

COMPORTAMENTO DAS BILIRRUBINAS EM BOVINOS INTOXICADOS  
EXPERIMENTALMENTE PELO TETRA-CLORETO DE CARBONO<sup>(1)</sup>

Eduardo Cavalheiro Jardim\*

Suzete Silveira Fichtner\*\*

Paulo Roberto Figueiredo da Silva\*

INTRODUÇÃO

A complexidade dos processos metabólicos de que o fígado participa direta ou indiretamente tem levado inúmeros pesquisadores a fixarem suas atividades no domínio comportamental deste órgão. Todavia, a abundante bibliografia a respeito do assunto não revela apenas a riqueza de aspectos pelos quais pode-se abordar o funcionamento do fígado, mas leva a crer também que muitas pesquisas até então executadas não respondem ainda de forma correta à complexidade funcional que caracteriza o comportamento hepático.

CORNELIUS (1960), in KANEKO & CORNELIUS (1970), salienta que um único teste não é suficiente para termos a impressão do estado funcional do fígado.

De outra parte não se pode deixar de assinalar que uma ou mais das enzimas presentes no soro podem estar em níveis indicativos de vários tipos de função hepática, o que torna necessária a complementação com outros testes que permitam a segura indicação do tipo de lesão hepática observada. Assim, MORGAN (1969) afirmou que o aumento da bilirrubina total ocorre em todos os tipos de alterações

---

(1) Recebido para publicação em Dezembro de 1978.

(\*) Docentes da Universidade Federal de Goiás.

(\*\*) Pesquisador da Empresa Goiana de Pesquisa Agropecuária - (EMGOPA).

hepáticas e que o aumento da bilirrubina direta está presente nos processos de obstrução biliar, enquanto que o aumento da indireta, em tese, é devida à alterações hemolisantes. ISHMAEL & GOPINATH (1972) também assinalaram a importância da avaliação dos níveis de bilirrubina nos animais intoxicados, procurando relacionar o local da lesão hepática com a hiperbilirrubinemia observada.

GARNER (1952) cita como valores normais para a bilirrubina de 0,0 a 1,4 mg/100 ml de soro sanguíneo. REES & SINHA (1960) observaram que os animais intoxicados com tetracloreto de carbono apresentavam variação nos níveis de bilirrubina sanguínea, encontrando, 12 horas após a dosificação, o valor médio de 1,4 mg/100 ml de soro; 48 horas após - 0,5 mg/100 ml de soro e 96 horas o valor médio de 0,3 mg/100 ml de soro. Assinalaram ainda que os níveis séricos de bilirrubina foram muito baixos nos animais intoxicados experimentalmente com esta droga, variando os valores com o tempo de corrido após a dosificação. BENEDECK (1961) encontrou, em 19 vacas com intensa degeneração hepática, valores de 0,2 a 2,5 mg/100 ml de soro, e em 14 vacas intoxicadas com tetracloreto de carbono o valor de 2,5 mg/100 ml de soro. HANSEN (1964) considerou como valor normal para a bilirrubina total 0,19 mg/100 ml de soro sanguíneo. FORD & LAWRENCE (1965) verificaram que os animais intoxicados experimentalmente pelo tetracloreto de carbono apresentavam as lesões hepáticas centrolobulares bem definidas. ROSENBERGER (1966) considerou normais os valores séricos de bilirrubina (mg/100 ml de soro): bilirrubina total - 0,2 e bilirrubina direta - 0,2. Além disso, ele afirma que os valores sofrem a influência de diversos fatores, salientando as técnicas utilizadas, as condições de vida dos animais, entre outras. EL AMROUSI *et alii* (1968) verificaram que os níveis séricos de bilirrubina são tão mais elevados nos animais jovens do que nos adultos, encontrando os seguintes valores considerados normais (mg/100 ml de soro): machos de 1 a 2 meses de idade: 0,76; machos de 1 a 2 anos de idade: 0,67 e fêmeas adultas: 0,66.

