

AVALIAÇÃO DAS ENZIMAS DE FUNÇÃO HEPÁTICA EM RATOS INDUZIDOS COM ESPOROTICOSE EXPERIMENTAL

ANTÔNIO GONÇALVES DE ANDRADE JUNIOR¹; MARTHA BRAVO CRUZ PIÑEIRO²; EDGAR CLEITON DA SILVA³; CAROLINA OLIVEIRA DA SILVA⁴; BRUNO CABRAL CHAGAS⁵; MÁRCIA DE OLIVEIRA NOBRE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – antonio_3@icloud.com

² Universidade Federal de Pelotas – martha.pineiro@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – edgar.cleiton@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – carolinaosilva96@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – brunocabral.chagas@gmail.com

⁶ Universidade Federal de Pelotas – marciaonobre@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea decorrente da infecção pelo complexo do fungo *Sporothrix schenckii* (ROSA et al., 2017). É uma importante micose que acomete mamíferos e possui distribuição mundial (SANTOS et al., 2018). Sua ocorrência no Brasil está associada principalmente à transmissão zoonótica, por felinos domésticos infectados. A doença é transmitida pela inoculação do fungo pelo gato infectado, normalmente, por arranhadura ou mordedura, com outro animal ou humano, os felinos são muito importantes na transmissão da doença devido ao comportamento e pela grande quantidade de *Sporothrix spp.* encontrada nas lesões destes animais e, principalmente, nas unhas e na cavidade oral (SANTOS et al., 2018; LARSSON, 2011).

A esporotricose pode ser adequadamente tratada por meio de antifúngicos (SANTOS et al., 2018) e em veterinária, o itraconazol é recomendado como primeira opção terapêutica (ROSA et al., 2017). O itraconazol é um derivado triazólico o qual apresenta boa absorção quando administrado pela via oral. É metabolizado no fígado e a eliminação predominante com metabólitos inativos pela urina e nas fezes (ANVISA, 2014; MEINERZ et al., 2007). Os agentes antifúngicos, na sua maioria, produzem efeitos tóxicos, devido aos fungos compartilharem, com a célula do hospedeiro animal, similaridades estruturais, bioquímicas e fisiológicas, que limitam muito o arsenal (CATALÁN E MONTEJO, 2006; MEINERZ et al., 2007).

Considerando a importância da micose e os efeitos do tratamento em pacientes infectados, o objetivo do trabalho foi avaliar o perfil hepático de animais com esporotricose cutânea induzida e tratados com itraconazol, conforme o tempo de tratamento.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados 74 ratos norvergicus (*Rattus rattus*), albinos, linhagem *Wistar*, com idade inicial de 8 semanas de idade, machos. Os animais foram alojados no Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), sendo mantidos em condições constantes de umidade, temperatura e ciclo de claro e escuro, recebendo dieta de acordo com o peso corporal e água *ad libitum* durante o período experimental. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação sob o registro nº 25990-201. A esporotricose experimental foi desenvolvida em 60 animais, divididos aleatoriamente em dois grupos G1 (tratados com solução de NaCl 0,9% estéril) e G2 (tratados com com itraconazol

10mg/kg) e 14 não foram inoculados sendo o grupo controle (GN) para a avaliação dos parâmetros bioquímicos.

Os animais foram inoculados a partir de um isolado leveduriforme de *Sporothrix brasiliensis* proveniente de esporotricose cutânea de felino doméstico (*Felis catus*) padronizado em 10⁷/100µl UFC (DELLA TERRA et al., 2017). Para o desenvolvimento da esporotricose experimental, esses animais foram previamente anestesiados com associação de xilazina (10mg/kg) e cetamina (100mg/kg) por via intraperitoneal e posterior inoculação de 0,2ml da suspensão fungica (10⁷/100µl) pela via subcutânea em ambos coxins dos membros posteriores e foram acompanhados. Após 10 dias da inoculação, foi confirmada a esporotricose no ponto de inoculação dos animais do G1 e G2 e iniciado o tratamento uma vez ao dia, pela via oral com o auxílio de uma sonda orogástrica. Aos quatro, 11, 18, 30 e 42 dias, foram coletadas amostras sanguíneas e realizada a eutanásia, por sobre dose anestésica de seis animais por grupo, para a realização do perfil hepático e também foi realizado na necropsia a avaliação macroscópica dos fígados. As enzimas hepáticas (Alanina aminotransferase- ALT e Fosfatase alcalina- FA) foram analisadas através do Kit comercial Lab-test, executado de acordo com as normas do fabricante, com a posterior leitura em aparelho espetrométrico *Semi-auto Chemistry Analyzer* – Mindray (Modelo: BA-88A).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA) dos grupos G1 e G2 se mostraram elevadas quando comparadas ao valor médio do grupo controle, ALT (19,63 UI/L) e FA (132 UI/L). Os resultados da análise das enzimas ALT e FA conforme o tempo de tratamento são apresentados na Figura 1.

