

Ácidos biliares: metabolismo e aplicações diagnósticas¹

Introdução

Os ácidos biliares são produzidos exclusivamente no fígado a partir do colesterol, o qual também é o precursor dos hormônios esteróides e da vitamina D. Após uma série de reações de hidroxilação e redução, dois compostos são produzidos: o ácido cólico e o ácido quenodesoxicólico, conhecidos como ácidos biliares primários, e cujas diferenças estruturais se baseiam nas posições dos grupos α -hidroxil (LIEBERMAN & MARKS, 2013).

A função dos ácidos biliares está relacionada à bile, produzida e secretada continuamente pelas células hepáticas e armazenada na vesícula biliar, onde permanece até que a sua ação seja necessária no duodeno, atuando sobre a gordura da dieta (GUYTON & HALL, 2006).

A concentração sérica de ácidos biliares é utilizada principalmente como parâmetro de alterações hepatobiliares ou no fluxo intestinal (GONZÁLEZ & SILVA, 2006). Por outro lado, o valor obtido a partir desse perfil bioquímico não pode ser utilizado como patognomônico para nenhum distúrbio hepático em particular, embora seja possível fazer certas generalizações. Assim, a mensuração dos valores séricos totais dos ácidos biliares pode ser uma opção de teste de triagem sensível para a ausência ou presença de doença hepatobiliar, mas a realização de testes adicionais e mais específicos deve ser sempre considerada (NELSON & COUTO, 2006).

O metabolismo dos ácidos biliares

Os ácidos biliares são sintetizados a partir do colesterol, e correspondem aos maiores produtos finais do seu metabolismo (MCDONALD et al., 2010). A partir de uma série de reações de hidroxilação e redução do colesterol, são produzidos, nos hepatócitos, os ácidos biliares primários cólico e quenodesoxicólico, cujas diferenças estruturais se baseiam nas posições dos grupos α -hidroxil. O ácido cólico apresenta os seus grupos α -hidroxil nas posições 3, 7 e 12, enquanto que o ácido quenodesoxicólico apresenta os seus grupos nas posições 3 e 7 (LIEBERMAN & MARKS, 2013).

A etapa limitante na produção dos ácidos biliares ocorre quando se forma um grupo hidroxila na posição 7 do colesterol (Figura 1), reação catalisada pela enzima 7 α -hidroxilase, a

¹ Franceschina, S. C. Metabolismo dos ácidos biliares: síntese e aplicações diagnósticas. Seminário apresentado na disciplina de Bioquímica do Tecido Animal, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2015. 9 p.

qual é inibida quando a produção dos ácidos biliares aumenta (LIEBERMAN & MARKS, 2013).

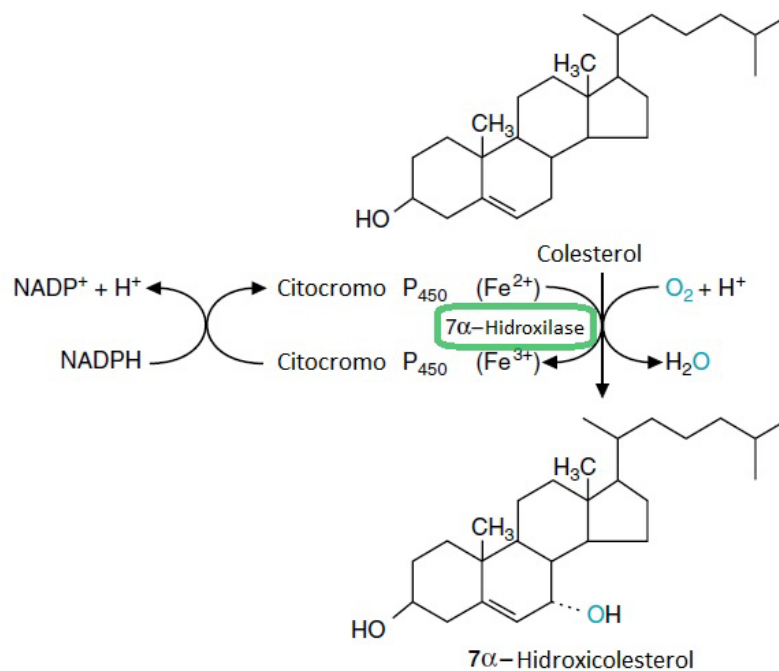


Figura 1. Etapa limitante do metabolismo dos ácidos biliares a partir do colesterol, catalisada pela enzima 7α-hidroxilase

