumentos superiores a 30% deve suspeitar-se de colestase, sendo que segundo Divers (2015), aumentos de bilirrubina conjugada iguais ou superiores a 25% de bilirrubinas totais são sugestivos de doença obstrutiva biliar pronunciada (Barton, 2010; Divers, 2015b; Liphook Equine Hospital, 2012; Pearson, 1999). Por vezes a concentração sérica de bilirrubina não conjugada pode estar aumentada em casos de poldros com sépsis neonatal e em cavalos com íleus intestinal, sem qualquer presença de mais evidências de disfunção hepática (Divers, 2015b). A bilirrubina conjugada é hidrossolúvel, sendo detetada na urina dos cavalos apenas quando as concentrações sanguíneas estejam suficientemente aumentadas para transpor o limite renal (Barton, 2010; Divers, 2015b). Quando em exames de urina estamos perante a presença de bilirrubina devemos suspeitar de doença colestática (Barton, 2010). Em raras ocasiões, cavalos saudáveis podem possuir deteção de bilirrubina na urina pelo método do teste por tiras de urina, sem esse facto estar ainda esclarecido (Divers, 2015b).

A presença de urobilinogénio pode ser detetada pelos testes por tira de urina, sendo a sua presença indicativa de um ducto biliar patente. O urobilinogénio é altamente instável, pelo que deve ser determinado em amostras frescas de urina. Urina diluída ou ácida pode interferir na determinação do urobilinogénio, não permitindo assim a determinação de valores precisos. O teste de tiras de urina não é sensível para determinar a ausência de urobilinogénio, pelo que nesse caso se deve utilizar o reagente de *Ehrlich*. A ausência de urobilinogénio não é indicativo necessariamente de doença hepática, podendo estar relacionado com falha de excreção da bilirrubina no intestino, obstrução biliar, falha na redução bacteriana a nível intestinal (por exemplo por diarreia ou uso excessivo de antimicrobianos orais) ou por falha da sua reabsorção no íleo. O aumento da concentração de urobilinogénio na urina pode dever-se ao aumento da sua produção por parte das bactérias intestinais, falha do fígado em removê-lo na circulação enterohepática, anastomose portossistémica ou derrame após hemólise severa (Barton, 2010).

## b) Concentração de Ácidos Biliares

Os ácidos biliares são produzidos no fígado a partir do colesterol, sendo conjugados e excretados na bília, formando depois micelas para absorção de gordura (Pearson, 1999). A circulação enterohepática remove normalmente cerca de 90% dos ácidos biliares, regularizando as concentrações de ácidos biliares circulantes (Barton, 2010; Meyer & Walton, 2013; Pearson, 1999). Os ácidos biliares são eficientemente removidos do intestino para a circulação portal,

sendo assim transportados para o fígado e eficientemente extraídos do sangue pela ligação a recetores nos hepatócitos. Nos hepatócitos os ácidos biliares são processados e ativamente excretados pela membrana canalicular para a biliar, sendo conduzidos para o lúmen intestinal, repetindo-se novamente o processo (Meyer & Walton, 2013). A concentração sanguínea de ácidos biliares pode estar aumentada na doença hepática, sendo a sua quantificação um bom indicador de insuficiência hepática, substituindo muitas das vezes a utilização de testes funcionais do fígado, tais como a depuração externa de corantes, como a bromossulfonaína (Barton, 2010; Pearson, 1999). O aumento da concentração de ácidos biliares séricos na maioria das vezes apenas é detetado em casos severos de doença hepática, sendo esta a sua principal limitação (Liphook Equine Hospital, 2012). Os ácidos biliares séricos são relativamente estáveis à temperatura ambiente, sendo estáveis durante mais de 1 mês se armazenados a  $-20^{\circ}\text{C}$  e, são medidos por radioimunoensaio ou por método colorimétrico enzimático (Barton, 2010; Pearson, 1999). Os principais ácidos biliares séricos são o ácido ursodeoxicólico, ácido quenodesoxicólico e ácido desoxicólico, sendo a composição exata dos ácidos biliares séricos muito variável em cavalos saudáveis. O aumento dos ácidos biliares séricos é altamente específico para a presença de doença hepática (aumenta passadas 24 a 48 horas após início de doença hepática), mas não é específico para o tipo de doença hepática (Barton, 2010). Os aumentos circulatórios de ácidos biliares ocorrem antes dos aumentos das bilirrubinas totais durante as doenças hepáticas, não sendo ao contrário das bilirrubinas afetados pelo jejum de curta duração (menor que 14 horas), no entanto podem estar alterados em casos de jejum mais prolongado (Barton, 2010; Meyer & Walton, 2013). Não se verificam aumentos pós-prandiais devido à inexistência de vesícula biliar (Meyer & Walton, 2013). Devido aos ácidos biliares estarem em 90% restritos à circulação enterohepática, os seus aumentos sanguíneos podem dever-se à presença de anastomoses, diminuição do fluxo sanguíneo hepático (efeito de primeira passagem), falha de remoção de ácidos biliares da circulação enterohepática por parte do fígado, falha dos hepatócitos em conjugarem os ácidos biliares para a sua excreção, ou falha de excreção dos ácidos biliares com consequente envio para a corrente sanguínea (obstrução biliar). Aumentos dos ácidos biliares primários (não degradados), ácido cólico e quenodesoxicólico, representam a maior parte do aumento dos ácidos biliares séricos em cavalos com doença hepática. Em relação ao grau de doença hepática, ocorre uma mudança significativa na composição sérica de ácidos biliares, de taurocolato para ácido cólico livre não conjugado, sugerindo assim a excreção hepatocelular e não a reabsorção, sendo este o passo mais sensível da circulação enterohepática (Barton, 2010).

O jejum prolongado por mais de 2 ou 3 dias em cavalos adultos é por si só causador do aumento da concentração dos ácidos biliares séricos para o triplo dos seus valores basais (até  $20\text{--}30\ \mu\text{mol/L}$ ) (Barton, 2010; Divers, 2015b; Liphook Equine Hospital, 2012). Pacientes com hepatopatia com concentrações séricas de ácidos biliares superiores a  $20\ \mu\text{mol/L}$  têm menores probabilidades de sobrevivência que pacientes com concentrações mais baixas, sendo que casos

crônicos com concentrações acima dos 100  $\mu\text{mol/L}$  são geralmente fatais (Liphook Equine Hospital, 2012). A ligadura do ducto biliar causou em comparação com cavalos em jejum o aumento de 6 vezes a concentração dos ácidos biliares séricos, e a toxicidade de tetracloreto de carbono resultou no aumento de 3 vezes em comparação com os valores dos cavalos em jejum. As concentrações de ácidos biliares séricos superiores a 50  $\mu\text{mol/L}$  em cavalos com historial de toxicidade por pirrolizidina estão associadas a mau prognóstico. Concentrações de ácidos biliares séricos inferiores a 20  $\mu\text{mol/L}$  parecem ser um bom indicativo de ausência de doença hepática funcional significativa, pelo que devem ser incluídos na avaliação de cavalos com suspeita de doença hepática (Barton, 2010). Valores superiores a 20  $\mu\text{mol/L}$  parecem ser indicativos de doença hepática crónica, sendo menos eficazes na deteção de doença hepática aguda, sendo que valores superiores a 30  $\mu\text{mol/L}$  parecem ser bons indicadores precoces de insuficiência hepática. As concentrações dos ácidos biliares séricos tendem a ser comparativamente maiores em poldros durante as primeiras 6 semanas de vida que em cavalos adultos, podendo frequentemente exceder os 20  $\mu\text{mol/L}$ , pelo que este teste não deve ser utilizado de forma isolada como teste de função ou deteção de doença hepática em grupos de animais desta idade (Barton, 2010; Divers, 2015b; Meyer & Walton, 2013). Os aumentos mais significativos da concentração dos ácidos biliares séricos ocorrem nas doenças obstrutivas biliares e nas anastomoses portossistémicas, sendo que nestes últimos manifestam-se geralmente por encefalopatia hepática (Barton, 2010; Meyer & Walton, 2013). O aumento de ácidos biliares na presença de valores de enzimas hepáticas alterados é indicativo da realização de mais exames diagnósticos, tais como biópsias hepáticas (Meyer & Walton, 2013).

### c) Testes de Síntese Proteíca

A concentração sanguínea de proteínas ou aminoácidos estão relacionados não só com a sua taxa de síntese como também com o seu tempo de semivida em circulação (Barton, 2010). A hipoproteinémia e a hipoalbuminémia são considerados indicadores de doença ou falha hepática em diversas espécies, no entanto a hipoproteinémia (concentração sérica proteica inferior ao valor mínimo de referência, ou seja, <5,8 g/dL) não é comum em equídeos com doença hepática severa (Barton, 2010; Parraga, Carlson, & Thurmond, 1995). A produção de albumina ocorre exclusivamente nos hepatócitos (Meyer & Walton, 2013). O tempo de semivida da albumina é longo (19-20 dias), pelo que normalmente apenas são detetadas diminuições na sua concentração quando mais de 80% da massa hepática esteja afetada e por mais de 3 semanas (Barton, 2010; Divers, 2015b; Liphook Equine Hospital, 2012; Meyer & Walton, 2013; Pearson, 1999). A albumina sérica é inconsistente e apenas ligeiramente baixa em cerca de 18% dos casos crónicos e de 6 % dos casos agudos de doença ou insuficiência hepática severa em equinos, pelo que pode considerar-se que a hipoalbuminémia é mais comum em casos crónicos do que agudos (Divers,

2015b; Parraga, Carlson, & Thurmond, 1995). O fígado tem uma ótima reserva de albumina, pelo que a sua diminuição é geralmente um efeito terminal (Pearson, 1999). A hipoalbuminémia em casos de doença hepática crónica é, segundo Parraga *et al.* (1995), menos comum em equídeos (apenas em cerca de 18%) comparativamente com canídeos (cerca de 62%) (Parraga, Carlson, & Thurmond, 1995). A ocorrência de hipoalbuminémia é um achado inespecífico de doença hepática crónica, pois pode ocorrer também secundariamente a endoparasitismo, nefrose, má nutrição, má absorção, insuficiência circulatória e outras doenças crónicas (Barton, 2010; Pearson, 1999). A concentração sérica de albumina diminui como resposta compensatória ao aumento das concentrações de gama globulina que aumentam a pressão oncótica (Parraga, Carlson, & Thurmond, 1995).

Segundo Meyer & Walton (2013), cerca de metade dos cavalos com doença hepática aguda apresentam hiperproteinémia como consequência de hiperglobulinémia. A hiperglobulinémia possuiu elevado valor diagnóstico para a presença de doença hepática, possuindo sensibilidade intermédia (56%) e boa especificidade (80%). A hiperglobulinémia ocorre como resultado do aumento da síntese de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -globulinas (Meyer & Walton, 2013). A fração de globulina está habitualmente aumentada em insuficiência hepática (em cerca de 64% dos casos) devido à diminuição da massa celular de Kupffer. A perda de função celular de Kupffer pode resultar numa disseminação dos antígenos entéricos exógenos, provocando assim a resposta das células plasmáticas, resultando em gammopatia policlonal (Barton, 2010; Divers, 2015b). O aumento da fração de globulina é inespecífico de doença hepática crónica, pois a gammopatia policlonal pode ocorrer em diversas doenças crónicas. As  $\alpha$  e  $\beta$ -globulinas podem estar também aumentadas em doença hepática crónica (Barton, 2010).

A diminuição da concentração de albumina sérica associada ao aumento da concentração de globulina em doença hepática crónica pode conduzir a que os valores de proteína plasmática total ou de proteína sérica apareçam dentro dos parâmetros normais. A quantificação de cada fração de proteínas séricas torna-se assim fundamental para o diagnóstico de doença hepática crónica, devendo para isso serem determinadas de forma precisa por eletroforese proteica (Barton, 2010). A diminuição do ratio albumina-globulina tem sido descrito em muitos livros de apoio veterinário como um sinal patognomónico de hepatite crónica ativa ou de cirrose hepática (Meyer & Walton, 2013).

A concentração sanguínea de aminoácidos pode estar aumentada quando ocorre necrose hepatocelular aguda, no entanto também pode ocorrer o seu aumento no caso de catabolismo proteico por doença ou jejum, em resposta à insulina e glucagon (Barton, 2010). O aumento das proteínas totais não foi considerado na maioria dos casos como resultado de desidratação (Divers, 2015b). Na prática clínica, devido à incapacidade dos laboratórios, raramente se realiza o fracionamento dos aminoácidos sanguíneos e a determinação da relação de BcAA-AAA (fenilalanina-tirosina), no entanto são muito mais úteis que a avaliação separada de cada fração

(Barton, 2010; Pearson, 1999). Dimuições da relação BcAA-AAA indicam insuficiência hepática, sendo que o seu valor normal se situa entre 3,5 - 4,5, sendo o risco considerado baixo quando os valores se situam entre 3,0 - 3,5, médio entre 2,5 - 3,0 e alto quando é inferior a 2,5 (Barton, 2010).

O fígado é o principal responsável pela remoção de amónia da circulação sanguínea através da sua conversão em ureia para posterior excreção renal (Barton, 2010; Liphook Equine Hospital, 2012). A amónia é formada no intestino e transportada para o fígado através da circulação portal, onde é metabolizada nos hepatócitos através do ciclo da ureia (ciclo de *Krebs-Henseleit*). A perda de massa hepática devido a doença aguda e a presença de anastomoses portossistémicas permitem altas concentrações sanguíneas de amónia em circulação, podendo causar encefalopatia hepática (Meyer & Walton, 2013). A ocorrência de encefalopatia na presença de hiperamoniémia, mas na ausência de deteção de doença hepática já foi descrita em cavalos, sendo estes casos referidos como hiperamoniémia intestinal (Barton, 2010; Meyer & Walton, 2013). A hiperamoniémia intestinal pensa-se que tenha origem em doenças gastrointestinais que promovem o aumento da produção de amónia pelas bactérias gastrointestinais e o aumento da permeabilidade intestinal, sendo que neste caso a concentração de ácidos biliares se encontra dentro dos limites de referência (Meyer & Walton, 2013). Quando ocorre aumento da concentração de amónia no sangue ou diminuição da concentração de BUN (nitrogénio ureico sanguíneo) pode significar doença hepatocelular crónica (Barton, 2010; Divers, 2015b; Meyer & Walton, 2013). A diminuição de concentração de BUN está presumivelmente associada à falha do ciclo de ureia a nível hepático, tendo relevância no prognóstico (Divers, 2015b; Liphook Equine Hospital, 2012). Os níveis sanguíneos de amónia variam de modo amplo em cavalos saudáveis, sendo que essas flutuações podem dever-se à composição bacteriana gastrointestinal (bactérias geradoras de amónia e de ureia), ao armazenamento sanguíneo de amónia e manejo alimentar, tendo até influência a hora da colheita sanguínea (Barton, 2010; Hurcombe, 2007). A amónia sanguínea é relativamente instável, pelo que as amostras devem ser recolhidas num tubo de heparina e refrigeradas ou congeladas imediatamente (Hurcombe, 2007). As amostras sanguíneas em EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) podem ser refrigeradas até um período máximo de 6 horas sem aumento significativo do seu teor em amónia. O efeito do manejo alimentar pode ser avaliado pela colheita e avaliação de amostras a outros animais nas mesmas condições. O teste de desafio de amónia oral não está completamente avaliado em cavalos, no entanto sabe-se que a sua sensibilidade pode ser diminuída devido às bactérias entéricas (Barton, 2010). Os valores de amónia em cavalos saudáveis variam entre laboratórios, no entanto de um modo geral podem ser definidos como estando entre 13 a 108 µg/dL (7,63 a 63,42 µmol/L) (Barton, 2010; Hurcombe, 2007). Devido à instabilidade das concentrações de amónia, pode ser útil a colheita de várias amostras durante o período de 1 ou 2 dias (Hurcombe, 2007).

O aumento da amónia sanguínea está correlacionada com a presença de doença hepática e/ou encefalopatia hepática, no entanto não existe correlação entre a concentração de amónia sanguínea e a gravidade da doença hepática (Barton, 2010; Liphook Equine Hospital, 2012). A hiperamoniémia é um indicador sensível de doença hepática, no entanto não é um indicador específico (Barton, 2010). Os níveis sanguíneos de amónia estão geralmente acima dos valores considerados normais nos cavalos com EH, no entanto num número moderado de cavalos tal não ocorre (Divers, 2015a; Divers, 2015b). A hiperamoniémia pode ocorrer como distúrbio hereditário em poldros sendo, nesse caso fatal, devendo-se esse facto provavelmente a uma proteína mitocondrial responsável pela síntese anómala de ureia (Barton, 2010). As concentrações sanguíneas normais de amónia nos cavalos variam entre laboratórios, mas geralmente devem ser inferiores a 90  $\mu\text{mol/L}$ . Muitos casos de EH possuem valores sanguíneos de amónia de 100-200  $\mu\text{mol/L}$ , sendo que nalguns casos os valores podem até exceder os 200  $\mu\text{mol/L}$ , no entanto a maioria dos casos possui valores considerados normais mas elevados, na ordem dos 70-90  $\mu\text{mol/L}$ . Os valores de amónia resultantes de EH por insuficiência hepática tendem a ser inferiores aos causados por hiperamoniémia entérica primária, anastomoses portossistémicas e síndrome de hiperamoniémia do poldro Morgan, podendo nestes casos ser superiores a 300  $\mu\text{mol/L}$  (Divers, 2015b).

#### d) Testes de Metabolismo de Carboidratos/Hidratos de Carbono

O fígado é um dos vários órgãos responsáveis pela manutenção de concentrações normais de glucose na circulação sanguínea (Meyer & Walton, 2013). Segundo Barton (2010), alterações na concentração de glucose sanguínea são raras em cavalos com insuficiência hepática, no entanto Divers (2015) afirma que em poldros com insuficiência hepática ocorre frequentemente hipoglicémia, estando a glucose nos cavalos adultos mais frequentemente dentro dos parâmetros normais ou elevada, no entanto também pode estar diminuída (Barton, 2010; Divers, 2015a; Divers, 2015b; Liphook Equine Hospital, 2012; Meyer & Walton, 2013; Pearson, 1999). A hiperglicémia pode ocorrer associada à libertação de catecolaminas pelo stress e à libertação de glucocorticóides. A hipoglicémia (glucose inferior a 60 mg/dL ou 3,33mmol/L) pode ocorrer em insuficiência hepática maciça aguda, no entanto é mais provável de ocorrer em doença hepática crónica, à medida que a anorexia progride, diminuindo assim as reservas de glicogénio e prejudicando a gluconeogénese e a glicólise pelo aumento das concentrações de glucagon (Barton, 2010; Pearson, 1999). A hipoglicémia é pouco comum em cavalos adultos com EH, mas comum nos poldros com EH (Divers, 2015b). Quando é administrada glucose, os seus níveis sanguíneos permanecem anormalmente elevados devido à resistência tecidual à insulina (Barton, 2010).

Na doença hepática crónica em humanos é reconhecido uma diminuição do número de receptores de insulina, bem como a sua diminuição de afinidade de ligação à insulina (Barton, 2010). As alterações na concentração de glicose sanguínea não são específicas para doenças hepáticas, pelo que devem ser avaliadas em conjunto com os outros parâmetros laboratoriais (Barton, 2010).