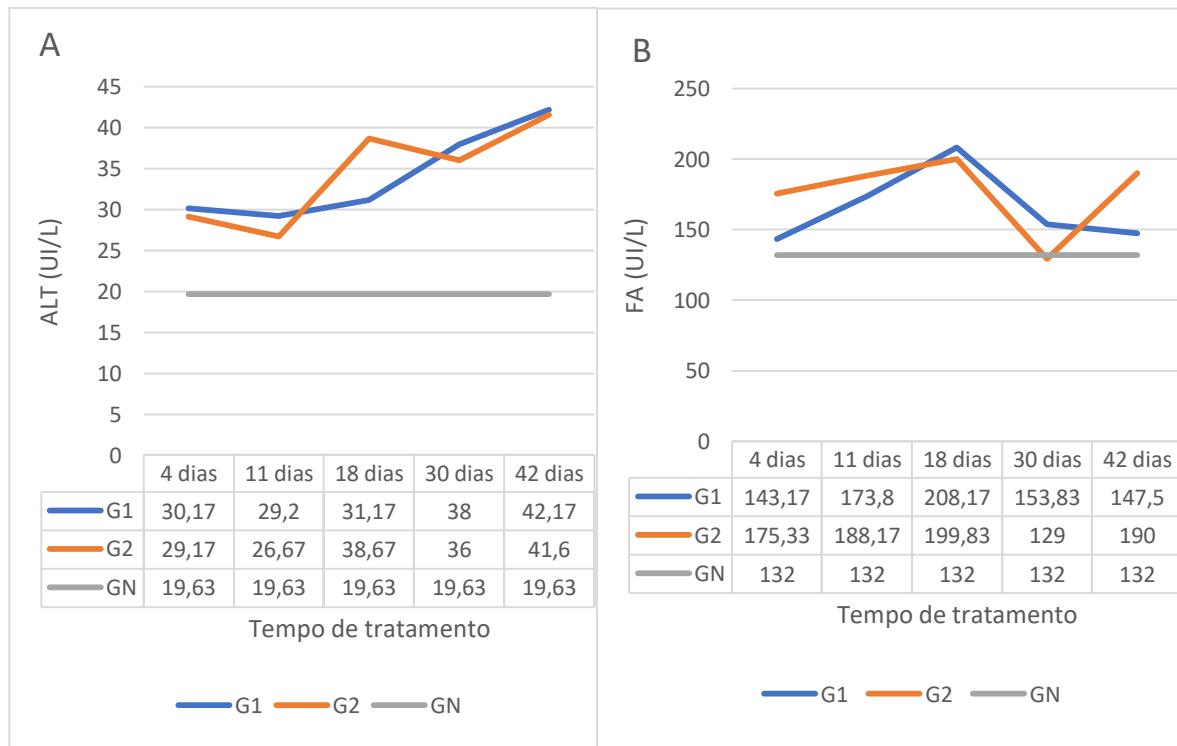


Figura 1 – A) Valores da alanina aminotransferase (UI/L), B) Valores da fosfatase alcalina (UI/L).

A elevação dos índices de ALT e FA provavelmente ocorreu em consequência da disseminação do agente no parênquima hepático dos animais infectados, uma vez que foram detectadas alterações anatomo-patológicas macroscópicas no fígado dos animais do G1 no momento da necropsia. Corroborando com os estudos de MEINERZ et al. (2008) e MARTINS (2012) que também foram observados lesões puntiformes e esbranquiçadas em diversos órgãos como fígado, baço e omento.

Haja vista que o mecanismo de defesa contra o *Sporothrix* é composto pela imunidade celular, com formação de granulomas, além do envolvimento de citocinas pró inflamatórias como o TNF- α , IL-1 e IL-6, e imunoglobulinas, se ocorrer disseminação no parênquima hepático pode levar a perda de função de hepatócitos (CASTRO et al., 2016).