KANEKO & CORNELIUS (1970) salientaram que a via metabólica de glucoronato envolve a formação do UDPG que

é um intermediário na glicogênese, com a reação requerendo NAD<sup>+</sup> (DPN<sup>+</sup>) como cofator, com a formação do ácido difosfoglu corônico e o NADH (DPNH). O UDPGA está envolvido em diversas reações de conjugação nos animais, destacando-se a formação do diglucoronato de bilirrubina. Afirmaram ainda que os ní veis de bilirrubina no sangue estão diretamente aumentados nas alterações difusas e de intensidade média.

GOPINATH & FORD (1970) encontraram valores de bilirrubina total variando de 2,8 a 5,0 mg/100 ml de soro em animais intoxicados experimentalmente com alfa-naftil isotiocianato (ANIT), com as maiores concentrações presentes nos a nimais que apresentaram as lesões hepáticas mais intensas.

CAPLE & HEATH (1971) verificaram que os ovi nos dosificados com tetracloreto de carbono apresentavam o fígado com necrose centrolobular e vacuolização das células hepáticas circunvizinhas à veia central.

DOXEY (1971) afirmou que os valores séricos de bilirrubina variavam de 0,24 a 0,65 mg/100 ml de soro nas alterações hepatocelulares e nas icterícias obstrutivas, fa zendo ressalva para os casos das icterícias hemolíticas, onde estes valores podem alcançar de 7,0 a 10,0 mg/100 ml de so ro, com predominância da bilirrubina livre.

FUJIMOTO & NAKATA (1972) estudando as trocas hemodinâmicas induzidas pelo tetracloreto de carbono, verifi caram a existência de sensível diminuição do fluxo sanguíneo portal nos ratos dosificados, com presença de uma estenose si nusóide, que é a mais importante causa anatômica da lesão pa ra o desenvolvimento da hipertensão portal presente nestes animais.

ISHMAEL & GOPINATH (1972) encontraram, em bo vinos intoxicados experimentalmente, intensa necrose centrolobular hepática. Os autores procuraram relacionar o local da lesão hepática com a hiperbilirrubinemia, sugerindo: I - que numa lesão simplesmente centrolobular ocorre pequeno au mento na concentração de bilirrubina total sérica; II - que numa lesão que atinja outras áreas além da já citada ocorre uma bilirrubinemia de intensidade média; III - que numa le são periportal, de intensidade média, associada com altera

ção da integridade da membrana celular, ocorre acentuado aumento da concentração de bilirrubina na circulação sanguínea.

#### MATERIAL E MÉTODO

Para o presente experimento foram utilizados cinco bovinos, azebuados, machos, de 16 a 18 meses de idade, com o peso corporal variando de 95 a 150 quilos e clinicamente sadios. Os animais foram alojados em baias individuais, recebendo cada um deles diariamente gramíneas trituradas "ad libitum" e um quilo de ração de manutenção.

Utilizou-se o tetracloreto de carbono diluído a 50% em óleo de milho, a fim de provocar lesão hepática. O volume administrado em cada dose foi (mg/k.p.v.): 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 e 0,9, respectivamente para os animais de I a V. O tetracloreto de carbono foi administrado por punção intraruminal na fossa paralombar esquerda, com o animal mantido em decúbito lateral direito.

A pesquisa foi realizada durante 61 dias, com o animal IV morrendo no quinquagésimo dia do experimento.

O sangue foi colhido por punção da veia jugular, sempre na parte da manhã com os animais mantidos em jejum de 12 horas. Quando o dia de colheita coincidia com o tratamento, o sangue era colhido antes da administração do tetracloreto de carbono. Foram realizadas dez colheitas de sangue, num total de cinquenta amostras, com a primeira colheita sendo realizada imediatamente antes da administração da dose inicial de tetracloreto de carbono. As dosificações, em número de dez, foram realizadas em intervalos de seis dias.

A bilirrubina foi determinada segundo o método de SIMS & HORN, modificada por BASQUES (1973), e utilizou-se um espectrofotômetro Coleman Jr 20-A para as leituras.

As amostras de fígado, para o exame histopatológico, foram colhidas após a morte do animal e imediatamente fixadas em formol 10%, embebidas em parafina, seccionadas a 5 micra, coradas pela hematoxilina e Eozina, e examinadas à luz de microscopia simples.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos no presente experimento estão discriminados no QUADRO I.