### e) Testes de Metabolismo Lipídico

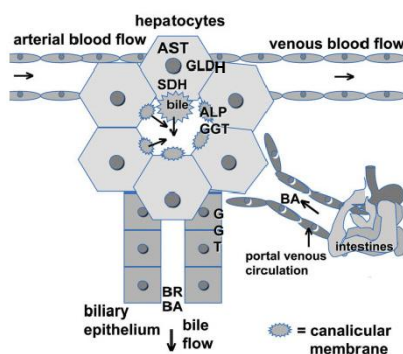
Durante a insuficiência hepática a concentração sanguínea de triglicéridos pode aumentar devido ao aumento da sua mobilização do tecido adiposo para produção de energia, no entanto o fígado tem a sua depuração diminuída. Comparando com outras espécies, acredita-se que os equídeos possuem uma maior capacidade de depuração dos triglicéridos e uma maior exportação hepática de VLDL, pelo que normalmente não são verificadas alterações sanguíneas de VLDL, colesterol esterificado ou das concentrações de triglicéridos. As concentrações de VLDL e de colesterol esterificado por sua vez podem ficar diminuídas devido à falha da sua síntese hepática. O aumento marcado dos níveis de triglicéridos sanguíneos é verificado como resultado de uma síndrome de hiperlipidémia em pôneis e cavalos miniatura (Barton, 2010). Em casos de balanço energético negativo ocorre aumento dos níveis séricos de triglicéridos, no entanto raramente é detetada lipídose hepática que origina insuficiência hepática, ocorrendo normalmente apenas em casos de lipémia (Divers, 2015b). Como doenças não hepáticas também podem alterar as concentrações lipídicas sanguíneas, então este teste não é nem muito sensível nem muito específico para doença hepática em cavalos (Barton, 2010). O colesterol é um componente das membranas celulares, sendo sintetizado no organismo e, no caso dos carnívoros também absorvido através da dieta. O excesso de colesterol é excretado na biliar, sendo excretado em parte como ácidos e sais biliares e, como colesterol inalterado que pode ser reabsorvido. Os sais biliares são necessários para a captação de colesterol a nível intestinal, quer por absorção através da dieta (não se aplica aos herbívoros), quer por reabsorção do colesterol libertado no intestino. Os níveis de colesterol nos herbívoros são geralmente baixos e os seus aumentos não são específicos, pelo que é um parâmetro de diagnóstico com pouca importância, ao contrário do que ocorre em clínica de pequenos animais (Kerr, 2008). Fisiologicamente as concentrações sanguíneas de colesterol e triglicéridos são habitualmente superiores em neonatos relativamente a cavalos adultos. A maior mobilização de triglicéridos e a oxidação de ácidos gordos pelo fígado pode conduzir ao aumento da produção de corpos cetónicos, acetoacetato e ácido  $\beta$ -hidroxibutírico. Os tecidos periféricos utilizam corpos cetónicos para obtenção de energia, no entanto estes são ácidos fracos e o aumento da sua concentração sanguínea pode resultar em cetoacidose. O mecanismo de formação de cetonas é pouco desenvolvido em cavalos, sendo a cetoacidose menos comum em cavalos que noutras espécies. Deve suspeitar-se de cetoacidose

em cavalos com acidose e com aumento do *Anion Gap*. As cetonas podem ser avaliadas tanto em amostras sanguíneas como de urina, sendo que o seu limiar renal é baixo, pelo que posteriormente a cetonemia ocorre cetonúria. As tiras de urina de rotina apenas detetam o acetoacetato (Barton, 2010).

## f) Enzimas hepáticas

Ao longo dos últimos anos têm sido utilizadas as concentrações de várias enzimas séricas para avaliação hepática, estando elas aumentadas em casos de dano hepatocelular, inflamação dos ductos biliares ou no bloqueio do fluxo biliar (Pearson, 1999). A necrose hepatocelular ou alterações da permeabilidade de membrana dos hepatócitos resultam na libertação das enzimas solúveis presentes no citosol para o sangue sinusoidal. Deste modo, o aumento da atividade sanguínea dessas enzimas do citosol pode significar a presença de uma doença hepática ativa, no entanto tem que se ter em atenção a avaliação destas enzimas, pois nem todas são específicas do fígado e algumas delas podem sofrer indução medicamentosa. A maioria destas enzimas é determinada por métodos colorimétricos, pelo que tanto a hemólise como a lipémia podem interferir na precisão das determinações (Barton, 2010). Pode ocorrer grande alteração dos valores enzimáticos devido à diferença de idade, estadios de doença hepática e metodologia laboratorial. As enzimas do citosol específicas do fígado e não alteráveis de modo iatrogénico nos cavalos são a sorbitol desidrogenase (SDH), a arginase (ARG), a ornitina carbamoiltransferase e a glutamato desidrogenase (GLDH) (figura 11) (Barton, 2010; Divers, 2015b). Aumentos sanguíneos destas enzimas são altamente específicos para doença hepatocelular, no entanto não são específicos para o tipo de doença. Aumentos ligeiros destas enzimas podem ocorrer após hipoxémia ou toxémia hepáticas resultantes de endotoxémia, septicémia, doença intestinal transitória, hipertermia ou administração de certos fármacos (tais com os benzimidazóis utilizados como antihelmínticos) (Barton, 2010).

Figura 11 - Representação esquemática da localização celular das enzimas hepatocelulares AST, SDH e GLDH, das enzimas hepatobiliares ALP/FAS e GGT, e das libertações biliares de bilirrubina e ácidos biliares. Adaptado de: Meyer & Walton, 2013.



Legenda: BA – Ácidos biliares; BR – Bilirrubinas.

A SDH tem sido utilizada em larga escala na avaliação de doença hepática aguda em equídeos (Barton, 2010). A SDH em cavalos encontra-se presente em elevadas concentrações no fígado e em baixas concentrações em outros tecidos, sendo mais específica para danos hepatocelulares que a AST ou GLDH (Meyer & Walton, 2013; Pearson, 1999). Esta enzima hepática possui um tempo de semivida curto (<12 horas) que a torna muito útil na determinação de resolução e progressão de lesão hepática, sendo que os seus valores voltam aos parâmetros normais após 3 a 5 dias de um insulto hepático transitório (figura 12) (Barton, 2010; Divers, 2015b; Meyer & Walton, 2013). O tempo de semivida curto requer rápida análise da colheita (horas), devendo o soro ser armazenado em congelação (-15°C) ou em refrigeração, resultando em perdas diárias de aproximadamente 1,0% e 3,5%, respectivamente, da concentração sorológica de SDH (Barton, 2010; Pearson, 1999). A estabilidade *in vitro* é muito menor que a de outras enzimas hepáticas, sendo esta uma limitação deste teste, devendo a amostra sanguínea ser analisada até 5 horas após a colheita se for armazenada à temperatura ambiente, ou até às 48 horas se congelada (Meyer & Walton, 2013; Pearson, 1999; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). A SDH é estável pelo menos durante 24 horas em amostras refrigeradas (Divers, 2015b). Existem variações ligeiras entre laboratórios, mas de um modo geral pode definir-se a concentração enzimática como sendo inferior a 8 U/L em cavalos sem patologia. Poldros com idades entre as 2 e as 4 semanas tendem a possuir valores de SDH ligeiramente superior aos adultos, sendo também relatados aumentos em cavalos anestesiados prolongadamente com halotano (Barton, 2010).

A enzima ARG é utilizada no ciclo de *Krebs-Henseleit*, responsável pela síntese de ureia. Esta enzima encontra-se localizada principalmente nos hepatócitos, embora exista também em pequenas quantidades no tecido renal, cérebro, pele, testículos e eritrócitos. Aumentos de ARG são mais indicativos de necrose hepática aguda, sendo que possui um curto tempo de semivida, tal como a SDH (Barton, 2010).

A enzima GLDH encontra-se sobretudo nas mitocôndrias a nível hepático, no entanto também se situa em tecido renal, cérebro, músculos e células intestinais (Barton, 2010; Divers, 2015b). A GLDH sérica é derivada inteiramente do fígado, no entanto a sua especificidade para doença hepática é apenas moderada, provavelmente devido a insultos hepáticos muito suaves e inócuos, que provocam aumentos das concentrações séricas de GLDH (Liphook Equine Hospital, 2012). Aumentos sanguíneos desta enzima são considerados específicos para doença hepática aguda, resultante de necrose dos hepatócitos (lesões celulares irreversíveis) (Barton, 2010; Divers, 2015b; Meyer & Walton, 2013; Pearson, 1999). Elevações de GLDH possuem como sensibilidade de deteção 78% em caso de necrose hepática e 86% em casos de lipidose hepática, possuindo 63% de sensibilidade no diagnóstico de doença hepática em cavalos adultos (Divers, 2015b; Meyer & Walton, 2013). GLDH é considerada mais estável e com um tempo de semivida mais longo que a SDH, sendo o seu tempo de semivida de cerca de 14 horas, pelo que pode ser

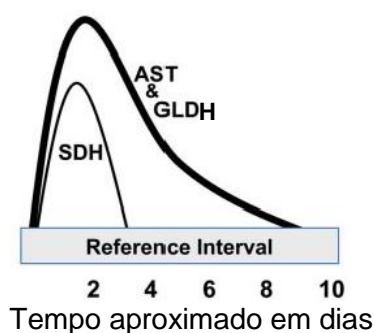
estabelecida uma associação entre os níveis sanguíneos de GLDH e o grau de insulto hepático ativo (figura 12) (Barton, 2010; Divers, 2015b; Liphook Equine Hospital, 2012).

Existem outras enzimas citosólicas, tais como a aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAS/ALP), lactato desidrogenase (LDH), alanina aminotransferase (ALT) e isocitrato desidrogenase (ICD), no entanto estas encontram-se em elevadas quantidades noutros tecidos ou são indutíveis farmacologicamente (Barton, 2010; Divers, 2015b). Destas enzimas as mais frequentemente analisadas são a AST e a FAS, sendo a nível hepático associadas respetivamente a lesões hepatocelulares e a lesões biliares (Divers, 2015b). Por este facto, aumentos destas enzimas não são específicos para doenças hepáticas em cavalos, no entanto muitas vezes integram os perfis bioquímicos dos equídeos e podem servir como indicador bruto de doença hepática, contudo devem reconhecer-se as limitações da sua utilidade (Barton, 2010).

A AST, denominada anteriormente como transaminase oxaloacética glutâmica (GOT), é uma enzima citosólica e mitocondrial que é responsável pela biossíntese de aspartato a partir de carboidratos (Barton, 2010; Meyer & Walton, 2013). Existem dois tipos de isoenzimas determinadas por eletroforese consoante a sua localização, sendo a MAST apenas localizada a nível mitocondrial e a CAST localizada no citoplasma ou sarcoplasma, no entanto no cavalo parece não existir especificidade tecidual no ratio entre estas duas isoenzimas (Barton, 2010). Basicamente todas as células possuem AST, no entanto esta encontra-se em maior concentração no músculo esquelético e no fígado (Barton, 2010; Liphook Equine Hospital, 2012; Pearson, 1999). Outras células que também possuem AST são as do músculo cardíaco, os eritrócitos, as células intestinais e do rim. Aumentos de AST são mais frequentemente associados a danos musculares, mas também são observados em caso de necrose hepática aguda, no entanto em casos de hemólise ou lipémia este valor pode estar falsamente elevado (Barton, 2010; Meyer & Walton, 2013). A AST tem especificidade baixa para doença hepática, mas na maioria dos casos de patologia hepática encontra-se aumentada (Liphook Equine Hospital, 2012). Na doença hepática crónica muitas vezes é observado que a AST está dentro dos parâmetros considerados normais. O tempo de semivida de AST é longo (7 a 10 dias), pelo que pode demorar mais de duas semanas para que os valores sanguíneos diminuam após doença hepática aguda (figura 12) (Barton, 2010). O valor de AST pode ser muito útil quando analisada em conjunto com enzimas teciduais específicas, por exemplo se uma enzima específica de músculo, tal como a creatina quinase (CK), estiver também aumentada, então o aumento de AST provavelmente terá origem muscular (Barton, 2010; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). O tempo de semivida de CK (cerca de 2 horas) é inferior ao tempo de semivida de AST, por isso, mesmo em casos de lesão muscular é possível encontrar-se aumento de concentração de AST sem se verificar aumento de CK (Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). Para avaliação de doença hepática em curso pode ser muito útil avaliarem-se os valores de AST e SDH em série, pois após ambos os valores estarem aumentados, se SDH voltar para os parâmetros considerados normais ou decrescer e

AST se mantiver aumentado numa avaliação posterior, então o prognóstico é favorável, pois a necrose hepática muito provavelmente está a diminuir. A atividade sérica de AST considerada normal situa-se entre 98 e 278 U/L (Barton, 2010). Aumentos dos valores séricos de AST, SDH e GLDH são esperados até em lesões ligeiras nos hepatócitos (Divers, 2015b). A sensibilidade de AST em diagnóstico de lipidose hepática em cavalos é de 100% e de 72% para necrose hepática (Meyer & Walton, 2013).

Figura 12 - Representação esquemática das variações plasmáticas das enzimas SDH, AST e GLDH após lesão hepática severa com recuperação, sendo o tempo representado em dias. Adaptado de: Meyer & Walton, 2013.



Nota: Variações plasmáticas como a representada dizem respeito a lesões hepáticas severas com recuperação, sendo que aumentos persistentes por várias semanas, especialmente se acompanhados por aumento das enzimas hepatobiliares, é sugestivo de patologia hepática persistente ou progressiva (crónica).

A enzima ICD possui uma distribuição semelhante à AST (Barton, 2010).

A enzima ALT é responsável pela síntese de alanina através de carboidratos, devendo-se os seus aumentos sanguíneos a doença hepática aguda, miosite, hemólise (valores falsamente aumentados) e a glucocorticóides (aumento da sua produção e libertação). Esta enzima não é útil para avaliação de doença hepática em cavalos (Barton, 2010).

A enzima FAS/ALP encontra-se presente em vários tecidos mas a sua atividade sérica não se relaciona necessariamente com as concentrações teciduais (Meyer & Walton, 2013). Nos hepatócitos a maioria da FAS encontra-se ligada às superfícies membranares dos canalículos biliares. Em situações de animais saudáveis, a FAS sérica é originada primariamente pelo fígado e ossos, pelo que são encontrados valores superiores em animais em crescimento. Em cavalos adultos, cerca de 80% da FAS sérica é de origem hepática (hepatócitos) e 20% é de origem óssea (osteoblastos) (Meyer & Walton, 2013; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). A FAS catalisa a hidrólise de ésteres monofosfatados, sendo que esta enzima está ligada à membrana mitocondrial, pelo que necrose ou alterações na permeabilidade da membrana celular não significam o seu aumento sérico. A produção e libertação de FAS são induzidas pela colestase e por certos fármacos, tais como glucocorticóides, fenobarbital e primidona (Barton, 2010). A colestase é a causa mais comum para o aumento das concentrações sanguíneas de FAS,

induzindo a sua síntese e concentração na membrana basolateral do hepatócito, sendo posteriormente libertada no sangue e linfa (Meyer & Walton, 2013). O valor de FAS aumenta mais provavelmente associado a doenças hepáticas crônicas ou colestáticas, do que a doença hepática aguda ou hepatocelular, pelo que é um indicador sensível de colestase e mantém-se elevada até tarde na doença (Barton, 2010; Pearson, 1999). A FAS está presente em tecidos como os ossos, intestino, rim, placenta e leucócitos, pelo que os seus aumentos não são necessariamente significativos de colestase (Barton, 2010; Liphook Equine Hospital, 2012; Pearson, 1999). Segundo Barton (2010), os poldros possuem valores de FAS duas a três vezes superiores aos cavalos adultos, devido ao aumento da atividade osteoblástica, no entanto segundo Meyer et al. (2013), esse valor pode ser até 100 vezes o valor dos adultos (Barton, 2010; Meyer & Walton, 2013). Aumentos de FAS também ocorrem na gravidez, hemólise e doença gastrointestinal (Barton, 2010). As maiores concentrações séricas de FAS estão associadas a colangite, cirrose biliar ou obstrução do ducto biliar extrahepático (Meyer & Walton, 2013).

A enzima LDH é constituída por 5 isoenzimas principais, localizadas no fígado, tecido muscular, eritrócitos, células intestinais e tecido renal. As isoenzimas de LDH podem ser identificadas de LDH<sub>1</sub> a LDH<sub>5</sub>, mas também podem ser denominadas face a duas subunidades: M – músculo e H – coração, correspondendo nesse caso a LDH<sub>1</sub> a H<sub>4</sub>, LDH<sub>2</sub> a MH<sub>3</sub>, LDH<sub>3</sub> a M<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, LDH<sub>4</sub> a M<sub>3</sub>H e LDH<sub>5</sub> a M<sub>4</sub>. O fígado possui principalmente LDH<sub>3</sub>, mas também LDH<sub>4</sub> e LDH<sub>5</sub>. Aumentos de LDH apenas são específicos de fígado se a isoenzima for determinada, neste caso a isoenzima 5 (LDH<sub>5</sub>). A LDH<sub>5</sub> é um bom indicador de doença hepatocelular aguda nos cavalos, sendo que os seus valores regressam aos valores base cerca de 4 dias após insulto hepático transitório. A LDH<sub>5</sub> também está presente no músculo, pelo que indica doença hepática se outros indicadores de dano muscular estiverem dentro dos valores considerados normais (tais como a CK). A LDH<sub>5</sub> mantém-se estável à temperatura ambiente por 36 horas (Barton, 2010).

A enzima GGT ( $\gamma$ -glutamyltransferase) está envolvida no metabolismo da glutatona e na transferência de grupos glutamilo, estando esta enzima principalmente associada a membranas do epitélio biliar, sendo considerada um excelente teste para doença hepática no cavalo (Barton, 2010; Divers, 2015b; Meyer & Walton, 2013). A maioria da atividade sérica de GGT é originada no fígado, embora também se encontre em elevadas concentrações nos rins, intestino, úbere e pâncreas (Meyer & Walton, 2013; Pearson, 1999; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). Aumentos sanguíneos de GGT podem dever-se a colestase (pela indução da sua produção e libertação) ou a doença pancreática, no entanto a doença pancreática é rara em cavalos, pelo que esta enzima é considerada específica para doença hepática em cavalos. As células tubulares renais também possuem GGT, no entanto esta é libertada diretamente na urina (Barton, 2010; Pearson, 1999). Muitos clínicos consideram que o teste de GGT é o de maior sensibilidade para avaliação de cavalos com evidência de doença hepática, pois é raro um cavalo com doença hepática grave não ter níveis aumentados no soro ou plasma, sendo o seu tempo de semivida de

cerca de 3 dias (Barton, 2010; Divers, 2015b; Meyer & Walton, 2013). A GGT é mais sensível que a FAS no diagnóstico de doenças colestáticas, pois nessas condições aumenta 9 vezes a sua concentração, enquanto que a FAS apenas aumenta 2 vezes (Meyer & Walton, 2013). A GGT mantém-se estável por 2 dias à temperatura ambiente ou durante 30 dias em congelação. Após necrose tubular aguda podem ocorrer aumentos ligeiros de GGT, podendo esses aumentos verificar-se por 1 a 2 semanas, mesmo com melhoria dos sinais clínicos (Barton, 2010). Frequentemente verificam-se aumentos de GGT por vários dias mesmo após ausência do insulto hepático, devendo-se provavelmente esse facto a hiperplasia biliar (Divers, 2015b). Aumentos de GGT são mais persistentes em doença hepática crónica, sobretudo em colestase, no entanto também ocorre libertação de GGT para o plasma em lesões hepatocelulares (Barton, 2010; Divers, 2015b; Meyer & Walton, 2013). Poldros com idades compreendidas entre as 2 e as 4 semanas tendem a possuir valores de GGT superiores a cavalos adultos, devendo-se essas variações ao grau e extensão da maturação hepática, no entanto não existem variações nas concentrações pré e pós-amamentação (Barton, 2010; Liphook Equine Hospital, 2012; Meyer & Walton, 2013). Os parâmetros normais de GGT em cavalos adultos situam-se a baixo de 30 U/L, no entanto podem ser superiores em cavalos de corrida, asinos e muares. Nos casos de fibrose hepática crónica não ativa e de doença hepática focal os aumentos de GGT podem não ser significativos. Foram descritos aumentos de GGT associados a colestase secundária a deslocamento de cólon dorsal direito (Barton, 2010; Liphook Equine Hospital, 2012). Aumentos ligeiros a moderados de GGT (por exemplo até 100 U/L) têm valor diagnóstico e prognóstico limitado, no entanto aumentos superiores a 400 U/L estão associados a mau prognóstico. De modo geral, na presença de hepatopatia significativa também ocorre aumento sérico de GGT (Liphook Equine Hospital, 2012).