Dessa forma, o mecanismo de lesão hepato-celular, faz com que ocorra liberação ALT para a corrente circulatória, ALT tem alta concentração nos hepatócitos e é uma enzima que tem curso de elevação agudo, mas sua elevação é proporcional à lesão encontrada (ALMEIDA, 2015). Já a FA está presente no intestino, fígado, rins e ossos, dessa forma, a relação da FA com hepatopatias não é tão direta quanto às alterações de ALT, mas sim com hepatopatias que cursam com colestase, portanto essa inflamação do parênquima hepático pode levar a obstrução de pequenos canalículos biliares e assim há liberação de FA de forma indireta (BATISTA, 2016), e ainda segundo CORNELIUS (1996) em cães foi observado o aumento FA em doenças prolongadas pelo efeito do stress.

Além disso, ao longo do seguimento terapêutico, os valores aumentados da enzima hepática ALT estiveram possivelmente relacionados ao uso do itraconazol, o qual apresenta um potencial hepatotóxico. Devido aos fármacos serem metabolizados no fígado e o citocromo P-450 (CYP3A4) ser a principal enzima envolvida no metabolismo do itraconazol, assim, essa interação do itraconazol com o CYP3A4 associado a metabolização pode causar alterações nas enzimas hepáticas (ANVISA, 2014; MEINERZ et al., 2007).

Como relata SCHUBACH (2004) as alterações hematológicas e bioquímicas descritas em gatos com esporotricose são compatíveis com as encontradas em doenças infecciosas, como aumento dos níveis séricos de ALT. Dessa forma como esses resultados e buscando aplicar no paciente alvo que é o felino é interessante solicitar monitorização bioquímica desses pacientes doentes como parte do tratamento.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que a esporotricose pode potencialmente alterar os valores das enzimas de lesão hepática em ratos *Wistar*, da mesma forma o itraconazol se utilizado por muito tempo pode causar alterações nas enzimas hepáticas, entretanto é necessário realizar mais estudos que confirmem esta hipótese.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. R. **Enzimas clínicas: ação, fundamento e aplicações**. 2015. 16p. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

ANVISA. **Itraconazol, bula professional**. 2014. Acessado em 06 set. 2019. Online. Disponível em:

http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=8071302015&pIdAnexo=2843200

BATISTA, CH. **Indicadores de lesão e função hepática**. 2016. p. 10. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

CASTRO, V. S. P., DA SILVA, A. S., COSTA, M. M., et al. Cholinergic enzymes and inflammatory markers in rats infected by *Sporothrix schenckii*. **Microbial Pathogenesis**, v. 97, p. 94–102, 2016.

CATALÁN, M.; MONTEJO, J. C. Antifúngicos sistémicos. **Rev. Iberoam. Micol.**, v. 23, p. 39-49, 2006.

CORNELIUS, L. M. Anormalidade do perfil Bioquímico Padrão. In: LORENZ, M. D.; CORNELIUS, L. M. (Ed.) **Diagnóstico clínico em pequenos animais**. 2.ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996. cap. 61, p. 435-478. 26

DELLA TERRA, P. P.; RODRIGUES, A. M.; FERNANDES, G. F.; et al. Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen *Sporothrix brasiliensis*. **PLoS neglected tropical diseases**, v.11, n.8, p.e0005903, 2017.

LARSSON, C. Esporotricose. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 3, p. 250-259, 1 jun. 2011.

MARTINS, A. A. **Esporotricose sistêmica experimental: Avaliação in vivo da β (1-3) glucana em associação ao itraconazol em modelo murino**. 2012. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

MEINERZ, A. R. M.; CLEFF, M. B.; NASCENTE, P. S.; et al. Efeitos de doses elevadas da terbinafina e itraconazol em ratos Wistar. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 43, n. 1, jan./mar., 2007.

MEINERZ, A. R. M.; ANTUNES, T. A.; SILVA, F. V.; et al. Esporotricose experimental sistêmica em ratos Wistar: avaliação hematológica e perfil hepático. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60, n.4, p.1026-1028, 2008.

ROSA, C. S.; MEINERZ, A. R. M.; OSÓRIO, L. G.; et al. Terapêutica da Esporotricose: revisão. **Science and Animal Health**, v. 5, n. 3, p. 212-228, 2017.

SANTOS, A. F.; ROCHA, B. D.; BASTOS, C. V.; et al. Guia Prático para enfrentamento da Esporotricose Felina em Minas Gerais. **Revista V&Z Em Minas**, n. 137, Abr/Mai/Jun, 2018.

SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.O.; OKAMOTO, T.; BARROS, M.B.; FIGUEIREDO, F.B.; CUZZI, T.; FIALHO-MONTEIRO, P.C.; REIS, R.S.; PEREZ, M.A.; WANKE, B. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.224, n.10, p.1623-1629, 2004.