Foram feitos exames histopatológicos do fígado onde encontraram-se áreas de degeneração turva das células hepáticas com localização junto à veia centrolobular e sua dilatação. Na periferia de alguns lóbulos ocorrem a presença de pequenos focos de necrose de coagulação, em invasão de células inflamatórias predominantemente mononucleares linfócitos.

No animal que morreu encontraram-se focos de necrose de coagulação centrolobular, regular quantidade de megalcitos e áreas com discreta dilatação de capilares sinusóides.

## DISCUSSÃO

No QUADRO I, onde estão relacionados os valores das bilirrubinas (mg/100 ml de soro) nos dias de colheita das amostras sanguíneas dos bovinos intoxicados experimentalmente pelo tetracloreto de carbono, observa-se que os níveis séricos destas substâncias estão dentro dos limites considerados fisiológicos por GARNER (1952), HANSEN (1964), ROSENBERGER (1966), EL AMROUSI *et alii* (1968) e DOXEY (1971), com as discretas variações podendo ser atribuídas às condições alimentares dos animais, aos períodos de colheita das amostras sanguíneas, às técnicas laboratoriais, à raça, ao peso corporal e à idade dos animais, como já assinalaram ROSENBERGER (1966) e EL AMROUSI *et alii* (1968), e inferiores aos assinalados por BENEDECK (1961).

Os níveis séricos das bilirrubinas direta e indireta apresentaram-se flutuantes durante o experimento, mais acentuadamente os da indireta, indicando a presença de alterações físico-químicas do fígado durante a administração da droga, o que está de acordo com as observações de FUJIMOTO & NAKATA (1972).

Estas alterações permitem admitir uma incapacidade

QUADRO I - Valores de bilirrubina (mg/100 ml de Soro) nos dias de colheita das amostras sanguíneas dos bovinos intoxicados experimentalmente pelo tetracloreto de carbono.

ANIMAIS	BILIRRUBINA INÍCIO	DIAS DE COLHEITA											
		2	6	9	15	21	27	33	45	61			
I	Total	1,6	0,9	0,7	1,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,6	1,1	1,6
	Direta	0,1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3
	Indireta	1,5	0,6	0,4	0,4	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,4	0,8	1,3
II	Total	1,9	0,9	0,7	1,3	0,7	0,7	0,8	0,9	0,9	0,9	0,7	0,9
	Direta	0,1	0,3	0,3	0,7	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
	Indireta	1,8	0,6	0,4	0,6	0,4	0,4	0,5	0,6	0,6	0,5	0,4	0,6
III	Total	0,9	1,1	0,9	0,9	1,0	0,9	1,3	0,6	0,9	0,6	0,9	0,8
	Direta	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
	Indireta	0,8	0,8	0,5	0,5	0,7	0,7	1,1	1,1	0,5	0,7	0,7	0,6
IV	Total	1,0	2,0	1,1	1,4	1,4	1,4	1,4	1,0	1,0	1,0	0,9	(*)
	Direta	0,6	0,6	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	(*)
	Indireta	0,4	1,4	0,7	1,0	1,1	1,1	1,1	0,7	0,7	0,8	0,6	(*)
V	Total	1,0	0,7	0,9	1,0	1,1	1,1	1,4	1,3	1,4	1,4	0,9	0,8
	Direta	0,1	0,1	0,3	0,4	0,1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3
	Indireta	0,9	0,6	0,6	0,6	1,0	1,1	1,1	1,0	1,1	1,1	0,7	0,5

(\*) Animal morreu.

cidade momentânea de secreção hepática (apesar de não ocorrerem indícios microscópicos de intensa colangite) e de mais ativa incapacidade de total mobilização da bilirrubina no fígado pelo decréscimo da capacidade de ligação da hemobilirrubina ao ácido glucorônico, provavelmente devido a alteração do metabolismo dos carboidratos, o que está de acôrdo com as observações de KANECO & CORNELIUS (1970) e FUJIMOTO & NAKATA (1972).

As alterações histopatológicas observadas estão de acôrdo com os achados de FORD & LAWRENCE (1965), CAPLE & HEATH (1971) e ISHMAEL & GOPINATH (1972).