Podemos então concluir que a avaliação de doença hepática em cavalos deve incluir a quantificação de pelo menos GGT e SDH ou ARG, no entanto a ausência de alterações nestes parâmetros não deve ser interpretada como total ausência de doença hepática (Barton, 2010). A magnitude de elevação das enzimas hepáticas pode não condizer a anomalias funcionais, devendo por isso ser considerado um teste que avalia a doença hepática e não um teste de função hepática (a magnitude dos aumentos das enzimas hepáticas, sobretudo da GGT, não deve ser rotineiramente utilizada por si só para determinar o prognóstico). Num estudo realizado na Europa durante 2 anos que analisou casos de hepatopatia associada à forragem, mais de 70 animais apresentaram aumento dos valores de GGT, sendo que alguns apresentavam valores na ordem dos 1000 U/L (média de 180 U/L) e valores de GLDH tão elevados quanto 1200 U/L, no entanto, segundo o autor baseado nas suas observações, nenhum dos animais demonstrou sinais de insuficiência hepática nem sinais clínicos evidentes. O prognóstico de cavalos com insuficiência hepática é determinado com maior rigor tendo em conta testes de função, etiologia e presença/ausência de encefalopatia hepática. De forma única no cavalo, em casos de doença

hepática grave, o hematócrito, ferro sérico e a saturação de ferro em percentagem podem estar elevados e assim permanecerem mesmo após rehidratação do animal. Cavalos de corrida possuem por vezes aumentos moderados de GGT (entre 50 a 140 IU/L) sem qualquer outra evidência bioquímica de doença hepática, sendo este fenómeno observado há mais de 30 anos e estando frequentemente associado de forma temporária a baixa performance. Em situações em que múltiplos cavalos estabulados juntos possuem aumentos de GGT, possuímos como possíveis causas a administração de fármacos indutores de GGT, exposição a toxinas, doenças específicas do trato biliar, infeções virais que causam apenas aumentos de GGT e *overtraining* com depleção de glicogénio hepático. Valores de GGT entre 70 e 110 IU/L estão associados a debilidade, stress oxidativo e *overtraining*, sendo que cavalos em que a intensidade dos treinos foi reduzida nos anos seguintes, mostraram diminuições significativas dos níveis de GGT, sendo que na maioria dos casos os níveis podem regressar a parâmetros considerados normais com descanso. Estudos recentes demonstraram que a atividade sérica de GGT está relacionada com a carga de treino cumulativo e, frequência e má adaptação ao plano de treino (Divers, 2015b).

Deve ser tido em conta que as enzimas hepatocelulares do fígado também podem estar elevadas em muitas alterações inflamatórias sistémicas, devido a lesões secundárias inflamatórias, hipóxicas, vasculares e tóxicas em resposta a uma patologia primária. Os ácidos biliares podem estar aumentados em cavalos com alterações intestinais, tais como cólica e enterite, sendo que aumentos de ácidos biliares em cavalos com disautonomia podem dever-se tanto a doença hepática como a íleus. A severidade destas alterações laboratoriais, sobretudo em casos de cólica com elevação moderada a elevada dos ácidos biliares, tem sido associada ao prognóstico (Divers, 2015b).

Em casos raros de fibrose crónica grave associada a EH podem não ser notados aumentos das enzimas hepáticas, devendo-se este facto provavelmente ao elevado grau de fibrose e à perda da maioria dos hepatócitos funcionais, podendo os valores de SDH e GLDH retomar a valores considerados normais sendo o desfecho fatal (Divers, 2015a; Divers, 2015b).

### g) Fatores de Coagulação

O fígado é responsável pela síntese de diversos fatores de coagulação, sendo por isso útil em certos casos ser avaliada a função hemostática, contudo as alterações da função hemostática não são específicas da doença hepática, pelo que devem ser avaliadas em conjunto com os outros valores laboratoriais (Barton, 2010; Johns & Sweeney, 2008). A hemostase consiste numa série complexa de eventos, tendo como objetivos finais a prevenção de hemorragia excessiva e a manutenção do fluxo sanguíneo adequado para os tecidos (Johns & Sweeney, 2008). A insuficiência hepática está associada à diminuição de síntese e função da maioria das proteínas procoagulantes, anticoagulantes e fibrinolíticas, para além da diminuição do número e função

plaquetária (Liphook Equine Hospital, 2012). Na presença de insuficiência hepática os tempos de coagulação de protrombina (PT) e tempo de tromboplastina parcial (PTT) estão aumentados, devendo-se este facto à síntese insuficiente dos fatores de coagulação II, V, VII, IX, X, XI e XII (o factor VIII é principalmente produzido no endotélio) (Divers, 2015b; Liphook Equine Hospital, 2012; Meyer & Walton, 2013). Alterações de coagulação podem não ocorrer sempre em doenças biliares obstrutivas causando insuficiência, apesar da importância dos ácidos biliares entéricos normais na absorção de vitamina K e na ativação dos fatores de coagulação II, VII, IX e X (Divers, 2015b). O fator dependente da vitamina K com um tempo de semivida mais curto é o fator VII, sendo por isso detetadas alterações no tempo de protrombina (PT). A avaliação adequada da função hemostática inclui também a avaliação do tempo de tromboplastina parcial ativada (PTT), as concentrações de fibrinogénio e a contagem plaquetária. Em estudos retrospectivos foi possível averiguar que cerca de metade dos cavalos com patologia hepática apresentavam tempo anormalmente prolongado de PT ou de PTT. Para que sejam detetadas alterações nos tempos de coagulação normalmente é necessária a redução de 50 a 70% da concentração sanguínea dos fatores de coagulação. Os tempos de coagulação variam durante o dia, pelo que pode ser muito útil a padronização com um cavalo saudável. Se a relação entre PT ou PTT do paciente com possível patologia hepática e o cavalo saudável for superior a 1,3, então podemos considerar os valores como anómalos. A sensibilidade da deficiência de fatores de coagulação durante a insuficiência hepática pode ser aumentada pela diluição do plasma ou pela determinação de fatores de coagulação específicos, através de ensaios de coagulação, cromogénicos ou radioimunológicos, no entanto estes métodos não estão amplamente disponíveis (Barton, 2010).

Apesar de alterações de coagulação existirem em muitos cavalos com doença hepática, hemorragia não é comum e biópsias hepáticas podem ser realizadas com segurança na maioria dos casos (Divers, 2015b; Liphook Equine Hospital, 2012; Johns & Sweeney, 2008). A explicação pode consistir na contagem plaquetária geralmente manter-se normal em cavalos com patologia hepática. O fibrinogénio é uma proteína de fase aguda produzida no fígado, estando habitualmente dentro dos parâmetros normais ou a baixo destes na maioria dos casos, excepto em colangiohepatite em que pode estar aumentado (Divers, 2015b).

O método mais comum para a determinação da concentração plasmática de fibrinogénio é o método de precipitação do bloco de calor, no entanto este não consegue detetar com precisão a hipofibrinogenemia, sendo que os ensaios de coagulação utilizando trombina são mais precisos para se determinar a concentração de fibrinogénio. Concentrações de fibrinogénio inferiores a 100 mg/dL (1 g/L) são significativas de diminuição da sua produção ou de excesso do seu consumo. A concentração de produtos de degradação de fibrinogénio/fibrina (FDP) é determinada pela aglutinação em látex, podendo estar aumentada na insuficiência hepática, devido à incapacidade da sua remoção eficaz pelas células de Kupffer. Concentrações de FDP superiores a 16 µg/dL são indicativas do excesso da sua produção ou da diminuição da sua remoção. A concentração

plasmática de fatores anticoagulantes ou relacionados com a fibrinólise podem também estar alterados na presença de insuficiência hepática crónica, no entanto estes testes são limitados (Barton, 2010).

A trombocitopénia associada à presença de petéquias e epistaxis tem sido descrita em cavalos com doença hepática, pelo que antes de se realizarem técnicas invasivas de diagnóstico ou terapêuticas deve-se efetuar a contagem plaquetária (Barton, 2010).

## h) Depuração Farmacológica

O fígado possui como função a depuração (também designada por clearance) de substâncias endógenas do sangue, podendo avaliar-se a função hepática através da depuração de uma substância exógena após sua administração (Barton, 2010). Os corantes que podem ser utilizados para determinar a eficiência de excreção hepática são: bromossulfaleína, rosa bengala e indocianina verde, no entanto a bromossulfaleína é o mais utilizado devido aos seus custos serem mais baixos (Pearson, 1999). A bromossulfaleína (BSP) é uma substância exógena que é removida pelo fígado, conjugada e excretada na bilis, devendo ser administrada por via endovenosa na dose de 2,2 mg/Kg, sendo o seu tempo de semivida de depuração calculado através da obtenção periódica de amostras sanguíneas para tubo heparinizado (colheita de amostras até 12 a 15 minutos após administração de BSP). A injeção de BSP tem como advertências o seu potencial trombogénico e a sua irritabilidade tecidual se administrado perivascularmente. As amostras sanguíneas para quantificação de BSP devem ser recolhidas de um local diferente do da sua administração e os seus tempos de colheita aconselháveis são aos 3, 6, 9, 12 e 15 minutos, no entanto não é crucial a obtenção das amostras nestes períodos, mas sim o registo exacto da colheita das amostras para obtenção precisa do tempo de semivida (Barton, 2010). O tempo de semivida é calculado através da marcação das várias concentrações plasmáticas de BSP e do seu tempo de recolha em papel semilogarítmico, sendo o tempo de semivida considerado normal entre 0,5 e 2,8 minutos, ou de forma mais geral <3,5 minutos (Barton, 2010; Pearson, 1999).

O tempo de semivida de BSP encontra-se prolongado quando mais de 50% da função hepática é perdida (Barton, 2010; Morandi, Frank, Avenell, & Daniel, 2005). Este teste de função hepática é útil para distinguir encefalopatia hepática de outras causas de comportamento anómalo ou sinais cerebrais, e para testar a função hepática na doença hepática crónica quando os valores sanguíneos de bilirrubinas, SDH e GGT estão dentro dos parâmetros considerados normais. A interpretação apropriada do tempo de semivida de BSP deve ter em conta o estado do sangue hepático e fluxo biliar, e as concentrações de bilirrubinas e albumina. Se o fluxo sanguíneo hepático estiver significativamente diminuído, quer por anastomose portosistémica quer por congestão hepática, a taxa de distribuição hepática de BSP estará diminuída, pelo que o seu

tempo de semivida estará prolongado. BSP liga-se à albumina para entrega no fígado, se a concentração de albumina sanguínea estiver diminuída, então uma maior proporção de BSP não ligada chega aos hepatócitos, pelo que o tempo de semivida de BSP será encurtado. Se a concentração sanguínea de bilirrubina estiver aumentada, esta vai competir com os locais de ligação de BSP e com as enzimas conjugadas do fígado, pelo que o tempo de semivida de BSP será prolongado. Se ocorrer colestase significativa ocorrerá um prolongamento aparente do tempo de depuração de BSP, pois o BSP excretado no trato biliar sofre reabsorção para a circulação sanguínea. O teste de função hepática através de BSP é muito útil, no entanto deve ter-se em consideração todas estas possíveis limitações na interpretação dos resultados. A disponibilidade de BSP é limitada pois não se encontra comercialmente disponível, sendo utilizada apenas em algumas instituições académicas e de pesquisa. A quantificação da concentração sérica de ácidos biliares substitui normalmente o teste de função de BSP, servindo como indicador de função hepática (Barton, 2010).

A determinação do tempo de eliminação de BSP tem vindo a ser considerada mais útil que a determinação do seu tempo de semivida para a deteção de doença hepática, sendo também sugerido que a proporcionalidade de transferência das constantes de depuração é mais vantajosa na avaliação do prognóstico de doença hepática, do que apenas o seu tempo de semivida. O tempo de eliminação é medido pela quantidade de BSP irreversivelmente do plasma sanguíneo, por unidade de tempo. Neste teste deve ser administrada BSP na dose de 5 mg/Kg de peso corporal por via endovenosa, devendo recolher-se as amostras sanguíneas heparinizadas aos 5, 10, 15, 25 e 30 minutos após administração. O tempo de depuração de BSP é de 10 mL/min/Kg em cavalos alimentados e de 6 mL/min/Kg em cavalos em jejum por 3 dias (Barton, 2010).

O teste de depuração da indocianina verde (ICG) substituiu o teste de BSP nos seres humanos, sendo o seu procedimento e limitações semelhantes ao teste de BSP. O tempo de depuração de ICG em cavalos alimentados é de 0,67 a 3,5 mL/min/Kg e em cavalos em jejum de 0,57 a 1,6 mL/min/Kg. O teste de depuração de ICG é um excelente meio de avaliar o fluxo sanguíneo hepático e sua taxa de eliminação, no entanto o seu elevado custo e a necessidade de utilização de um espectrofotómetro com capacidade de leitura de comprimentos de onda infravermelhos para quantificação, conduzem à exculsão deste teste como meio de diagnóstico de insuficiência hepática em equinos (Barton, 2010).

## i) Outros Achados Laboratoriais Não Específicos

A ocorrência de acidémia é favorecida pela formação e libertação de produtos metabólicos ácidos, tais como corpos cetónicos, lactato, piruvato e aminoácidos, e por outros fatores predisponentes tais como a diarreia e a perda da capacidade de acidificação renal por alteração na síntese da ureia (Barton, 2010). Em humanos com EH é comum observar-se alcalose

respiratória primária como resultado de hiperventilação, no entanto em cavalos é raro ocorrer, sendo que a maioria dos cavalos com EH apresentam acidose metabólica (Divers, 2015a). A acidose metabólica deve-se sobretudo à acidose láctica (Divers, 2015a; Divers, 2015b). O aumento do ácido láctico-L é provavelmente resultado da diminuição do metabolismo hepático de lactato, diminuição da perfusão e hipóxia celular, e melhoramento da atividade glicolítica aeróbia hepática e extrahepática e de produção de lactato (Divers, 2015b).

Em casos de insuficiência hepática fulminante o lactato plasmático encontra-se frequentemente elevado e os níveis de bicarbonato encontram-se diminuídos (Divers, 2015b). A presença de hipocalémia pode estar associada a casos de anorexia. Perturbações na concentração de sódio e isostenúria são episódios relacionados com a aldosterona e capacidade de retenção de água, mas são casos raramente relatados em cavalos. Na presença de hiperlipémia pode desenvolver-se azotémia (Barton, 2010).

Quando ocorre colangiohepatite, hepatite crônica ativa ou abscesso hepático focal podem estar presentes leucograma inflamatório, anemia de doença crônica e hiperfibrinogenemia. Foi relatada policitemia primária em cavalos com carcinoma hepatocelular e hepatoblastoma. O fibrinogênio é sintetizado no fígado, sendo que a hepatite crônica generalizada pode mascarar o aumento desta proteína de fase aguda (Barton, 2010). Em muitos casos de insuficiência hepática é observada como achado único a policitemia (Divers, 2015a).

## 5) Outros Exames Complementares de Diagnóstico

### a) Ecografia

A ecografia tem como base a ultrassonografia, desempenhando um papel vital na prática clínica dos animais de grande porte, devendo para isso ser possuído um conhecimento anatômico profundo das estruturas para diagnóstico imagiológico (Lien, Loly, & Ferguson, 2014). Na ecografia é gerada uma vibração mecânica através de ondas de compressão e rarefação produzidas pelo ultrassom. Estas ondas são geradas por cristais piezoelétricos existentes nas sondas que concentram o ultrassom num feixe (Lencioni, Cioni, & Bartolozzi, 2005). A ultrassonografia é deste modo uma técnica imagiológica segura e não invasiva, que se baseia na reflexão de ondas sonoras de elevada frequência em diferentes interfaces teciduais, com diferentes propriedades acústicas, de modo a obter-se uma imagem dessas estruturas (Barton, 2010; Lencioni, Cioni, & Bartolozzi, 2005). Estas propriedades acústicas são conhecidas como impedância acústica, que relaciona complexamente a densidade e rigidez tecidual das diferentes estruturas, produzindo diferenças de contraste a nível submilimétrico entre as diferentes interfaces, tais como líquido, tecido conjuntivo e tecido adiposo, permitindo uma boa avaliação anatômica e funcional (Lencioni, Cioni, & Bartolozzi, 2005).

A porção do ultrassom que retorna por reflexão à sonda é utilizada para formar a imagem, baseando-se no tempo entre o envio do impulso e a sua detecção, e a sua direção face ao ângulo da sonda para calcular a profundidade, sendo uma pequena proporção do ultrassom absorvida pelos tecidos e dissipada sob a forma de calor. A impedância nas estruturas vai do gás em um dos extremos, aos fluidos e tecidos moles, e até ao osso ou material calcificado. As imagens obtidas de tecidos moles devem-se principalmente ao seu conteúdo em colagénio e, o tecido adiposo deve a sua elevada ecogenicidade às elevadas interfaces lipídicas-aquosas existentes a nível celular e lobular (Lencioni, Cioni, & Bartolozzi, 2005).

Este meio de diagnóstico tem como vantagens ser relativamente pouco dispendioso, ter a possibilidade de ser efetuado em praticamente qualquer lugar e a imagem obtida ser dinâmica e em tempo real (Lencioni, Cioni, & Bartolozzi, 2005; Lien, Loly, & Ferguson, 2014). Nos cavalos a ecografia é mais utilizada em medicina desportiva e na área reprodutiva, no entanto também permite avaliações torácicas, abdominais, do trato urinário e de doenças oftalmológicas. Uma das grandes desvantagens da ecografia é a variabilidade de diagnóstico consoante a experiência e prática do operador, sendo que apenas operadores experientes podem obter consistentemente bons resultados ecográficos. A compreensão e conhecimento de todos os componentes do ecógrafo fazem enorme diferença na qualidade das imagens obtidas, pelo que os veterinários devem investir em aprender a trabalhar corretamente com o seu equipamento. O exame ecográfico requer algum tempo para a sua execução pelo que o operador deve estar numa posição confortável e segura e, o animal deve ser mantido num ambiente calmo e escuro, de modo a permitir uma melhor visualização da imagem no monitor do ecógrafo, pelo que muitas vezes é utilizada a área do duche ou do estábulo. O ecógrafo deve estar numa posição que permita um fácil acesso, de modo a poderem ser manipuladas as constantes ecográficas e de modo a identificar as imagens obtidas (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

O feixe de ultrassom não se propaga bem na presença de gás pois é refletido novamente para a sonda, sendo que a presença de pêlo permite a sua existência entre a sonda e a pele. Para se evitar este facto, aconselha-se sempre que possível a realização de tricotomia e lavagem para remoção de detritos e aplicação de gel de ecografia. Sempre que não seja possível a tricotomia aconselha-se a utilização de água de modo a encharcar a zona ou então a utilização de álcool isopropílico. No entanto, este último tende a estragar as sondas pelo que se deve utilizar uma proteção física e além disso faz o gel escorrer mais. Quanto mais tempo a pele estiver em contacto com a água e/ou o gel melhor a imagem obtida, sendo especialmente importante em climas secos (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

Consoante o animal a examinar a sedação pode ser benéfica, no entanto deve ter-se em atenção que se a ecografia for abdominal tem o inconveniente das estruturas poderem ter a sua atividade alterada (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

A identificação e o armazenamento das imagens obtidas devem consistir de um registo médico responsável e útil, devendo identificar no mínimo o paciente e proprietário para evitar confusão de casos clínicos e, a área observada, neste caso os espaços intercostais devem ser as referências. As imagens obtidas devem ser armazenadas para permitirem posterior consulta e até mesmo o envio para colegas para segunda opinião ou aconselhamento (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

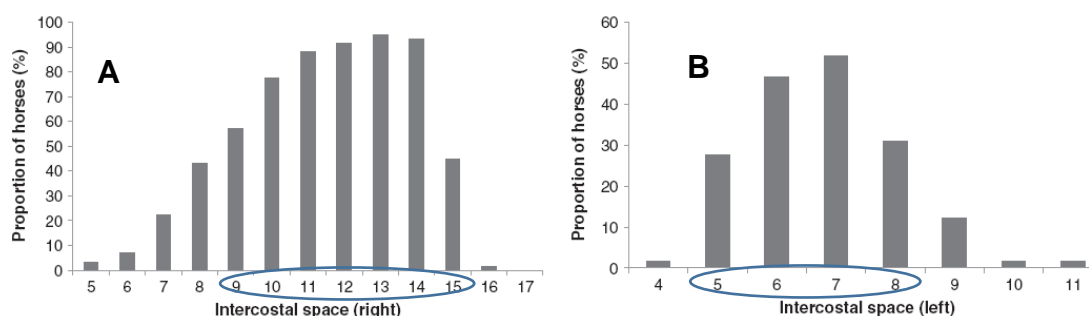
A configuração de frequência determina a penetração do feixe de ultrassom e a resolução de imagem, sendo que, quanto maior for a frequência maior será a resolução da imagem mas menor será a profundidade alcançada e quanto menor a frequência maior a penetração mas menor a resolução da imagem. As sondas ecográficas normalmente podem trabalhar em várias frequências, no entanto com uma janela de utilização limitada, pelo que é útil possuir mais que uma sonda, principalmente quando é necessário examinar o abdómen. As sondas mais indicadas para examinar o abdómen são as sondas lineares (tais como as transretais) normalmente com frequência elevada e, as sondas convexas, que são sondas de baixa frequência, sendo aconselhado utilizar-se uma sonda linear para melhor imagem a pequena profundidade e depois avaliar mais profundamente com uma sonda convexa (neste caso macroconvexa) (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

A ecografia hepática em cavalos tem como limitações as costelas, a profundidade e as dimensões hepáticas (Barton, 2010; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). As sondas lineares de 3,0 MHz são as mais utilizadas (Barton, 2010). Em animais jovens devido à posição superficial do fígado os transdutores mais indicados são os de 5-7 MHz, sendo nos animais mais velhos ou adultos utilizados preferencialmente entre 2,0 e 3,5 MHz (Slovis, 2014). A ecografia permite visualizar bilateralmente o fígado, permitindo avaliar a sua forma, posição, dimensão e textura, permitindo assim detetar alterações nos parênquima hepático e trato biliar, sendo também muito útil para seleccionar uma área para biopsiar (Barton, 2010; Carlson, Chaffin, Corapi, Snowden, & Schmitz, 2011; Johns & Miles, 2016).

A ecografia é um método de diagnóstico de doença hepática pouco sensível (cerca de 26%). No entanto, o seu valor preditivo positivo e a sua especificidade são elevados (respetivamente 85% e 86%), sugerindo que as alterações hepáticas presentes ecograficamente estão correlacionados com a disfunção orgânica. A hepatomegália determinada por exame ecográfico tem sido relacionada com diferentes distúrbios, tais como: neoplasias; colangiohepatites e colelitíases; lipidose hepática; massas não neoplásicas; torsão de lobo hepático; e doença de Tyzzer. A atrofia hepática tem sido relacionada secundariamente a fibrose hepática, colelitíase e doença de Theiler. A atrofia do lobo hepático direito tem sido descrita como um achado *pós mortem* em equídeos com idade compreendida entre os 5 e os 30 anos, sendo hipoteticamente secundária a uma compressão crónica do parênquima hepático pelo cólon, mas é considerado um achado normal em pacientes com idade avançada. (Johns & Miles, 2016).

A inexistência de dimensões hepáticas definidas por ecografia tornam a avaliação das dimensões do fígado subjectivas. A descrição da localização dos lobos hepáticos direito e esquerdo podem potencialmente ser úteis para fornecer informação objetiva para os clínicos tentarem inferir sobre as dimensões hepáticas. Segundo um estudo realizado por Johns & Miles (2016), o fígado foi observado nos espaços intercostais do lado direito em 97%, do lado esquerdo em 71% e em ambos os lados em 69% dos equídeos. O fígado pode ser observado à direita mais cranialmente no 5º espaço intercostal e mais caudalmente no 16º espaço intercostal, sendo que à esquerda pode ser observado mais cranialmente no 4º espaço intercostal e caudalmente no 11º espaço intercostal (figura 13). O sexo, raça, altura, peso corporal e condição corporal parecem não possuir qualquer efeito na localização ecográfica do fígado. Já a idade mostra ser importante na avaliação, pois em equídeos com idade superior ou igual a 24 anos o fígado é visível em significativamente menos espaços intercostais comparativamente com equídeos jovens (Johns & Miles, 2016).

Figura 13 - Representação da área de visualização hepática por ultrassonografia nos diversos espaços intercostais, com base num estudo realizado a 58 cavalos, estando o resultado indicado em percentagem. Adaptado de: Johns & Miles, 2016.



Legenda: A – Espaços intercostais direitos; B – Espaços intercostais esquerdos.

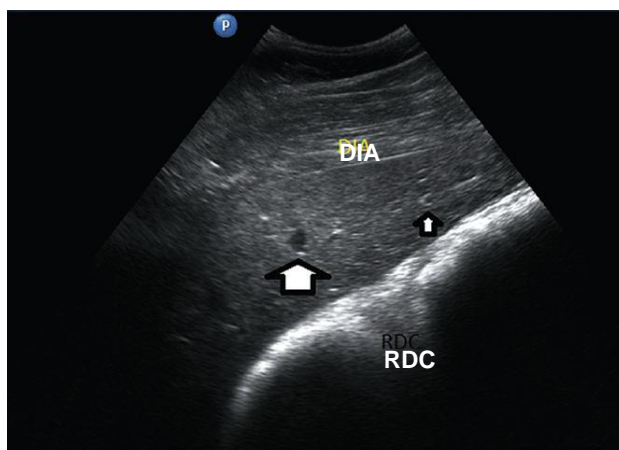
A nível ecográfico, fisiologicamente o fígado apresenta-se com o aspeto de textura uniformemente ponteadada, sendo interrompida difusamente por vasos hepáticos e ductos biliares (figuras 14 e 15) (Carlson, Chaffin, Corapi, Snowden, & Schmitz, 2011; Lencioni, Cioni, & Bartolozzi, 2005; Slovis, 2014). As paredes das veias hepáticas apresentam menor ecogenicidade que as paredes da veia porta e o sistema biliar normalmente não é visível (figura 14). A ecografia é especialmente útil para determinar alterações do parênquima hepático (tais como abscessos, massas neoplásicas e quistos) e, ductos biliares dilatados e/ou obstruções por colélitos (figura 16), no entanto o ducto biliar comum não é visível ecograficamente. Na ecografia também é possível detetar fluxos sanguíneos intra ou extra-hepáticos anómalos (Barton, 2010). O parênquima hepático geralmente apresenta maior ecogenicidade que o córtex renal, mas menor

ecogenicidade quando comparado com o baço e p elvis renal (figura 15) (Carlson, Chaffin, Corapi, Snowden, & Schmitz, 2011).

Na ecografia hepática do lado esquerdo   possível visualizar simultaneamente fígado e baço, permitindo a comparação das suas ecogenicidades, devendo o fígado apresentar-se homogeneamente e uniformemente hipoecog nico em relação ao baço, sendo que quando as ecogenicidades são semelhantes estamos na presen a de fibrose hepática (Divers, 2015b; Slovis, 2014). Na ecografia hepática do lado direito   possível observar grandes vasos, sendo eles, a veia porta e a veia cava caudal (Slovis, 2014).

A congestão hepática é descrita como tumefação hepática com diminuição da sua ecogenicidade e vasculatura proeminente, sendo uma alteração difusa reconhecida ecograficamente. A ecografia permite detetar alterações de ecogenicidade do parênquima hepático, como por exemplo: casos de necrose ou fibrose hepática, lipidose hepática, amiloidose hepática e colangiohepatite. Também   possível detetar ecograficamente algumas alterações do trato biliar, tais como a colelitíase e a distensão biliar (Carlson, Chaffin, Corapi, Snowden, & Schmitz, 2011).

Figura 14 - Imagem ecográfica do lado direito de fígado equino com parênquima hepático de ecogenicidade normal. Adaptado de: Slovis, 2014.



Legenda: Seta maior – veia porta; Seta pequena – veia hepática; DIA – diafragma; RDC – Cólon Dorsal Direito. O lado esquerdo da imagem corresponde a dorsal e o lado direito da imagem corresponde a ventral relativamente ao posicionamento anat mico.

A aparência ecográfica de padrão de céu estrelado, denominado agora por fígado em céu estrelado, é caracterizada pela presen a de numerosos e pequenos focos hiperecog nicos, distribuídos aleatoriamente pelo parênquima hepático, sendo que alguns apresentam sombra acústica. Este padrão ecográfico é observado em equinos há mais de 20 anos, o que ocasionou um estudo realizado no Texas a 18 equinos. Este padrão ecográfico está associado a granulomas hepáticos dispersos, sendo um achado acidental e não associado na maioria dos casos a doen a hepática clínica perceptível. A causa da formação desses granulomas é desconhecida, no entanto

acredita-se que possa resultar de infeção parasitária crónica (Carlson, Chaffin, Corapi, Snowden, & Schmitz, 2011).

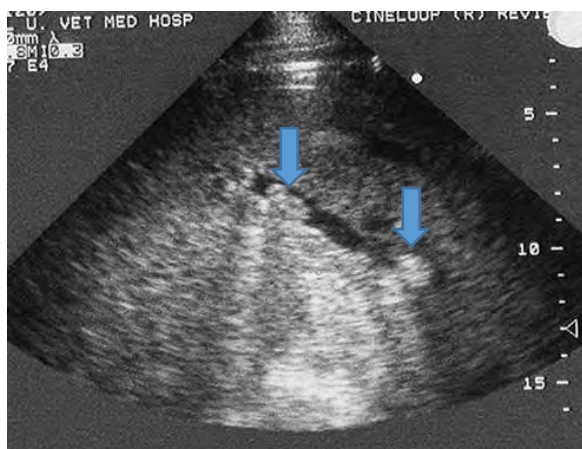
Figura 15 - Imagem ecográfica de abdómen cranial esquerdo. Adaptado de: Divers, 2015b.



Legenda: L – fígado; S – baço.

Nota: A possibilidade de comparação das ecogenicidades dos dois órgãos permite a determinação da ecogenicidade hepática normal, sendo o fígado mais hipocogénico comparativamente com o baço.

Figura 16 - Imagem ecográfica de distensão de ducto biliar e colelitíase. Adaptado de: Divers, 2015b.



Nota: Dois focos hiperecogénicos (setas) no interior dos ductos biliares (possíveis colélitos ou acumulação de detritos).

## b) RX

O exame radiológico é o principal meio de diagnóstico imagiológico na prática clínica equina. Este exame é frequentemente utilizado para avaliação de claudicações, exames de acto de compra-venda, traumas e doença dentária. No entanto, em hospitais com grandes geradores é possível também efectuar este exame a nível torácico e abdominal (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

Na realização deste exame de diagnóstico devemos ter em conta a segurança devido à exposição a radiação ionizante. Infelizmente os médicos veterinários são os mais expostos a esta radiação, quer por falta de investimento em material de protecção, quer por pressa na realização do exame, ou até mesmo por não a considerarem uma real ameaça. A segurança com a radiação prende-se com o tempo, distância e proteções (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

O tempo de exposição pode ser difícil de controlar numa clínica com poucas pessoas, mas deve-se tanto quanto possível efectuar a rotação entre quem segura a placa de RX, o cavalo e a máquina de RX. Deve ser efectuada uma correta preparação do paciente e uma correta técnica radiográfica de modo a diminuir a necessidade de repetições e a aumentar a qualidade das imagens obtidas no exame radiográfico (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

Quanto maior a distância da fonte de radiação, menor a exposição à radiação, pelo que apenas as pessoas estritamente necessárias à realização do exame devem estar presentes e os operadores devem afastar o corpo o máximo possível da placa de RX e/ou do feixe de radiação (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

O uso de proteções individuais tais como aventais, protetores de tiróide e luvas ajudam a minimizar a exposição à radiação. No entanto, o seu uso pode ser desconfortável e provocar calor ao operador. Contudo, o uso do avental deve ser sempre considerado indispensável. O uso de dosímetros individuais também deve ser indispensável na prática clínica de modo a medir a exposição a radiação em cada indivíduo (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

A técnica radiológica varia com o tipo de equipamento e tipo de estudo a ser efectuado, sendo que a maioria dos sistemas, tanto digitais como por placa de RX, possuem uma tabela de recomendação das constantes radiográficas a utilizar. A tabela de constantes radiográficas pode vir com o equipamento ou ser elaborada pelo operador no decorrer da prática clínica, devendo nela constar as constantes de kilovoltagem (kV) e miliamperagem (mA) a utilizar em cada estudo em particular. Os valores tabelados podem necessitar de ser alterados para se obter melhor imagem no estudo (por exemplo muitas vezes é benéfico diminuir as constantes em caso de poldros e aumentar em caso de cavalos robustos). No caso de sistemas portáteis, a distância entre a máquina de RX e a placa de RX deve ser de aproximadamente 60cm (Lien, Loly, & Ferguson, 2014). Nos sistemas fixos a distância utilizada é geralmente de 100-120cm (Bushong, 2010).

Na obtenção de radiografias abdominais a técnica necessita de constantes radiográficas altas e deve ser utilizada uma grelha, devendo o feixe estar centrado com a placa de RX. Os sistemas que permitem o alinhamento do feixe com a placa de RX são preferencialmente utilizados. Radiografias abdominais podem ser utilizadas para diagnosticar a presença de enterólitos, areia, cálculos urinários e obstruções intestinais. O número de imagens a serem obtidas para o estudo dependem do tamanho do animal, sendo em média necessárias 3 incidências, iniciando em crânio-ventral e terminando em caudo-dorsal (Lien, Loly, & Ferguson,

2014). As radiografias hepáticas podem ser muito eficientes na detecção de alterações hepáticas, mas raramente fornecem diagnósticos específicos, sendo exames que possuem como desvantagem a grande dimensão dos pacientes (Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016).

### c) Biópsia

A biópsia hepática é considerada o melhor meio de diagnóstico e prognóstico de doença hepática *ante mortem* (mais sensível e específico). No entanto, é um procedimento invasivo, sendo aconselhado apenas a pacientes com valores bioquímicos hepáticos significativamente anómalos (Lien, Loly, & Ferguson, 2014; Liphook Equine Hospital, 2012; Meyer & Walton, 2013; Pearson, 1999; Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016). Esta técnica asséptica permite através da colheita de amostras hepáticas efetuar um correto diagnóstico, prognóstico e terapêutica, no entanto possui como possíveis complicações: ocorrência de hemorragia (pelo que é aconselhado realizar previamente um painel de coagulação), alastramento de processos infecciosos como a hepatite infecciosa, peritonite (tanto por extravasamento de conteúdo biliar como do cólon), cólica, pleurite e pneumotórax (Barton, 2010; Lien, Loly, & Ferguson, 2014; Liphook Equine Hospital, 2012). No entanto, a coagulopatia é muitas vezes subclínica, sendo raramente relatada a ocorrência de hemorragias significativas ou letais (Barton, 2010). Num estudo realizado a 33 equídeos, 4 apresentaram complicações decorrentes da realização de biópsia hepática, sendo que 3 deles possuíam alterações em pelo menos um parâmetro dos fatores de coagulação. No entanto, também foi efetuada biópsia a pelo menos um cavalo com problemas de coagulação sem que fosse identificada qualquer complicação (Johns & Sweeney, 2008). A biópsia permite a detecção de concentrações minerais hepáticas, tais como o cobre, permitindo também o diagnóstico de hepatite aguda e hepatopatia tóxica (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

Os efeitos adversos desta técnica são raros, mas podem ainda ser minimizados através da utilização de orientação ecográfica. Existem vários transdutores que permitem a acopulação de agulha de biópsia de modo a manter a agulha sempre no plano ecográfico. Contudo, alguns veterinários preferem operar separadamente com a sonda ecográfica e com a agulha de biópsia. Cerca de ¼ dos pacientes humanos descrevem algum grau de dor abdominal após biópsia hepática, pelo que se recomenda a utilização de analgesia sistémica no procedimento em equídeos (Liphook Equine Hospital, 2012).

A realização de biópsia hepática é considerada um procedimento relativamente seguro e pouco dispendioso, podendo ser realizado num equídeo em estação através de anestesia local e sedação do mesmo, sendo estas as suas principais vantagens (Pearson, 1999).

Dependendo da localização das lesões, a recolha de apenas uma amostra de biópsia pode não detetar a presença de doença hepática, pelo que o procedimento ecoguiado aumenta a

probabilidade de recolha de uma área com lesões. No entanto, podem ocorrer lesões histológicas mesmo em zonas ecograficamente sem alterações (Meyer & Walton, 2013).

Através de um estudo retrospectivo a 73 cavalos com doença hepática foi possível estabelecer um sistema pontuação, com base nas características histológicas, que permite a estimativa do tempo médio de sobrevivência, baseado em diversos parâmetros (tabela 3), como por exemplo o grau de fibrose (Barton, 2010; Liphook Equine Hospital, 2012). Este sistema de classificação varia entre 0 (melhor prognóstico) e 14 (pior prognóstico). Com base neste sistema de classificação, conclui-se que os pacientes com classificação  $\leq 2$  possuem elevadas probabilidades de sobrevivência a longo prazo (>6 meses) e os com classificação >8 provavelmente não sobreviverão a longo prazo. Os pacientes com classificações intermédias necessitam de tratamento e podem sendo o prognóstico reservado (Liphook Equine Hospital, 2012).

Segundo um estudo recente, os indicadores de pior prognóstico na avaliação histológica de biópsia hepática são a fibrose hepática e a hiperplasia biliar (Meyer & Walton, 2013).

Tabela 3 - Sistema de classificação de prognóstico clínico com recurso a biópsia, devendo ser avaliado cada parâmetro individualmente e calcular-se posteriormente a soma de todos os parâmetros. Adaptado de: Liphook Equine Hospital, 2012.

		Intensidade de Lesão			
		Ausente	Leve	Moderado	Severo
Parâmetros	Fibrose	0	0	2	4
	Citopatologia Irreversível	0	1	2	2
	Infiltrado Inflamatório	0	0	1	2
	Acumulação de Hemosiderina	0	0	0	2
	Hiperplasia Biliar	0	0	2	4

Para a realização da colheita das amostras hepáticas deve iniciar-se por sedar o animal e realizar tricotomia no lado direito entre os 12° e 14° espaços intercostais (principalmente no 14°), na zona atravessada pela linha imaginária que une a tuberosidade coxal ao cotovelo, devendo essa zona possuir cerca de 10 cm de altura e largura, devendo-se recorrer a ultrassonografia para boa localização das estruturas (figura 17). Posteriormente deve efetuar-se limpeza asséptica com soluções à base de clorexidina ou iodopovidona e, anestesia local subcutânea e dos músculos intercostais com lidocaína ou anestésico similar (10 mL utilizando uma agulha 21 G 1½”). A incisão deve ser efetuada por uma lâmina de bisturi (sendo aconselhada a n.º11 ou a n.º15), de modo a introduzir o instrumento de biópsia (14 G e 16 a 20 cm de comprimento) em direção ao

cotovelo esquerdo do animal, ou seja, cranioventralmente (Barton, 2010; Lien, Loly, & Ferguson, 2014; Liphook Equine Hospital, 2012; Pearson, 1999). Utilizar uma pequena quantidade de gel estéril ou álcool na sonda ecográfica (Liphook Equine Hospital, 2012). Os instrumentos de biópsia devem ser testados anteriormente para garantir o seu correto funcionamento (figura 18), podendo a utilização de instrumentos de biópsia semi-automáticos e automáticos ser muito útil na obtenção de biópsias hepáticas rápidas e precisas (figura 19) (Barton, 2010; Lien, Loly, & Ferguson, 2014). Quando se reconhece o aumento da resistência à entrada do instrumento de biópsia, isso é devido à penetração no fígado, devendo nessa altura abrir-se e fechar-se a agulha de biópsia, tendo o cuidado de não o realizar mais nenhuma vez para não se perder accidentalmente a amostra do local de recolha da agulha de biópsia (figura 18) (Lien, Loly, & Ferguson, 2014).

A disponibilidade de ecografia para orientar a biópsia hepática, permitindo seleccionar a amostra a recolher pelo volume de tecido hepático presente, ausência de grandes vasos e aparência ultrassonográfica anómala, torna a sua não utilização na biópsia hepática muito questionável (figura 17) (Liphook Equine Hospital, 2012; Pearson, 1999).

Figura 17 - Imagem demonstrativa de técnica de biópsia ecoguiada. Adaptado de: Liphook Equine Hospital, 2012.