De outra parte deve-se salientar que o comportamento das bilirrubinas séricas, no presente experimento, apresentou-se semelhante ao já assinalado por REES & SINHA (1960), com referência ao número de dias e os níveis delas após a administração da droga, o que está em desacôrdo com as observações de ISHMAEL & GOPINATH (1972) e GOPINATH & FORD (1970).

Finalmente, deve salientar que o comportamento dos níveis séricos das bilirrubinas no soro do animal IV, é indicativo de intensa alteração hepática e confirmada pelo exame histopatológico.

#### CONCLUSÕES

Baseando-se na análise dos dados obtidos neste experimento, pode-se concluir que os níveis séricos das bilirrubinas, nas condições em que foi conduzido o presente experimento, não possibilitam sua utilização como índice de lesão hepática.

#### RESUMO

O presente experimento foi realizado em bovinos, de 16 a 18 meses de idade, em boas condições de alimentação e acomodação, com a finalidade de avaliar-se o comportamento do fígado nos casos de animais intoxicados experimentalmente pelo tetracloreto de carbono, através das variações

dos níveis séricos das bilirrubinas.

Concluiu-se que, nas condições em que foi conduzido o presente experimento, as variações dos níveis séricos das bilirrubinas não servem como índice de lesão hepática, e que há necessidade de novos trabalhos a respeito do assunto.

#### SUMMARY

The present experiment was carried out with 16 and 18 month old cattle. The objective was to evaluate the liver performance in animals experimentally submitted to  $\text{CCl}_4$  toxicity through variation in the bilirubin serum levels.

It was concluded that, in the conditions the experiment was conducted, bilirubin serum levels do not serve as an adequate hepatic lesion index and that further research should be made to clarify the subject.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. BENEDECK, G. Comparative clinical studies on the bile pigment in the horse and cattle. Vet. Ac. Sci. Hung., 11: 293 - 295, 1961.
02. CAPLE, I.W. & HEATH, T.J. Effect of liver damage caused by carbon tetrachloride on the secretion on bile salts and lipids into bile of sheep. J. Comp. Pathol. 81: 411 - 418, 1971.
03. DOXEY, D.L. Veterinary Clinical Pathology. London, Baillière Tindale, 1971. 356 p.
04. EL AMROUSI, S.; SOLIMAN, M.K. & SOLIMAN, M.A. (1968) apud KANEKO, J.J. & CORNELIUS, C.E. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 2 ed. New York. Academic. Press, 1970, 349 p.
05. FORD, E.H.J. & LAWRENCE, J.A. Hepatic serum changes following repeated administration of small amounts of



- carbon tetrachloride to sheep. J. Comp. Pathol., 75: 185 - 200, 1965.
06. FUJIMOTO, K. & NAKATA, K. Anatomical lesions being responsible for development of portal hypertension in Carbon tetrachloride rat liver cirrhosis. Acta Pathol. Jap., 22 (4): 625 - 35, 1972.
07. GARNER, R.J. Bile pigment metabolism in cattle. Disturbances in bile pigment metabolism in disease. J. Comp. Pathol., 63: 247 - 252, 1952.
08. GOPINATH, C. & FORD, E.J.H. The effect of alphanaphthyl isothiocyanate on the liver of sheeps and calves. J. Pathol. 100: 269 - 280, 1970.
09. HANSEN, I.A. (1964) apud KANEKO, J.J. & CORNELIUS, C.E. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 2 ed. New York Academic Press, 1970. 349 p.
10. ISHMAEL, J. & GOPINATH, C. The effect of single small doses of inorganic cooper on liver of sheep. J. Comp. Pathol., 82: 47 - 57, 1972.
11. MORGAN, H.C. Evaluation hepatic function. I - Bilirrubin metabolism. Vet. Med. Small Animal Clinician, Jan: 47 - 52, 1969.
12. REES, K.R. & SINHA, K.P. Blood enzymes in liver injury. J. Pathol Bacteriol 80: 297 - 307, 1960.
13. ROSEMBERGER, G. Exploración clinica del a ganado vacuno. Barcelona. 1966. 234 p.