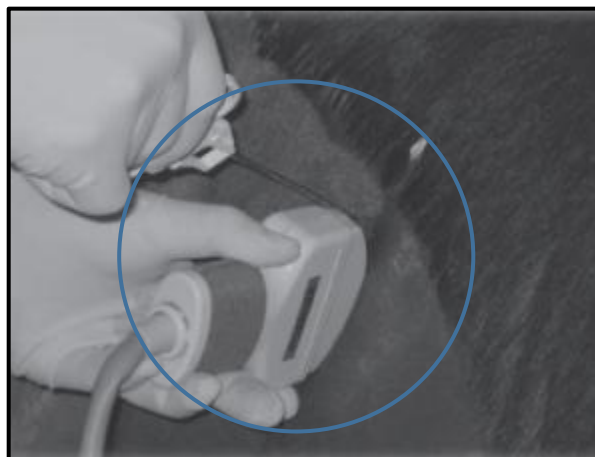
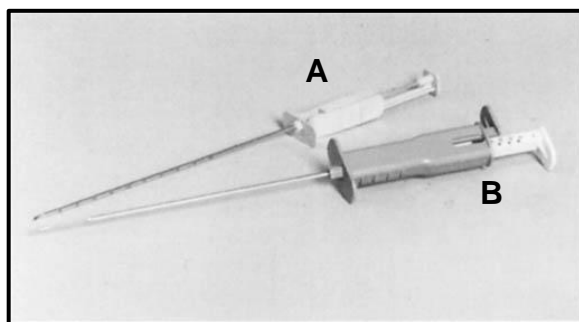


Figura 18 - Imagem de ponta de agulha de biópsia, sendo perceptível o local de recolha da amostra (seta). Adaptado de: Lien, Loly, & Ferguson, 2014.



Devem ser recolhidas várias amostras para serem representativas das alterações hepáticas presentes, sendo que as amostras devem ser colocadas em frascos estéreis, com a ajuda de uma agulha hipodérmica estéril, sendo que se tiverem como objetivo a análise histopatológica devem ser colocadas em formalina neutra tamponada a 10% (Barton, 2010; Lien, Loly, & Ferguson, 2014; Liphook Equine Hospital, 2012; Pearson, 1999). As amostras devem ser sujeitas a avaliação microbiológica em caso de suspeita de colangiohepatite, e quando se destinem a análise mineral devem possuir mais de 15mg (Lien, Loly, & Ferguson, 2014; Pearson, 1999). Avaliações de grupos de animais devem incluir no mínimo 7 indivíduos para serem representativas (Lien, Loly, & Ferguson, 2014). Deve aplicar-se um spray antisséptico sobre a incisão cutânea e administrar um única dose de fenilbutazona por via endovenosa (EV) na dosagem de 2 mg/Kg (Liphook Equine Hospital, 2012).

Figura 19 - Representação de exemplos de agulhas de biópsia hepática. Adaptado de: (Pearson, 1999)



Legenda: A – BD Precision Cut; B – Monoject ABC.

A realização de biópsia hepática em equídeos parece ser um procedimento seguro, mesmo sendo comum a ocorrência de alterações dos fatores de coagulação na presença de doença hepática, não parece haver associação com o aumento de risco de complicações neste procedimento. Num estudo em que se realizaram biópsias hepáticas a 65 equídeos não foi identificado nenhuma hemorragia grave, pelo que não houve necessidade de realizar qualquer tratamento (Johns & Sweeney, 2008).

Existem poucos conhecimentos relativos às possíveis alterações hemáticas e bioquímicas devidas ao procedimento de biópsia hepática em equinos. Em bovinos foram observados aumentos significativos da enzima AST 24 horas após a realização de biópsia hepática, sendo que não foram observados aumentos nem de FAS nem de GGT após 24 e 96 horas e, foi observado o aumento significativo de 0,24 g/dL de proteínas totais ao fim de 96 horas. Em caprinos foi registada leucocitose com neutrofilia e aumento do fibrinogénio plasmático 24 horas após o procedimento. Os equinos submetidos a biópsia hepática apresentam leucocitose e

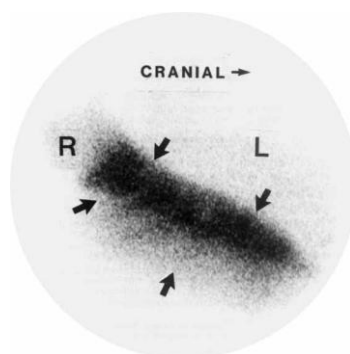
aumento do fibrinogénio plasmático 24 e 72 horas após a realização de biópsia hepática (Queiroz, Dias, Gravena, & Neto, 2016).

#### d) Cintigrafia Nuclear

A utilização de radiocolóides é vulgarmente utilizada para obter imagens hepáticas no Homem e em cães. No entanto, nos equídeos a administração endovenosa dos radiocolóides é captada também pelos pulmões, dificultando a visualização hepática. O contraste hepatobiliar é removido da corrente sanguínea e secretado para os canalículos biliares. No Homem, a imagem de radionucleotídeo hepatobiliar permite a avaliação simultânea tanto da morfologia como da cinética do trato biliar. A imagem hepatobiliar do cavalo adulto para avaliação da cinética biliar não foi reportada (Hornof & Baker, 1986).

A técnica com utilização de radionucleotídeos permite a melhor deteção de alterações do parênquima hepático e fluxo sanguíneo, sendo por isso uma técnica não invasiva útil na avaliação da função hepática e biliar. Na avaliação hepática é administrado por via endovenosa um composto radioactivo,  $^{99m}\text{Tc}$ tecnécio, ligado a um colóide de enxofre. O  $^{99m}\text{Tc}$ tecnécio é um composto detetado por câmara gama, sendo o seu colóide fagocitado pelas células de Kupffer permitindo detetar as suas emissões subseqüentes e converter em uma imagem bidimensional (figura 20). Estas imagens permitem detetar alterações no fluxo sanguíneo ou a presença de massas hepáticas. Na avaliação biliar é administrado por via endovenosa ácido iminodiacético ligado a  $^{99m}\text{Tc}$ tecnécio, sendo este extraído pelos hepatócitos, conjugada e excretada na biliar (Barton, 2010).

Figura 20 - Imagem de vista hepática lateral direita após administração de  $^{99m}\text{Tc}$ tecnécio em equino. Adaptado de: (Hornof & Baker, 1986)



Legenda: R – fossa renal; L – campo de pulmão.

Nota: As setas delimitam as margens hepáticas cranial e caudal.

A colocação dos animais em jejum ou mantendo-os alimentados parece não possuir efeito na obtenção das imagens hepáticas. Para permitir a proximidade entre o animal e a câmara de raios gama é necessário recorrer à utilização de sedativos, sendo estes provavelmente responsáveis pela introdução de uma variável fisiológica. A principal limitação desta técnica são

as alterações de geometria, pois a distância entre o animal e a câmara devem ser constantes e não devem ocorrer rotações sobre o eixo longitudinal do animal, no entanto uma simples alteração no pé de descanso por exemplo já altera a imagem obtida, podendo não permitir a correta avaliação da estrutura hepática devido a artefactos de movimento. De modo a permitir a avaliação hepática apenas numa vista, é muito útil a utilização de um colimador divergente (Hornof & Baker, 1986).

As imagens obtidas permitem a deteção de obstrução biliar, incluindo atresia, colangite e colelitíase (Barton, 2010). A utilização desta técnica é muito dispendiosa e exige uma câmara de raios gama, pelo que apenas é realizada em algumas instituições de pesquisa e académicas (Barton, 2010; Pearson, 1999).

Este exame exige a existência de boxes de isolamento, bem como o controlo das entradas e saídas dos animais e de pessoal devido à eliminação urinária de tecnécio radioactivo.

#### e) Portografia Mesentérica Operatória

Esta técnica pode ser realizada quando se suspeita da existência de anastomose portossistémica. Neste procedimento é injetado um material radiopaco numa veia mesentérica através de uma celiotomia, sendo depois executadas várias radiografias rápidas e sequenciais. A simultânea assimilação de contraste pela veia porta, veia ázigos e veia cava caudal é indicativo de anastomose portossistémica, bem como o enchimento incompleto do sistema portal intra-hepático (Barton, 2010).

## 6) Conclusão

O principal objetivo dos testes de diagnóstico é diferenciar os animais que apresentam patologia dos que não a apresentam, pelo que diversos estudos têm sido realizados de modo a tentar clarificar os métodos de diagnóstico mais fidedignos. Num estudo retrospectivo a 82 equídeos (61 com doença hepática e 21 sem doença hepática), sendo a presença de doença hepática confirmada histopatologicamente a partir de amostras recolhidas por biópsia, não foi possível identificar nenhum teste ou combinação de testes que permitisse a distinção clara entre os dois grupos de animais (Durham, et al., 2003; Durham, Smith, & Newton, 2003).

Num estudo retrospectivo foram realizadas biópsias hepáticas a 44 cavalos, sendo que 22 deles apresentaram doença hepática confirmada por biópsia, no entanto nenhum deles apresentava sinais clínicos sugestivos de tal na altura do exame. Desta forma compreende-se a importância de se avaliar de forma atempada e precisa a função hepática (Morandi, Frank, Avenell, & Daniel, 2005).

No estudo realizado por Durham, Smith, & Newton (2003), foram quantificados, por diversos métodos, o valor diagnóstico de cada teste. Foram calculados 4 parâmetros para cada teste, sendo eles a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo. Um teste com elevada sensibilidade significa que o resultado é positivo na maioria dos doentes (ou seja, possui elevados verdadeiros positivos e baixos falsos negativos), no entanto podem ocorrer falsos positivos. Um teste com elevada especificidade significa que o resultado é negativo na maioria dos pacientes não doentes (ou seja, possui elevados verdadeiros negativos e baixos falsos positivos), no entanto podem ocorrer falsos negativos. Um teste com alto valor preditivo positivo significa que a maioria dos pacientes com resultado positivo estão realmente doentes. No entanto, pode apresentar alguns falsos negativos. Um teste com elevado valor preditivo negativo significa que a maioria dos pacientes com resultado negativo não estão realmente doentes (ou seja, possui elevados verdadeiros negativos e baixos falsos negativos), no entanto pode apresentar alguns falsos positivos (Durham, Smith, & Newton, 2003).

No estudo efetuado por Durham, Smith, & Newton (2003), foi possível verificar que 72% dos cavalos com doença hepática não demonstravam sinais clínicos da doença, pelo que a presença de sinais clínicos é um indicador de diagnóstico com pouca sensibilidade (neste caso apenas 28%). O valor preditivo positivo para os sinais clínicos de doença hepática foi razoavelmente elevado (81%), indicando que quanto mais sinais clínicos estejam presentes maior a probabilidade de o animal apresentar realmente doença hepática. A encefalopatia hepática foi um sinal clínico pouco comum (apenas em cerca de 10% dos animais), no entanto, quando presente foi um indicador de doença hepática totalmente confiável (valor preditivo positivo de 100%). A ausência de sinais clínicos não deve influenciar o clínico a descartar a existência de doença hepática, pelo

que deve ser realizada uma investigação mais aprofundada do caso (Durham, Smith, & Newton, 2003).

Os sinais clínicos de doença hepática são inespecíficos, podendo compreender perda de peso, icterícia, depressão e anorexia. Num estudo realizado por West (1996), os casos de necrose hepática apresentaram sempre icterícia, sendo que foram considerados como sinais de pior prognóstico a presença de EH, febre, hemólise intravascular e fotossensibilização (West, 1996).

A ecografia pode ser muito útil no diagnóstico de certas anomalias no fígado dos equinos, permitindo identificar a localização mais apropriada para realizar biópsia e determinar o prognóstico. Ecograficamente a maioria das alterações detetadas são inespecíficas e subjetivas, mas quando detetadas são um bom indicador da presença de doença hepática. Imagens ecográficas sem alterações não são no entanto significado de ausência de doença hepática, pois este meio de diagnóstico é pouco sensível (sensibilidade de cerca de 25%) (Durham, Smith, & Newton, 2003). A ecografia permite a avaliação da dimensão e textura hepáticas, sendo uma forma de não se realizarem mais biópsias hepáticas “às cegas”, permitindo assim menores riscos na obtenção de amostras para análise histopatológica e microbiológica (Byars, 2003).

A interpretação da elevação dos valores enzimáticos no plasma sanguíneo em casos de doença hepática é dependente do tipo de tecido afetado mas também do seu tempo de semivida (West, 1996).

O método de diagnóstico inicial mais comum de doença hepática subclínica é realizado através de análises a amostras sanguíneas, sendo que um dos testes utilizados mais rotineiramente para o diagnóstico de doença hepática subclínica é a GGT, no entanto as SDH, AST e FAS também são úteis na avaliação de presença de doença hepática, bem como os ácidos biliares totais e bilirrubina total são bons testes de função hepática (Durham, Smith, & Newton, 2003; Morandi, Frank, Avenell, & Daniel, 2005). O teste mais sensível parece ser o aumento de GGT, no entanto possui baixa especificidade e moderado valor preditivo positivo. A utilização de combinações de testes, como alternativa ao teste apenas de GGT, tornam os testes mais sensíveis, no entanto continuam a ser pouco específicos. O aumento de GGT e/ou de bilirrubinas total é uma combinação de testes muito sensível, na ordem dos 100%, no entanto possui pouca especificidade (apenas cerca de 5%), pelo que animais na ausência de doença hepática muito provavelmente também terão um destes parâmetros alterados. Através da combinação de mais parâmetros é possível aumentar a especificidade. Uma combinação de testes com maior especificidade combina pelo menos o aumento de um destes parâmetros: FAS, globulinas e/ou bilirrubinas totais, sendo que também possui sensibilidade relativamente elevada (Durham, Smith, & Newton, 2003).

No estudo de Durham, Smith & Newton (2003), os testes com valor preditivo positivo máximo (100%) foram a diminuição da albumina, o aumento dos ácidos biliares e o aumento da bilirrubina total, bem como a presença de EH, sendo os resultados positivos destes parâmetros

indicadores de elevada precisão em todos os casos. Contudo, estes testes possuem baixa sensibilidade e são raramente observados. A utilização de testes de forma sequencial pode aumentar a correta identificação de pacientes com doença hepática, como por exemplo, a testagem para o aumento de pelo menos um destes parâmetros: FAS, globulinas e/ou bilirrubina total, sendo posteriormente testado o aumento de pelo menos 3 destes parâmetros: FAS, AST, GLDH, globulinas e/ou ácidos biliares séricos (tabela 4). A utilização deste método de testagem sequencial permitiu, segundo Durham et al., a correta identificação de 77% dos cavalos com doença hepática (Durham, Smith, & Newton, 2003).

Tabela 4 - Tabela representativa de relação entre combinações de testes. Adaptado de: Durham, Smith, & Newton, 2003.

Combination test	Parameters	Test result	Liver disease diagnosed by biopsy		SN (%)	SP(%)	PPV(%)	NPV(%)	
			Yes	No					
1	$\gamma$ GT $\uparrow$ /TBil $\uparrow$ (n = 75)	$\geq 1$ positive Neither positive	+ -	56 0	18 1	100	5	76	100
2	AP $\uparrow$ /globulins $\uparrow$ /TBil $\uparrow$ (n = 59)	$\geq 1$ positive None positive	+ -	45 2	7 5	96	42	87	71
3	AP $\uparrow$ /GLDH $\uparrow$ /globulins $\uparrow$ / TBA $\uparrow$ /TBil $\uparrow$ (n = 34)	$\geq 3$ positive <3 positive	+ -	16 10	0 8	62	100	100	44
4	AP $\uparrow$ /AST $\uparrow$ /GLDH $\uparrow$ / globulins $\uparrow$ /TBA $\uparrow$ (n = 69)	$\geq 3$ positive <3 positive	+ -	28 23	1 17	55	94	97	42
2 then 4	See above (n = 42)	See above	+ -	27 8	1 6	77	86	96	42

Legenda: SN – Sensibilidade; SP – Especificidade; PPV – Valor preditivo positivo; NPV – Valor preditivo negativo.

Das enzimas derivadas hepáticas (FAS, AST, GGT e GLDH), apenas a FAS e a GGT possuíam concentrações séricas significativamente aumentadas nos animais com doença hepática confirmada. Já um estudo prévio considerava que apenas estas enzimas possuíam valor prognóstico significativo de doença hepática (Durham, Smith, & Newton, 2003).

No entanto, nenhum teste sozinho, combinado ou sequencial teve capacidade de distinguir completamente entre cavalos com e sem doença hepática confirmada por biópsia, sendo que a confiança apenas nos testes não invasivos pode conduzir frequentemente a erros de diagnóstico. Embora a ocorrência de resultados positivos tenha predito de forma confiável a presença de doença hepática, a ocorrência de resultados negativos são indicadores fracos da ausência de doença hepática (Durham, Smith, & Newton, 2003).

As alterações ecográficas quando detetadas são na maioria das vezes não específicas e subjectivas, sendo considerado que cavalos em que sejam observadas essas anomalias possuem 4 vezes menos probabilidade de sobreviver que os que não possuem alterações ecográficas, no entanto não tem aplicação em casos individuais. As alterações ecográficas são observadas sobretudo em pacientes com fibrose hepática moderada, hemossiderose severa e hiperplasia

biliar moderada a severa. Foi reportado o aumento da ecogenicidade hepática em casos de fibrose e lipidose hepática. Não foi até agora possível realizar análises mais aprofundadas entre as alterações ecográficas e as pontuações histológicas (Durham, et al., 2003).

Os trabalhos de Durham *et al.* (2003) foram realizados no intuito de compreender os meios de diagnóstico não invasivos capazes de diagnosticar doença hepática, para que não fosse necessária a realização de biópsia hepática por ser uma técnica invasiva, no entanto a biópsia continua a ser o melhor meio de diagnóstico e prognóstico (Byars, 2003; Durham, et al., 2003).

A biópsia hepática é considerada o método de diagnóstico mais confiável, embora a colheita de amostras possa em certas ocasiões não ser representativa, por exemplo na presença de neoplasias hepáticas focais ou multifocais, pelo que se aconselha sempre ecografia ou laparoscopia como técnicas auxiliares na realização da biópsia. As amostras recolhidas por biópsia possuem resultados histológicos similares às amostras recolhidas por necrópsia, pois a maioria das doenças hepáticas equinas afetam o fígado de forma difusa, tal como foi descrito por Tennant *et al.* (1973) e por West (1996). A possibilidade das alterações bioquímicas séricas precederem as alterações histopatológicas podem conduzir a uma possível insensibilidade da biópsia hepática (Durham, Smith, & Newton, 2003; Tennant, Evans, Schwartz, Gribble, & Kaneko, 1973; West, 1996).

Em termos de prognóstico de sobrevivência foi elaborado um estudo por Dunkel *et al.* (2015), em que através da medição dos ácidos biliares séricos, dos achados histopatológicos e das pontuações histopatológicas se tentou diferenciar entre os sobreviventes e os não sobreviventes (tabela 3). Neste estudo foram observados 81 cavalos, sendo a sobrevivência avaliada a curto prazo (<6 meses) e a longo prazo (>6 meses). As altas concentrações de ácidos biliares séricos estão associadas a inflamação e fibrose, pelo que são indicadores de alteração da função hepática. Pontuações histológicas >2, bem com ácidos biliares >20  $\mu\text{mol/L}$  (se bem que estes últimos em menor grau) são indicadores específicos mas pouco sensíveis de não sobrevivência. Neste estudo 64,3% dos cavalos que não sobreviveram a longo prazo possuíam pontuações histológicas >2, sendo este um teste com um valor-p de <0,001, ou seja, de extrema significância (tabela 5). Neste estudo foi possível determinar que a pontuação histopatológica foi o método com maior especificidade de determinação de sobrevivência a longo prazo, pelo que se torna muito útil na determinação de prognóstico a realização de biópsia hepática (Dunkel, Jones, Pinilla, & Foote, 2015).

Todos estes trabalhos e seus antecessores apenas servem de guia para que o clínico saiba quais os animais que apresentam maior predisposição para doença hepática, tentando diagnosticar e inferir qual o prognóstico do caso clínico para posterior realização de tratamento. A doença hepática é um desafio na prática clínica em equinos, mesmo com todas as importantes ferramentas obtidas nos trabalhos realizados anteriormente (Byars, 2003).

Tabela 5 - Comparação das pontuações histológicas entre sobreviventes e não sobreviventes a curto prazo (<6 meses) e a longo prazo (>6 meses). Adaptado de: Dunkel, Jones, Pinilla, & Foote, 2015.

	Sobreviventes a Curto Prazo (n = 73)						Não Sobreviventes a Curto Prazo (n = 8)					
Pontuação Histológica	0	1	2	3	4	5	0	1	4	8	14	
Número de Animais	52	12	2	5	1	1	2	1	3	1	1	
Porcentagem	90,4%			9,6%			37,5%		62,5%			
	Sobreviventes a Longo Prazo (n = 67)				Não Sobreviventes a Longo Prazo (n = 14)							
Pontuação Histológica	0	1	2	3	0	1	2	3	4	5	8	14
Número de Animais	51	12	1	3	3	1	1	2	4	1	1	1
Porcentagem	95,5%			4,5%	35,7%			64,3%				

## Apresentação de Casos Clínicos

### a) Caso Clínico 1 – Colelitíase

Equino macho castrado, raça Sela Francês, com 16 anos de idade, utilizado em concurso de salto de obstáculos, estabulado em boxe e, correctamente vacinado e desparasitado. História de episódios de icterícia acompanhados por aumento moderado das enzimas hepáticas, não estando associada contudo à manifestação de outros sinais clínicos ou de outros achados nos exames laboratoriais efetuados. Em dentisteria de rotina foi observada icterícia, pelo que se realizaram análises sanguíneas, sendo verificados aumentos de creatinina, bilirrubinas, GGT, FAS e AST (tabela 6).

Tabela 6 – Análises realizadas ao paciente quando se apresentou à consulta.

Parâmetro	Resultado	Valor de referência
<b>Hematologia</b>		
Hematócrito	24,0 %	24,0 – 53,0%
Hemoglobina	9,1 g/dL	8,0 – 19,0 g/dL
Eritrócitos	↓ 5,2 x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	5,5 – 12,9 x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>
Leucócitos	7,6 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	5,4 – 14,3 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Linfócitos	1,5 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	1,50 – 7,70 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Monócitos	0,4 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 1,50 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Neutrófilos	5,6 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	2,30 – 9,60 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Eosinófilos	0,1 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 1,00 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Basófilos	0,0 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 0,50 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Plaquetas	117 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	90 – 350 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
<b>Análises Bioquímicas</b>		
Ureia	39,1 mg/dL	20 – 40 mg/dL
Creatinina	↑ 1,82 mg/dL	0,8 – 1,8 mg/dL
Bilirrubina Total	↑ 18,55 mg/dL	0,5 – 3,5 mg/dL
Bilirrubina Direta	↑ 1,78 mg/dL (± 10% de bil. totais)	(<25% de bil. totais)
Bilirrubina Indireta	↑ 16,77 mg/dL	
AST	↑ 511 U/L	<250 U/L
FAS	↑ 589,1 U/L	<250 U/L
GGT	↑ 466 U/L	<25 UL
Proteínas Totais	7,3 g/dL	5,5 – 7,5 g/dL
Albumina	3,7 g/dL	2,5 – 4,5 g/dL

Nota: Valores de referência para cada parâmetro do laboratório que processou a amostra (DNATech).

O cavalo começou a manifestar sinais clínicos de prostração, anorexia, hipertermia, icterícia marcada e anemia grave. Com base nos achados laboratoriais, sinais clínicos e história pregressa de piroplasmose foi feito o diagnóstico presuntivo de hepatopatia associada a piroplasmose concomitante.

Foi iniciada terapêutica com antibióticos Cefquinoma 1 mg/Kg SID IM (Cobactan®<sup>1</sup>) e Oxitetraclina 5mg/kg SID EV (Engemicina 10% LA®<sup>2</sup>) e protetor hepático à base de Betaína 50 ml SID EV (Ornipural®<sup>3</sup>), associada a fluidoterapia endovenosa de NaCl 0,9% na dose de 6ml/Kg/h durante 2 dias, sendo depois substituída pela dose de manutenção de 2ml/Kg/h. A alimentação foi alterada para uma mistura com um teor de proteínas mais baixo.

O paciente não apresentou melhoras ao fim de 3 dias de tratamento, pelo que foi referenciado para o Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

Foi realizado exame físico tendo o paciente apresentado taquicardia (52bpm), taquipneia (20rpm), hipertermia (39°C) e icterícia marcada visível nas mucosas ocular e gengival. As análises sanguíneas realizadas nesse dia revelaram anemia marcada, monocitose e trombocitopenia, sendo também verificados aumentos de todas as frações de bilirrubina, AST, FAS, GGT e ácidos biliares, bem como aumentos dos tempos de coagulação (tabela 7). Nesse mesmo dia foi pedida análise PCR de hemoparasitas e foi realizada uma avaliação ecográfica.

Tabela 7 - Análises realizadas na chegada do caso clínico 1 à urgência do hospital.

Parâmetro	Resultado	Valor de referência
<b>Hematologia</b>		
Hematócrito	↓ 13,3%	24,0 – 53,0%
Hemoglobina	↓ 5,2 g/dL	8,0 – 19,0 g/dL
Eritrócitos	↓ 3,04 x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	5,5 – 12,9 x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>
Leucócitos	9,6 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	5,4 – 14,3 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Linfócitos	2,2 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	1,50 – 7,70 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Monócitos	↑ 1,8 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 1,50 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Neutrófilos	5,3 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	2,30 – 9,60 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Eosinófilos	0,1 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 1,00 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Basófilos	0,2 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 0,50 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Plaquetas	↓ 68 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	90 – 350 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>

<sup>1</sup> - MSD Animal Health Lda - Edifício Vasco da Gama, nº19; Quinta da Fonte, Porto Salvo; 2770-192 Paço de Arcos

<sup>2</sup> - MSD Animal Health Lda - Edifício Vasco da Gama, nº19; Quinta da Fonte, Porto Salvo; 2770-192 Paço de Arcos

<sup>3</sup> - Vetoquinol S.A. - 70200 Lure; França

Tabela 7 – (Continuação)

<b>Análises Bioquímicas</b>		
Ureia	33,1 mg/dL	20 – 40 mg/dL
Creatinina	1,17 mg/dL	0,8 – 1,8 mg/dL
Bilirrubina Total	↑ 17,99 mg/dL	0,5 – 3,5 mg/dL
Bilirrubina Direta	↑ 5,98 mg/dL (± 33% de bil. totais)	(<25% de bil. totais)
Bilirrubina Indireta	↑ 12,1 mg/dL	
AST	↑ 593 U/L	<250 U/L
FAS	↑ 643,8 U/L	<250 U/L
GGT	↑ 450 U/L	<25 UL
Creatinofosfoquinase-CPK	77 U/L	<130 U/L
Proteínas Totais	6,1 g/dL	5,5 – 7,5 g/dL
Albumina	3,3 g/dL	2,5 – 4,5 g/dL
Ácidos Biliares Séricos	↑ 153,76 µmol/L	<12 µmol/L
<b>Coagulação</b>		
PT	↑ 18,9 segundos	13 – 15 segundos
PTT	↑ 51,1 segundos	25,0 – 45,0 segundos
Tempo de Trombina	↑ 20,6 segundos	15 – 20 segundos
Fibrinogénio	210 mg/dL	200 – 500 mg/dL

Nota: Valores de referência para cada parâmetro do laboratório que processou a amostra (DNATech).

Na avaliação ecográfica foi observado aumento moderado da ecogenicidade do parênquima hepático, de forma heterogénea e difusa, bem como a existência de alguns septos hiperecogénicos finos sobretudo no lobo hepático direito e os bordos hepáticos ligeiramente arredondados do lado esquerdo. A janela de visualização hepática do lado direito era limitada, pelo que se suspeitou de atrofia hepática. O parênquima hepático apresentava globalmente várias estruturas tubulares anecogénicas, não positivas ao fluxo de Doppler (figura 21), pelo que se concluiu tratar do aumento do número de canais biliares, sendo este achado compatível com doença hepática crónica. Os canais biliares apresentavam diâmetros variáveis, sendo o mais largo de cerca de 1cm de diâmetro, com contorno ligeiramente irregular ou sinuoso e parede ligeiramente espessada e hiperecogénica. Na região cranioventral foram observados no interior do lúmen de dois canais biliares estruturas hiperecogénicas de superfície curva e irregular e, apresentando sombra acústica, sendo a do lado esquerdo de cerca de 1,75cm e a do lado direito de cerca de 1,25cm, sendo compatível com colelitíase. Foram também observados outros canais biliares com conteúdo ecogénico mas sem sombra acústica. Ventralmente do lado direito foi observada uma estrutura tubular com cerca de 4cm de diâmetro de conteúdo anecogénico (com reforço posterior), parede fina, lisa e hiperecogénica, negativa ao fluxo Doppler, pelo que se concluiu também tratar provavelmente de um canal biliar dilatado. Foram também avaliados ecograficamente rins, ansas de intestino delgado, cólon ventral e dorsal, parede gástrica e baço,

não se evidenciando anomalias nestas estruturas, no entanto entre o estômago e o baço foi observada uma região heterogénea hiperecogénica. Concluiu-se assim estarmos perante colelitíase associada a colangiohepatite, hepatopatia (ligeira hepatomegália do lado esquerdo e suspeita de atrofia hepática do lado direito) e, suspeita de aderências entre a parede gástrica e esplénica.

Figura 21 - Imagem ecográfica dinâmica com estudo Doppler, sendo perceptíveis 3 estruturas anecogénicas tubulares com fluxo negativo (seta azul), sendo por isso considerados ductos biliares dilatados. Imagem cedida pelo Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa.



A antibioterapia foi mantida com Cefquinoma 1 mg/Kg SID (Cobactan®<sup>4</sup>) e foi iniciada fluidoterapia por meio de cateter jugular com solução de NaCl 0,9% complementada com DMSO (dimetilsulfóxido) na dose de 1g/Kg por dia. A antibioterapia foi realizada no total em 12 dias, tendo sido realizada diariamente nos primeiros 7 dias e depois em dias alternados, tendo a fluidoterapia de manutenção sido descontinuada ao fim de 4 dias.

Nesse mesmo dia recebeu-se o resultado da análise de PCR, tendo sido positiva para a presença de *Theileria* e negativa para a presença de *Babesia* e *Leptospira*, pelo que se reiniciou tratamento com Oxitetraciclina (Engemicina 10% LA®<sup>5</sup>), sendo nos primeiros dois dias na dose de 3 mg/Kg SID EV e progressivamente aumentada até aos 5 mg/Kg, mantendo-se antioterapia com

<sup>4</sup> - MSD Animal Health Lda - Edifício Vasco da Gama, nº19; Quinta da Fonte, Porto Salvo; 2770-192 Paço de Arcos

<sup>5</sup> - MSD Animal Health Lda - Edifício Vasco da Gama, nº19; Quinta da Fonte, Porto Salvo; 2770-192 Paço de Arcos

Cefquinoma (Cobactan®<sup>6</sup>). A dose terapêutica de oxitetraciclina é superior à que foi utilizada no reinício do tratamento por precaução, já que este paciente possuía diminuição da excreção biliar causada por colelitíase.

O cavalo manteve uma frequência cardíaca dentro dos parâmetros considerados fisiológicos, no entanto a temperatura retal oscilava nos primeiros 2 dias entre os 38,1°C e os 38,7°C, tendo diminuído como resposta à administração de um anti-inflamatório de Flunixin Meglumina 1,1 mg/Kg SID EV (Flunixin®<sup>7</sup>). No terceiro dia de internamento o paciente demonstrou desconforto abdominal mais marcado que nos dias anteriores e moderadamente responsivo à administração de anti-inflamatórios. Foram administrados também um protetor gástrico Omeprazol 2 mg/Kg PO SID (Omeprazol Stada®<sup>8</sup>), um protetor hepático à base de Betaína 50mL EV SID (Ornipural®<sup>9</sup>) e pré e probióticos *per os*. Ao fim de 3 dias de internamento o hematócrito já tinha aumentado para 23%, a hemoglobina para 9 g/dL, as proteínas totais aumentaram para 88 g/L, os valores da bilirrubina diminuíram ligeiramente e a concentração de amônia estava dentro dos parâmetros normais.

Uma semana após internamento foi realizado um proteinograma, sendo detetada uma hiperproteinémia de 98 g/L associada a hiperglobulinémia a 5,8 g/dL e o fibrinogénio manteve-se no intervalo de referência a 200 mg/dL.

O cavalo manteve-se estável, tendo retomado o apetite progressivamente. Ao fim de 10 dias a administração de Cefquinoma (Cobactan®<sup>2</sup>) foi substituída por Enrofloxacin 7,5 mg/Kg PO SID (Roxacin®<sup>10</sup>). Ecograficamente, 11 dias depois da primeira avaliação ecográfica, o parênquima hepático apresentava menor ecogenicidade, bem como uma diminuição do diâmetro dos canais biliares, mas o colélito do lado esquerdo (1,75cm) mantinha-se presente. Nas análises laboratoriais realizadas verificou-se o aumento do hematócrito e da hemoglobina; a diminuição das bilirrubinas, proteínas totais e ácidos biliares, sendo que todos estes valores se mantinham elevados; e um aumento importante as enzimas GGT e FAS (tabela 8). O cavalo regressou a casa após melhorias clínicas e laboratoriais.

---

<sup>6</sup> - MSD Animal Health Lda - Edifício Vasco da Gama, nº19; Quinta da Fonte, Porto Salvo; 2770-192 Paço de Arcos

<sup>7</sup> - Norbrook Laboratories Limited - Station Works; Camlough Road, Newry; Co-Down, BT35 6JP; Irlanda do Norte

<sup>8</sup> - Stada Arzneimittel AG. - Stadastasse 2-18. Bad Vilbel - Alemanha

<sup>9</sup> - Vetoquinol S.A. - 70200 Lure; França

<sup>10</sup> - Laboratorios Calier, S.A. - Barcelonès, 26 (El Ramassar); 08520 Les Franqueses del Vallès (Barcelona); Spain

Tabela 8 - Análises realizadas ao paciente a quando da alta do Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, estando apenas representados alguns dos parâmetros analisados.

<b>Parâmetro</b>	<b>Resultado</b>	<b>Valor de referência</b>
Hematócrito	31,5%	24,0 – 53,0%
Hemoglobina	12 g/dL	8,0 – 19,0 g/dL
Proteínas Totais	↑ 8,8 g/dL	5,5 – 7,5 g/dL
Bilirrubina Total	↑ 5,79 mg/dL	0,5 – 3,5 mg/dL
Bilirrubina Direta	↑ 2,29 mg/dL (±40% de bil. totais)	(<25% de bil. totais)
Bilirrubina Indireta	↑ 3,5 mg/dL	
FAS	↑ 1664,9 U/L	<250 U/L
GGT	↑ 889 U/L	<25 UL
Ácidos Biliares Séricos	↑ 120 µmol/L	<12 µmol/L

Nota: Valores de referência para cada parâmetro do laboratório que processou a amostra (DNATech).

O paciente efetuou antibioterapia com Enrofloxacina 40mL PO SID (Roxacin® <sup>11</sup>) até 2 semanas após os valores laboratoriais voltarem a parâmetros normais, devendo realizar-se análises de 15 em 15 dias. A atividade física foi retomada gradualmente, iniciando-se apenas com passo ligeiro em dias alternados. Em termos dietéticos foi aconselhada a disponibilização de feno de boa qualidade, a substituição da ração habitual por uma com baixo teor proteico e lipídico e, uma vez por dia a suplementação com polpa de beterraba. Durante o período de antibioterapia foi ainda aconselhado o uso de pré e probióticos, devido ao uso prolongado de antibióticos.

Realizou-se ecografia de controlo 1 mês após o paciente ter regressado a casa, apresentando o parênquima hepático uma ecogenicidade inferior ao baço, eram visíveis várias estruturas tubulares de conteúdo anecogénico, parede hiperecogénica e ligeiramente espessada, sendo estas imagens compatíveis com ductos biliares dilatados. Durante a realização ecográfica não foram visíveis estruturas hiperecogénicas com sombra acústica como nas avaliações anteriores, não tendo sido possível neste procedimento observar colélitos, no entanto isso não significa a sua ausência.

Este paciente encontra-se estável e sem sinais clínicos, tendo mesmo regressado a provas de saltos de obstáculos.

<sup>11</sup> - Laboratorios Calier, S.A. - Barcelonès, 26 (El Ramassar); 08520 Les Franqueses del Vallès (Barcelona); Spain

#### Discussão:

O sistema biliar nos cavalos tem como particularidade a ausência de vesícula biliar, pelo que a excreção biliar ocorre continuamente através do ducto biliar comum (formado pela convergência dos ductos hepáticos direito e esquerdo). A colelitíase é uma patologia relativamente comum no ser Humano, no entanto é relativamente rara nos equinos, sendo a sua prevalência estimada de apenas 0,08%. A colelitíase é a causa primária de obstrução biliar nos cavalos (Silva *et al.*, 2014).

A colelitíase afeta cavalos normalmente com idade superior a 9 anos de idade, mas pode afetar animais de qualquer idade. Esta patologia tem etiologia desconhecida, no entanto parece ser idêntica ao mecanismo de formação de urólitos, em que detritos celulares ou material mais espesso formam um núcleo em volta do qual ocorre cristalização. São considerados como fatores predisponentes a ascaridíase, estase biliar, infeção bacteriana ascendente, corpos estranhos e alterações na composição biliar. Foram relatadas em casos de colelitíase infeções bacterianas por *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Aeromonas spp.*, *Citrobacter spp.* e *Streptococcus spp.* do grupo D. A colelitíase normalmente não apresenta manifestações clínicas, sendo apenas diagnosticada como achado *post mortem*. No entanto, a presença de icterícia, febre, dor abdominal e a sensibilidade recorrente a fármacos são considerados sinais clínicos possíveis. Como resultado da obstrução biliar provocada em casos de colelitíase podem ser observadas leucocitose, hiperbilirrubinémia com aumento da bilirrubina conjugada, aumento de FAS, GGT, AST e LDH e aumento do fibrinogénio (Silva *et al.*, 2014).

Num cavalo com 20 anos foi descrita a presença de um coledocólito de 7,5cm de diâmetro, apresentando o animal cólica recorrente acompanhada de febre responsiva a terapêutica sintomática, ligeira icterícia e ligeira perda de peso (apesar da sua boa condição corporal). Este animal realizou laparotomia exploratória, da qual culminou a extração cirúrgica do coledocolito. Como achados laboratoriais o animal apresentava hiperbilirrubinémia com aumento de bilirrubina conjugada, aumento de GGT, aumento de FAS, hipoalbuminémia e hiperbulbulinémia. Após resolução cirúrgica, as alterações laboratoriais nas semanas seguintes tenderam a diminuir ou até mesmo a normalizar. Esta patologia deve ser considerada mais seriamente como diagnóstico diferencial de cólica recorrente. Contudo, muitos dos cálculos são radiolucentes pelo que não são visíveis radiograficamente. Ecograficamente a distensão dos ductos biliares bem como o seu espessamento são indicativos de obstrução biliar, podendo em alguns casos ser possível a observação da massa hiperecogénica no interior do ducto biliar dilatado (Green & Davies, 1989).

Tendo em conta os episódios de icterícia que já se tinham verificado anteriormente neste paciente, bem como o facto de se acompanharem de aumento dos valores bioquímicos hepáticos, ter-se-ia justificado uma referenciação para ecografia hepática mais célere, com vista a um diagnóstico precoce da patologia. Caso o diagnóstico ocorresse mais cedo também a terapêutica e as recomendações se teriam iniciado mais cedo, de modo a prevenir a progressão da doença,

bem como as manifestações clínicas. No entanto, a maioria dos aparelhos de ecografia de ambulatório não permitem muitas vezes o diagnóstico deste tipo de alterações hepáticas com precisão.

Este paciente apresentou piroplasmose concomitante com a colelitíase crónica, permitindo assim a deteção da sua patologia hepática e o controlo da hemoparasitose, de modo a neste momento estar confortável e com uma vida ativa. A antibioterapia inicial (Cefquinoma + Oxitetraciclina) não é a mais aconselhável, pois o efeito bactericida da Cefquinoma pode sofrer neutralização por parte de antimicrobianos com ação bacteriostática, tais como as tetraciclina, podendo esta associação ser contraproducente.

## b) Caso Clínico 2 – Tumor Hepático

Um equino macho castrado, de raça Puro Sangue Lusitano (PSL), com 13 anos de idade, estabulado em boxe, foi trazido à consulta com sinais de cólica abdominal persistente. Ao exame físico foram observados vários melanomas na região perianal. O cavalo apresentava uma hipertermia grave (40°C), mucosas pálidas, ligeira icterícia, taquicardia de 96bpm e taquipneia de 20rpm.

Realizou-se palpação transretal sendo perceptível uma massa à esquerda na região abdominal. Foi feita lavagem gástrica por meio de entubação nasogástrica e administrada parafina e água pela sonda. Foi realizada colheita de sangue, verificando-se a diminuição do hematócrito e os aumentos de GGT e proteínas totais (tabela 9), e foi iniciada antibioterapia de largo espectro com Penicilina G procaína (Sorobiótico®<sup>12</sup>), Gentamicina (Gentayet®<sup>13</sup>) e Metronidazol (Flagyl®<sup>14</sup>), e o anti-inflamatório não esteroide Flunixin Meglumina 0,5 mg/Kg BID (Flunixin®<sup>15</sup>).

Tabela 9 - Análises clínicas realizadas na primeira consulta ao paciente.

Parâmetro	Resultado	Valor de referência
Hematócrito	↓ 20%	24,0 – 53,0%
GGT	↑ 216 U/L	<25 U/L
Proteínas Totais	↑ 8 g/dL	5,5 – 7,5 g/dL

Nota: Valores de referência para cada parâmetro do laboratório que processou a amostra (DNATech).

Realizou-se ecografia abdominal, onde foi observada a presença de líquido abdominal livre, suspeitando-se ser resultado de hemorragia interna. Devido ao estado de cólica persistente, com sinais de dor leve a moderada mantidos há mais de 48 horas apesar do tratamento, o paciente foi transferido para o Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa para realizar mais exames complementares.

Na chegada ao hospital o paciente apresentava elevada prostração com sinais de dor abdominal, mucosas muito pálidas, taquicardia de 60bpm, taquipneia de 20rpm e temperatura retal de 38,0°C. Realizou-se auscultação abdominal tendo-se verificado a ausência de motilidade intestinal em todos os quadrantes, pelo que se seguiu para ecografia abdominal.

<sup>12</sup> - CZ Veterinária, S.A. - Apto. 16 – 36400 Porriño (Pontevedra); Espanha

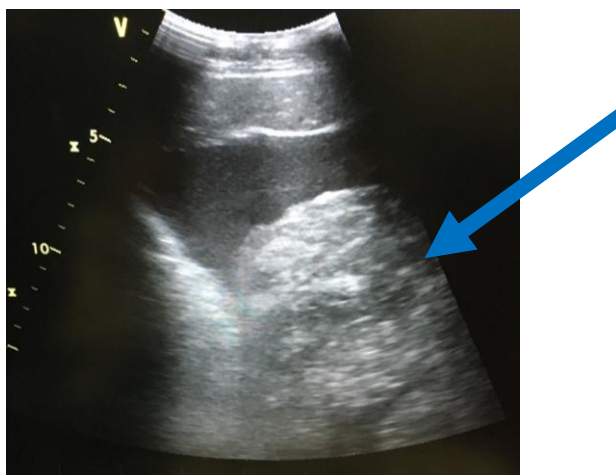
<sup>13</sup> - Laboratorios SYVA, S.A.U. - C/Párroco Pablo Diez, 29; 24010 Leon; España

<sup>14</sup> - Laboratórios Vitória, S.A. - Rua Elias Garcia, 28; 2700-327 Amadora; Portugal

<sup>15</sup> - Norbrook Laboratories Limited - Station Works; Camlough Road, Newry; Co-Down, BT35 6JP; Irlanda do Norte

Ecograficamente foi observado líquido livre na cavidade abdominal em grande quantidade, possuindo este ecogenicidade aumentada e turbulência, pelo que se suspeitou tratar de sangue. Na ecografia foram também visíveis várias imagens compatíveis com a presença de massas abdominais em ambos os lados (figura 22). Foi realizada paracentese abdominal, o que permitiu a recolha de líquido compatível com sangue, pelo que se suspeitou de hemorragia intra-abdominal grave.

Figura 22 - Imagem ecográfica massa hepática (seta azul), podendo-se comparar com o parênquima hepático normal à esquerda da imagem. Imagem cedida pelo Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.



Devido aos resultados do exame clínico e à suspeita de tumor intra-abdominal de mau prognóstico foi decidido fazer eutanásia, tendo sido realizada necrópsia para correto diagnóstico clínico.

Na realização da necrópsia foi confirmada a presença de grande volume de líquido serohemorrágico na cavidade peritoneal. Na zona retroperitoneal esquerda estavam presentes múltiplos melanomas, estando na cavidade pélvica um melanoma com 7cm de diâmetro envolvido pelo peritoneu (massa perceptível à palpação transretal). O baço possuía espessamento fibroso da cápsula, assim como o pericárdio possuía espessamento fibroso, principalmente da serosa visceral. Foi verificada aderência do pulmão à caixa torácica, através de finas vilosidades presentes em toda a superfície pleural. O fígado apresentava uma massa tumoral muito volumosa à direita, com bordos arredondados e múltiplos focos hemorrágicos ao corte (figura 23). O peso total hepático em conjunto com a massa tumoral era de 24,450Kg, sendo o peso hepático normal de cerca de 8Kg, ou seja, a massa tumoral tinha cerca de 16Kg (figura 24).

Figura 23 - Fotografia do fígado do cavalo após necrópsia, de notar do lado direito da foto a massa tumoral em comparação com o restante tecido hepático. Imagem cedida pelo Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.



Figura 24 - Fotografia da massa tumoral hepática do cavalo a ser pesada, tendo 16,700Kg. Imagem cedida pelo Serviço de Cirurgia e Urgências da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.



A avaliação histopatológica da massa tumoral hepática revelou extensos hematomas inseridos entre trabéculas hepáticas dissociadas, com desorganização severa da estrutura lobular. Na avaliação do tecido hepático sem lesão tumoral foi observada infiltração inflamatória intersticial e intralobular por células mononucleadas. Em alguns espaços porta foi verificada fibrose moderada associada a hiperplasia das vias biliares. A massa em questão possuía características de hemangiossarcoma, estando concomitantemente em curso um processo de hepatite intersticial crónica de etiologia não identificada.

Histologicamente confirmou-se que as outras massas tumorais tinham constituição similar entre si, consistindo em proliferação neoplásica de células volumosas muito ricas em pigmento, estando organizadas em toalha contínua, sendo o estroma escasso na neoplasia pélvica e mais

abundante na zona retroperitoneal (melanomas bem diferenciados). A nível cardíaco foram observadas projeções vilosas de tecido fibroso no pericárdio visceral, sendo estas imagens compatíveis com pericardite crónica vilosa e degenerência granulosa dos cardiomiócitos (miocardose). Na polpa esplénica foram observadas zonas extensas com depósito de material acidófilo, sendo este positivo à coloração de vermelho do Congo para a amilóide, estando esta também depositada nos poucos folículos linfóides existentes. Foi observada também fibrose da polpa vermelha (esplenite crónica e amiloidose).

Tendo em conta os achados na necrópsia concluiu-se que o paciente possuía uma grave hemorragia intra-abdominal devido à rotura do hemangiossarcoma hepático, não devendo ter contribuído para a evolução do processo a presença dos melanomas, a amiloidose esplénica e a pericardite vilosa.

#### Discussão:

O hemangiossarcoma é uma neoplasia maligna do endotélio vascular. Nos animais de companhia os tumores do endotélio vascular são relativamente comuns nos cães (principalmente sob a forma de hemangioma, neoplasia benigna) e muito menos comuns em gatos e equinos. O hemangiossarcoma primário pode ter origem em qualquer parte do corpo, estando no cão localizado principalmente no baço, fígado, átrio direito e tecido subcutâneo e no gato localizado principalmente no intestino, fígado, baço, mesentério e omento. Nos cavalos já foram reportados tumores primários no globo ocular, pele, úmero, vértebras torácicas, espaço epidural, músculos e articulações distais dos membros, seios paranasais, cavidade oral, mucosa nasal e formas multicêntricas (Ferrucci, et al., 2012).

A prevalência de hemangiossarcoma nos cavalos é de cerca de 0-0,7%, sendo necessário normalmente um protocolo minucioso para o diagnóstico e o prognóstico é mau. A ecografia é um exame de diagnóstico muito útil no diagnóstico de neoplasia abdominal. Não está descrito nenhum protocolo terapêutico em hemangiossarcoma visceral (Ferrucci, et al., 2012).

Num caso de hemangiossarcoma multicêntrico reportado por Ferrucci *et al.* (2012), o animal apresentava febre intermitente durante 1 mês, perda de peso, intolerância ao exercício, membranas mucosas congestionadas e tempo de repleção capilar aumentado (>2segundos). Na avaliação laboratorial apresentava anemia moderada, hematócrito baixo, hemoglobina baixa, leucocitose por neutrofilia e com linfopénia, proteínas totais perto do limite superior dos parâmetros fisiológicos, hipoalbuminémia e hipergamaglobulinémia, bem como aumentos de GGT e LDH. No exame ecográfico abdominal foi observada, entre o 9º e o 14º espaços intercostais, a presença de uma massa oval de estrutura pouco homogénea medindo 23,9 cm x 18,8 cm, delimitada por uma parede espessa de cerca de 1 cm. A massa apresentava mais

superficialmente conteúdo anecogénico dividido em vários lócus por septos hiperecogénicos, que apresentavam numerosas pequenas áreas de ecogenicidade elevada, artefactos de gás e sombras acústicas. O líquido peritoneal recolhido por abdominocentese possuía elevada contagem neutrofílica, neutrófilos hipersegmentados e várias células mononucleares ativas com eritrofagocitose e muitos glóbulos vermelhos livres, sendo o líquido assético (Ferrucci, et al., 2012).

Neste caso, o animal apresentava hemangiossarcomas localizados em diversos órgãos (fígado, baço, pulmão e parede gástrica), tendo sido eutanasiado por suspeita de hemorragia crónica abdominal por possível rotura de massa, causando hemoperitoneu. A neoplasia hepática do ponto de vista ecográfico possuía como diagnósticos diferenciais linfossarcoma, adenoma e adenocarcinoma, melanoma metastático e hemangiossarcoma. As neoplasias viscerais não são comuns nos cavalos, sendo o hemangiossarcoma particularmente raro, não havendo grande informação publicada sobre esta neoplasia em equinos (Ferrucci, et al., 2012).

Neste caso, tal como no caso documentado por Ferrucci *et al.* (2012), penso que nada poderia ter sido feito para mudar o desfecho do processo. No entanto, no caso da realização de ecografia hepática como prática de rotina para controlo do estado hígido do animal, possivelmente poder-se-ia ter detetado a presença desta massa. A utilização por rotina deste tipo de exames em condições ideais implica a tosquia do animal, o que muitos proprietários rejeitam.

A realização de biópsia hepática poderia ter sido utilizada para classificar a neoplasia presente num estadio inicial, podendo no período antes da rotura da neoplasia ter-se equacionado uma abordagem cirúrgica. No entanto, o risco de provocar hemorragia era muito elevado devido ao tipo de neoplasia presente.

### c) Caso Clínico 3 – Esteatose Hepática

Pónei macho inteiro, com 10 anos de idade e estabulado. Estava a ser medicado em casa pelos proprietários, sem aconselhamento veterinário, para cólica intermitente há 2 dias acompanhada de anorexia, com Metamizol sódico monohidratado 20mg/Kg SID EV (Vetalgin®<sup>16</sup>) e Flunixin Meglumina 1,1 mg/Kg SID EV (Flunixin®<sup>17</sup>). Na consulta o animal manifestava sinais de incoordenação motora (ataxia), alterações comportamentais e do estado mental e reações exageradas a estímulos. O paciente realizava *head pressing* (figura 25-C) e andava sem rumo dentro de boxe. Em marcha apresentava ataxia principalmente dos membros posteriores (figura 25-A), acabando por perder o equilíbrio e reagir de forma exuberante (figura 25-B). Realizava movimentos repetitivos com a cabeça (para cima e para baixo) como se estivesse a comer, mesmo sem nada na boca.

No exame físico tinha temperatura rectal de 37,9°C, frequência cardíaca de 50bpm, frequência respiratória de 18rpm e mucosas ictéricas. Devido ao comportamento e dimensões do animal não foi possível ao clínico a realização de palpação retal.

Figura 25 - Imagens de alguns sinais clínicos apresentados pelo paciente. Fotos obtidas a partir de vídeos cedidos pela veterinária assistente.



Legenda: A – ataxia principalmente dos membros posteriores; B – reação exacerbada a estímulo habitual; C – *head pressing*.

Devido à zona geográfica em questão (Algarve) e estação do ano (Outono) suspeitou-se de Vírus da Febre do Nilo Ocidental (WNV), pelo que se realizou serologia para pesquisa de

<sup>16</sup> - MSD Animal Health Lda - Edifício Vasco da Gama, nº19; Quinta da Fonte, Porto Salvo; 2770-192 Paço de Arcos

<sup>17</sup> - Norbrook Laboratories Limited - Station Works; Camlough Road, Newry; Co-Down, BT35 6JP; Irlanda do Norte

anticorpos de WNFV e herpes vírus (HVE). Realizou-se também hemograma, ionograma e bioquímicas sanguíneas, tendo-se verificado neutrofilia, aumento dos triglicéridos, GGT e cloretos (tabela 10).

Tabela 10 - Análises realizadas ao paciente na primeira consulta.

Parâmetro	Resultado	Valor de referência
<b>Hematologia</b>		
Hematócrito	44,6 %	24,0 – 53,0%
Hemoglobina	16,7 g/dL	8,0 – 19,0 g/dL
Eritrócitos	10,09 x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	5,5 – 12,9 x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>
Leucócitos	13,9 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	5,4 – 14,3 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Linfócitos	1,5 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	1,50 – 7,70 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Monócitos	0,5 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 1,50 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Neutrófilos	↑ 11,7 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	2,30 – 9,60 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Eosinófilos	0,0 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 1,00 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Basófilos	0,1 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 0,50 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Plaquetas	267 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	90 – 350 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
<b>Análises Bioquímicas</b>		
Triglicéridos	↑ 537 mg/dL	100 – 500 mg/dL
GGT	↑ 34 U/L	<25 U/L
Proteínas Totais	5,6 g/dL	5,5 – 7,5 g/dL
Ureia	24,0 mg/dL	20 – 40 mg/dL
Creatinina	1,61 mg/dL	0,8 – 1,8 mg/dL
<b>Ionograma</b>		
Sódio (Na <sup>+</sup> )	143 mmol/L	125 – 150 mmol/L
Potássio (K <sup>+</sup> )	3,58 mmol/L	2,8 – 4,5 mmol/L
Cloretos (Cl <sup>-</sup> )	↑ 103 mmol/L	90 – 102 mmol/L

Nota: Valores de referência para cada parâmetro do laboratório que processou a amostra (DNATech).

As sorologias de WNFV e HVE foram negativas, tendo-se chegado ao diagnóstico de hiperlipêmia com base nos resultados sanguíneos obtidos, provavelmente secundária a cólica e anorexia.

Por opção do proprietário o animal não foi enviado para unidade hospitalar e manteve-se o tratamento em ambulatório, mesmo sabendo da eventual necessidade cirúrgica da cólica em questão e do prognóstico reservado do tratamento da hiperlipêmia em ambulatório.

Iniciou-se terapêutica sintomática com anti-inflamatórios não esteroides, DMSO 0,5 g/Kg SID e Flunixin Meglumina 0,5 mg/Kg BID (Flunixin®<sup>18</sup>), e antibioterapia de largo espectro com

<sup>18</sup> - Norbrook Laboratories Limited - Station Works; Camlough Road, Newry; Co-Down, BT35 6JP; Irlanda do Norte

Cefquinoma 1 mg/Kg SID (Cobactan®<sup>19</sup>), Heparina 25000UI SC SID (Heparina Sódica B Braun®<sup>20</sup>) e fluidoterapia de manutenção com Soro Glucosado a 5% na dose de 6ml/kg/h.

Foi estimulada a ingestão pela oferta de diferentes tipos de alimento (forragem verde, forragem seca, concentrados e farelos) e também administrada comida líquida por sonda nasogástrica, o que se revelou complicado pelo processo gastrointestinal concomitante.

O paciente continuou sem demonstrar melhorias clínicas com a terapêutica em curso, tendo começado a demonstrar sinais de grande prostração, pelo que se realizaram novas análises após 5 dias, sendo detetada linfopenia, hipoproteinemia e aumentos de FAS, AST, GGT, cloretos e cálcio (tabela 11).

Tabela 11 - Valores das análises realizadas ao paciente 5 dias após a primeira consulta.

<b>Parâmetro</b>	<b>Resultado</b>	<b>Valor de referência</b>
<b>Hematologia</b>		
Hematócrito	51,9%	24,0 – 53,0%
Hemoglobina	↑ 19,7 g/dL	8,0 – 19,0 g/dL
Eritrócitos	11,95 x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	5,5 – 12,9 x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>
Leucócitos	11,3 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	5,4 – 14,3 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Linfócitos	↓ 1,4 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	1,50 – 7,70 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Monócitos	0,2 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 1,50 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Neutrófilos	9,6 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	2,30 – 9,60 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Eosinófilos	0,0 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 1,00 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Basófilos	0,1 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 0,50 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
<b>Análises Bioquímicas</b>		
Bilirrubina Total	0,51 mg/dL	0,5 – 3,5 mg/dL
Triglicéridos	147 mg/dL	100 – 500 mg/dL
GGT	↑ 54 U/L	<25 U/L
Proteínas Totais	↓ 5,2 g/dL	5,5 – 7,5 g/dL
FAS	↑ 792,0 U/L	<250 U/L
AST	↑ 875 U/L	<250 UL
<b>Ionograma</b>		
Sódio (Na+)	140 mmol/L	125 – 150 mmol/L
Potássio (K+)	3,4 mmol/L	2,8 – 4,5 mmol/L
Cloretos (Cl-)	↑ 107 mmol/L	90 – 102 mmol/L
Cálcio	↑ 11,3 mg/dL	8,8 – 10,8 mg/dL

Nota: Valores de referência para cada parâmetro do laboratório que processou a amostra (DNATech).

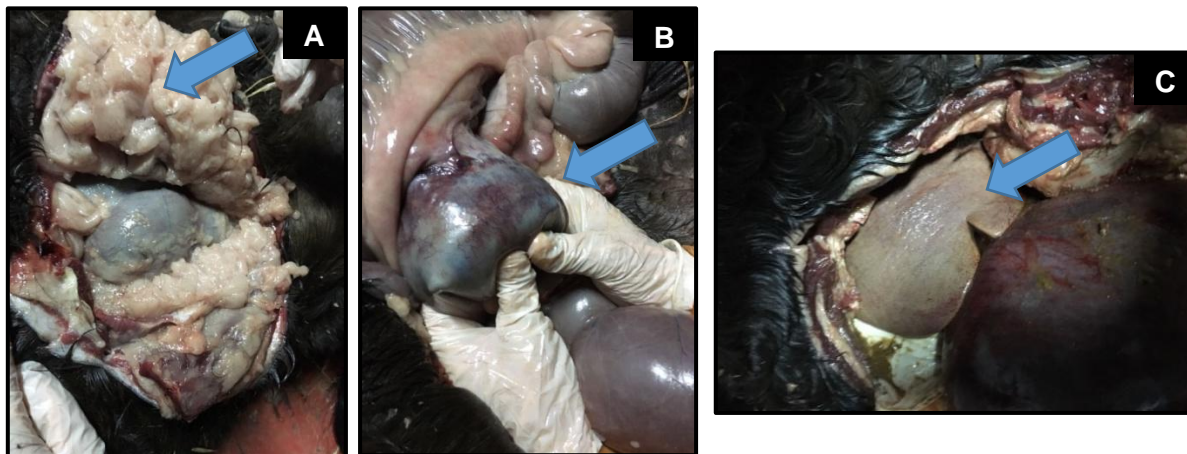
O paciente apresentou melhorias significativas dos sinais neurológicos 8 dias após o início dos sinais clínicos, no entanto acabou por morrer ao fim de 12 dias, tendo-se procedido à

<sup>19</sup> - MSD Animal Health Lda - Edifício Vasco da Gama, nº19; Quinta da Fonte, Porto Salvo; 2770-192 Paço de Arcos

<sup>20</sup> - B. Braun Medical Lda. – Estrada Consiglieri Pedroso, 80; Queluz de Baixo; 2730-053 Barcarena; Portugal

necrópsia para determinação da patologia em curso (figura 26). Na realização da necrópsia “a campo” foi encontrado um enterólito de grandes dimensões no lúmen do cólon dorsal esquerdo, apresentando congestão intestinal nessa zona (figura 26 – B). O fígado apresentava coloração pálida, sendo muito friável ao toque, pelo que se recolheram amostras para histopatologia (figura 26 – C).

Figura 26 - Fotografias da necrópsia efetuada “a campo”. Fotos cedidas pelo clínico.



Legenda: A – Fotografia após abertura abdominal, sendo visível grande quantidade de gordura abdominal (seta).  
B – Fotografia da porção de cólon dorsal esquerdo com enterólito no seu interior (seta).  
C – Fotografia hepática (seta), notando-se coloração pálida na superfície do órgão.

Histologicamente todos os fragmentos de fígado exibiam marcada esteatose dos hepatócitos, afetando praticamente todas as células, concluindo-se tratar de esteatose hepática difusa. Estas células surgiam preenchidas por vacúolo único com o núcleo empurrado para a periferia.

O fragmento de cólon dorsal direito apresentava necrose da mucosa, com congestão acentuada e múltiplos vasos linfáticos, deformando a túnica por espessamento severo. Não se identificaram agentes microbianos, pelo que se concluiu tratar de uma inflamação necrótico-edematosa envolvendo a formação de múltiplos trombos.

Neste caso clínico concluiu-se que o paciente apresentava sinais clínicos de encefalopatia hepática secundária a lipidose hepática associada à presença de enterólito, que provocou obstrução do lúmen intestinal com enfarte vascular. A conjugação de todos estes fatores permitiu a entrada em circulação de neurotoxinas e a manifestação clínica de encefalopatia hepática.

#### Discussão:

A esteatose hepática equina está associada a hiperlipémia, devido a alteração do metabolismo lipídico. A hiperlipémia ocorre com frequência secundariamente a um processo de patologia primário que provoque um balanço energético negativo secundário a anorexia, como acontece em casos com sintomatologia de cólica (Meyer & Walton, 2013).

A hiperlipidémia equina é uma doença peculiar que ocorre devido a dietas prolongadas deficientes em carboidratos, quer devido a forragem de má qualidade, quer devido a anorexia. Os animais afetados geralmente apresentam anorexia, possuindo concentrações plasmáticas de glicerol acima de 2mmol/L e de lípidos totais acima de 5mmol/L, sendo estes valores sugestivos de diagnóstico. O plasma sanguíneo normalmente apresenta uma opacidade leitosa/esbranquiçada, sendo um sinal de alarme para o clínico. O prognóstico é muito mais favorável em animais que retomam a alimentação (Kerr, 2008).

Os burros e pôneis têm como fatores predisponentes de hiperlipémia o stress e obesidade, provocando ambos resistência à insulina, sendo provavelmente este um fator predisponente. Deve sempre eliminar-se a causa primária para que o tratamento seja eficaz (Meyer & Walton, 2013).

O tratamento mais eficaz descrito baseia-se na administração EV de 5000UI de heparina dissolvidas em 10ml de solução salina BID, pois potencializa a enzima lipoproteína lípase, conduzindo a uma reversão da hiperlipidémia. Este tratamento deve ser efetuado até que a concentração plasmática de glicerol seja inferior a 1mmol/L. A administração de glucose através de sonda nasogástrica também é benéfica e alguns autores recomendam a sua administração em dias alternados com galactose (Kerr, 2008).

Cavalos que realizaram exercícios intensos (como por exemplo provas de endurance) possuem aumentos plasmáticos da concentração de glicerol (não devido a triglicéridos mas a glicerol livre), pelo que este achado nestes casos não tem relevância clínica (Kerr, 2008).

Os sinais clínicos de esteatose hepática são inespecíficos pelo que o seu diagnóstico pode ser desafiante. A ecografia pode ser um bom meio de diagnóstico. No estudo retrospectivo realizado por Paulussen *et al.* (2017), foram descritos aumentos de ecogenicidade de modo homogêneo na gordura extraperitoneal ventral, perirrenal, mesentérica, coronária e mediastínica caudal, bem como o aumento do fluido circundante. Como achados consistentes foram descritas as diminuições de hematócrito, vitamina E e selênio e, os aumentos de creatina quinase e de lactato desidrogenase. O tratamento baseado na administração de vitamina E e selênio (inicialmente por via intramuscular e posteriormente por via oral) acompanhado por tratamento anti-inflamatório durante 1-4 semanas (dexametasona ou prednisolona), obteve uma taxa de sobrevivência de cerca de 75%, demorando a recuperação total aproximadamente 2 a 6 meses (Paulussen, et al., 2017).

A administração de glucose associada à administração concomitante de insulina também é uma terapêutica muito utilizada de modo a tentar inverter o balanço energético negativo. No

entanto, os pôneis possuem como adaptação metabólica a resistência à insulina, resultando este facto da seleção natural, para que possam viver em condições climatéricas desfavoráveis, com clima severo ou com escassez de alimento. Esta particularidade dos pôneis é uma desvantagem para aqueles que recebem maiores quantidades de alimento de elevada qualidade e que realizam baixos níveis de atividade física (Gobesso, Etchichury, & Tosi, 2009).

Sendo este um pônei macho, apesar dos sinais de cólica, foi sempre estimulado o apetite com vários tipos de alimento, atendendo ao risco inerente deste tipo de animais desenvolverem hiperlipémia. Apesar disso a anorexia manteve-se e o pônei desenvolveu hiperlipémia e, conseqüentemente lipidose hepática.

Ecograficamente talvez pudesse ter sido detetada a presença do enterólito para que pudesse ser removido cirurgicamente antes de ocorrer descompensação do estado clínico. Neste caso os proprietários não quiseram referenciar o animal para a realização de mais exames e eventual cirurgia. A ecografia poderia também ter sido útil no diagnóstico de esteatose hepática.

Neste caso o fator de stress que despoletou a hiperlipidémia terá sido a cólica, não só pela dor que provocava no animal, mas também pelo balanço energético negativo causado pela não ingestão de alimento.

#### d) Caso Clínico 4 – Intoxicação alimentar

Equino macho inteiro, de raça PSL, com 1 ano de idade, em pastagem e sem historial clínico anterior. Foi apresentado à consulta com sinais de prostração, anorexia, ataxia e icterícia, frequência cardíaca de 102bpm, frequência respiratória de 32rpm, temperatura de 37,7°C, auscultação abdominal sem alterações e mucosas com halo endotóxico.

Realizou-se colheita de sangue para análise, tendo-se verificado leucopénia, linfopénia, neutropénia e trombocitopénia, bem como aumento das bilirrubinas (totais, direta e indireta), GGT e ácido láctico (tabela 12).

Tabela 12 - Análises realizadas ao paciente na primeira consulta.

Parâmetro	Resultado	Valor de referência
<b>Hematologia</b>		
Hematócrito	↓ 23,3%	24,0 – 53,0%
Hemoglobina	8,7 g/dL	8,0 – 19,0 g/dL
Eritrócitos	5,75 x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	5,5 – 12,9 x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>
Leucócitos	↓ 2,5 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	5,4 – 14,3 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Linfócitos	↓ 1,2 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	1,50 – 7,70 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Monócitos	0,3 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 1,50 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Neutrófilos	↓ 0,9 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	2,30 – 9,60 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Eosinófilos	0,0 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 1,00 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Basófilos	0,1 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	0,00 – 0,50 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Plaquetas	↓ 39 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	90 – 350 x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
<b>Análises Bioquímicas</b>		
Ureia	28,7 mg/dL	20 – 40 mg/dL
Creatinina	0,91 mg/dL	0,8 – 1,8 mg/dL
Bilirrubina Total	↑ 8,11 mg/dL	0,5 – 3,5 mg/dL
Bilirrubina Direta	↑ 0,67 mg/dL (± 8% de bil. totais)	(<25% de bil. totais)
Bilirrubina Indireta	↑ 7,44 mg/dL	
Proteínas Totais	5,6 g/dL	5,5 – 7,5 g/dL
GGT	↑ 62 U/L	<25 U/L
Ácido láctico*	↑ 3,4 mmol/L	<1 mmol/L*

Nota: Valores de referência para cada parâmetro do laboratório que processou a amostra (DNATech).

\* Southwood, 2013

Com base no resultado das análises e nos sinais clínicos suspeitou-se de doença hepática aguda, eventualmente por intoxicação por alcalóides de pirrolizidina presentes na pastagem.

Realizou-se entubação nasogástrica, tendo-se administrado carvão ativado (na dose de 2g/Kg). Iniciou-se terapêutica através de fluidoterapia semi-intensiva com Lactato de Ringer na

dose de 6ml/Kg/h suplementado com 0,4g/Kg de DMSO SID EV durante 4 horas, sendo posteriormente apenas realizada fluidoterapia de manutenção de 2ml/Kg/h; Dexametasona 0,02 mg/Kg SID EV (Rapidexon®<sup>21</sup>); Flunixin meglumina 1,1 mg/Kg SID EV (Flunixin®<sup>22</sup>); e Butorfanol 0,1 mg/Kg SID EV (Butomidor®<sup>23</sup>).

Apesar da terapêutica instituída a sintomatologia do animal agravou-se, evidenciando também sinais de encefalopatia hepática. O paciente acabou por morrer 36 horas após o início da sintomatologia, tendo-se então procedido à necrópsia do animal. A necrópsia foi efetuada pelo clínico “a campo”, sendo recolhida uma amostra hepática e enviada para análise histopatológica.

Histologicamente o fragmento hepático apresentava degenerescência dos hepatócitos, surgindo com marcada desagregação e perfil celular aberrante, poliédrico ou alongado. Eram frequentes células de núcleo particularmente volumoso (megalócitos). O tecido periportal e interlobular apresentavam infiltração inflamatória por células mononucleadas. Foram observados ocasionais êmbolos bacterianos sem envolvimento inflamatório, pelo que se concluiu que ocorreram por circulação bacteriana *pos mortem*. Tendo em conta os achados microscópicos concluiu tratar-se de uma hepatopatia degenerativa grave, provavelmente por intoxicação por alcalóides de pirrolizidina.

#### Discussão:

Tendo em conta a possível presença de plantas tóxicas nas pastagens portuguesas penso ser importante informar os clientes da sua existência, tais como o *Senecio vulgaris* (figura 27).

Existem muitas plantas que possuem alcalóides de pirrolizidina, tais como as espécies de *Senecio*, *Crotalaria*, *Amsinkia*, *Heliotropium* e *Cynoglossum*. Os alcalóides são degradados no fígado em pirrols. Estas substâncias provocam ligações cruzadas no DNA, prevenindo a regeneração, bem como a síntese de proteínas e enzimas.

As enzimas hepáticas normalmente estão elevadas antes do aparecimento de sinais clínicos. Os indicadores mais sensíveis de intoxicação por alcalóides de pirrolizidina são as concentrações séricas de GGT, FAS e ácidos biliares, pois esta é uma doença tipicamente crónica. Num estudo a concentração sérica de GGT demonstrou ser um teste relativamente sensível (75%) e específico (90%) para a deteção de intoxicação subclínica por alcalóides de pirrolizidina. No mesmo estudo a FAS demonstrou ser um teste menos sensível (58%) mas mais específico (100%). Em alguns ensaios realizados com póneis verificou-se que apenas começaram

---

<sup>21</sup> - Eurovet Animal Health B.V. - Handelsweg 25, 5531 AE Bladel; Países Baixos

<sup>22</sup> - Norbrook Laboratories Limited - Station Works; Camlough Road, Newry; Co-Down, BT35 6JP; Irlanda do Norte

<sup>23</sup> - Plurivet-Veterinária e Pecuária Lda - Rua Prof. Manuel Bernardes das Neves nº30 Loja; 2070-112 Cartaxo

a desenvolver doença um ano após a ingestão de alcalóides ter cessado, pelo que a janela temporal de determinação do período e local de intoxicação são muito amplos. (Meyer & Walton, 2013; Pearson, 1999)

Estando em pastoreio muitos animais podem iniciar processos hepáticos subclínicos pela ingestão de plantas tóxicas, apenas manifestando sintomatologia evidente quando o processo está demasiado avançado e com poucas hipóteses de tratamento de sucesso. Desta forma torna-se importante e interessante o despiste de situações subclínicas através do doseamento de algumas enzimas hepáticas de forma profiláctica.

No exame pós mortem poderia ter sido realizado exame toxicológico para confirmação do diagnóstico, baseando-se este na pesquisa no tecido hepático do seu metabolito pirrol através de análise química, no entanto raramente é efetuada (Roder, 2002).

Figura 27 - Imagem de *Senecio vulgaris*. Adaptado de: Pearson, 1999.



## Bibliografia

Abutarbush, S. M., & Carmalt, J. L. (2008). *Equine Endoscopy and Arthroscopy for the Equine Practitioner*. Jackson: Teton NewMedia.

Barton, M. H. (2010). Disorders of the Liver. In S. M. Reed, W. M. Bayly, & D. C. Sellon, *Equine Internal Medicine* (Third Edition ed., pp. 939-975). St. Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier.

Brokenshire-Dyke, L. (24 de 04 de 2014). Liver Disease in the Horse. *Veterinary - Liver Disease*, pp. 20-21.

Budras, K.-D., Sack, W. O., & Röck, S. (2009). *Anatomy of the Horse - with Aaron Horowitz and Rolf Berg* (Fifth, revised edition ed.). Hannover, Germany: Schlütersche.

Bushong, S. C. (2010). *Ciência Radiológica para Tecnólogos - Física, Biologia e Proteção* (9ª Edição ed.). Houston, Texas: Elsevier.

Byars, T. D. (2003). Liver Disease: Contributions to Diagnostic and Prognostic Aids. *Equine Veterinary Journal*, 522-523.

Carlson, K., Chaffin, K., Corapi, W., Snowden, K., & Schmitz, D. (2011). Starry Sky Hepatic Ultrasonographic Pattern in Horses. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, Vol. 52, No. 5, 568-572.

Divers, T. (2015a). Equine Hepatic Encephalopathy. In S. R. Martin Furr, *Equine Neurology - Second Edition* (pp. 343-348). Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd.

Divers, T. (2015b). The Equine Liver in Health and Disease. *AAEP Proceedings Vol.61*, pp. 66-103.

Dunkel, B., Jones, S., Pinilla, M. J., & Foote, A. K. (2015). Serum Bile Acid Concentrations, Histopathological Features, and Short-, and Long-term Survival in Horses with Hepatic Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 644-650.

Durham, A. E., Newton, J. R., Smith, K. C., Hillyer, M. H., Smith, M. R., & Marr, C. M. (2003). Retrospective analysis of historical, clinical, ultrasonographic, serum biochemical and

- haematological data in prognostic evaluation of equine liver disease. *Equine Veterinary Journal*, 542-547.
- Durham, A., Smith, K., & Newton, J. (2003). An evaluation of diagnostic data in comparison to the results of liver biopsies in mature horses. *Equine Veterinary Journal*, 554-559.
- Ferrucci, F., Vischi, A., Zucca, E., Stancari, G., Boccardo, A., Rondena, M., . . . Ferro, E. (2012). Multicentric Hemangiosarcoma in Horse: A Case Report. *Journal of Equine Veterinary Science*, 65-71.
- Gobesso, A. A., Etchichury, M., & Tosi, H. (2009). Resposta Plasmática de Glicose e Insulina em Eqüinos Alimentados com Diferentes Fontes de Amido. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 324-331.
- Green, D. S., & Davies, J. V. (1989). Sucessful Choledocholithotomy in a horse. *Equine Veterinary Journal*, 464-467.
- Hornof, W. J., & Baker, D. G. (1986). Biliar Kinetics of Horses as Determined by Quantitative Nuclear Scintigraphy. In *Veterinary Radiology* (Vol. 27, pp. 85-88).
- Hurcombe, S. (2007). Equine Hepatic Encephalopathy. In M. Furr, & S. Reed, *Equine Neurology*. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Johns, I. C., & Miles, A. (2016). Ultrasonographically visible hepatic location in clinically normal horses. *Australian Veterinary Journal*, 6, 192-196.
- Johns, I. C., & Sweeney, R. W. (2008). Coagulation Abnormalities and Complications after Percutaneous Liver Biopsy in Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 185-189.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2013). Órgãos Associados ao Trato Digestivo. In L. C. Junqueira, & J. Carneiro, *Histologia básica - Texto e Atlas* (12ª Edição ed.).
- Kerr, M. G. (2008). Bilirrubin and Fat Metabolism. In M. G. Kerr, *Veterinary Laboratory Medicine* (pp. 127-134).
- Lencioni, R., Cioni, D., & Bartolozzi, C. (2005). *Focal Liver Lesions - Detection, Characterization, Ablation*. New York: Springer.
- Lien, L., Loly, S., & Ferguson, S. (2014). *Large Animal Medicine for Veterinary Technicians*. Oxford: Wiley Blackwell.

- Liphook Equine Hospital. (2012). Investigating Liver Disease. In *Liphook Equine Hospital - Lab Book*.
- Mair, T. S. (1997). Ammonia and encephalopathy in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 29, 1-2.
- Meyer, D. J., & Walton, R. M. (2013). The Liver. In R. M. Walton, *Equine Clinical Pathology* (pp. 71-86). New York, USA: Wiley-Blackwell.
- Morandi, F., Frank, N., Avenell, J., & Daniel, G. B. (2005). Quantitative Assessment of Hepatic Function by Means of <sup>99m</sup>Tc-Mebrofenin in Healthy Horses. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 751-755.
- Nout, Y. S. (2011). Clinical Commentary - Gait deficits in liver disease: Hepatic encephalopathy and hepatic myelopathy. *Equine Veterinary Education*, 23, 11-13.
- Parraga, M. E., Carlson, G. P., & Thurmond, M. (1995). Serum Protein Concentrations in Horses With Severe Liver Disease: A Retrospective Study and Review of the Literature. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 9, 154-161.
- Paulussen, E., Lefère, L., Bauwens, C., Broux, B., Clercq, D. D., & Loon, G. v. (2017). Yellow Fat Disease (Steatitis) in 20 equids: Description of Clinical and Ultrasonographic Findings. *Equine Veterinary Education*.
- Pearson, E. G. (1999). Liver disease in the mature horse. *Equine Veterinary Education*, 11, 87-96.
- Queiroz, D. J., Dias, D. P., Gravena, K., & Neto, J. C. (2016). Afecções Hepáticas e seus Principais Métodos de Diagnóstico em Equinos. *Revista Investigação Medicina Veterinária*, 15, 14-18.
- Roder, J. D. (2002). *Manual de Toxicología Veterinária*. Barcelona: Multimedica Ed. Vet.
- Silva, V. C., Magalhães, J. F., Ecco, R., Faleiros, R. R., & Guedes, R. M. (2014). Pathological Findings of Cholelithiasis in Two Horses. *Brasilian Journal of Veterinary Pathology*, 35-37.
- Slovis, N. (2014). Ultrasonography of the Liver, Spleen, Kidney, Bladder, and Peritoneal Cavity. In J. A. Kidd, K. G. Lu, & M. L. Frazer, *Atlas of Equine Ultrasonography* (pp. 409-414). Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd.

Smith, M. R., Stevens, K. B., Durham, A. E., & Marr, C. M. (2003). Equine hepatic disease: the effect of patient- and case-specific variables on risk and prognosis. *Equine Veterinary Journal*, 35, 549-552.

Southwood, L. L. (2013). Appendix C - Normal Ranges for Hematology and Plasma Chemistry and Conversion Table Units. In L. L. Southwood, *Practical Guide to Equine Colic* (First Edition ed., pp. 339-342). John Wiley & Sons, Inc.

Tennant, B. C., Evans, C., Schwartz, L., Gribble, D., & Kaneko, J. (1973). Equine Hepatic Insufficiency. *Vet. Clin. N. Am.*, 279-289.

West, H. J. (1996). Clinical and Pathological Studies in Horses with Hepatic Disease. *Equine Veterinary Journal*, 146-156.