Na maioria dos animais, ainda no fígado os ácidos biliares primários são conjugados com a glicina e/ou com a taurina, sendo que os gatos realizam a conjugação exclusivamente com a taurina e os cães podem, ocasionalmente, realizar a conjugação com a glicina (PIRES & COLAÇO, 2004). A taurina é um aminoácido sulfurado produzido a partir da cisteína que, por sua vez, provem da metionina. Devido à sua estrutura, não pode ser incorporada a peptídeos ou proteínas, permanecendo livre até que seja ligada aos ácidos biliares. Os gatos não conseguem produzir taurina a partir dos aminoácidos precursores, mesmo estando presentes na dieta. Dessa forma, gatos devem consumir taurina a partir da dieta, de modo a impedir a sua deficiência (HAYES, 1982).

A conjugação com a taurina e com a glicina origina os ácidos biliares conjugados taurocólico/glicocólico e tauroquenocólico/glicoquenocólico, os quais apresentam um pK de aproximadamente 4, o que os mantém nas suas formas ionizadas em pH intestinal, momento em que são denominados como “sais biliares” (LIEBERMAN & MARKS, 2013). Outro fato importante relacionado à conjugação dos ácidos biliares é o aumento da sua solubilidade aquosa, o que diminui a sua absorção passiva no trato biliar e no intestino delgado (PIRES & COLAÇO, 2004).

Após a conjugação, os ácidos biliares são secretados na bile, que é armazenada na vesícula biliar, onde é concentrada até ser liberada no duodeno (NELSON & COUTO, 2006). A concentração da bile se dá pela absorção de água e sais, sendo que grande parte desta absorção ocorre por transporte ativo. Ao final, a bile é formada principalmente por colesterol biliar, lecitina, bilirrubina e, na sua maior parte, pelos ácidos (ou sais) biliares (GUYTON & HALL, 2006). A absorção de água e sais aumenta a concentração da bile em até 20 vezes (QUINN & COOK, 2009).

Um sistema de ductos liga o fígado à vesícula biliar, iniciando com pequenos canalículos, que se juntam e formam os ductos, cada vez maiores, gerando o ducto hepático, que se conecta ao ducto cístico que, por fim, leva a bile à vesícula biliar. Os equinos não possuem vesícula biliar e, portanto, o ducto hepático se conecta diretamente ao duodeno, para onde a bile é secretada (SAMUELSON, 2007).

No intestino, após a liberação da bile, uma pequena parte dos ácidos biliares primários que não é absorvida pelo intestino sofre ação de bactérias da flora intestinal e são convertidos nos ácidos biliares secundários litocólico e desoxicólico, que são absorvidos no intestino (NELSON & COUTO, 2006). A conversão dos ácidos primários em ácidos secundários ocorre por uma desidroxilação, reação catalisada por enzimas bacterianas (PIRES & COLAÇO, 2004).

A função dos ácidos biliares

Antes das suas funções digestivas, os ácidos biliares são a principal forma de excreção do colesterol que, nos mamíferos, não pode ser catalisado a dióxido de carbono e água. Ainda, eles são potentes detergentes que preparam os triglicérides da dieta para a hidrólise pela lipase pancreática através da sua ação emulsificante, formando as micelas (MCDONALD et al., 2010). A formação das micelas é consequência das características anfipáticas desses ácidos, que apresentam uma porção de sua estrutura hidrofílica, e outra porção hidrofóbica (PIRES & COLAÇO, 2004).

A secreção da bile no lúmen intestinal ocorre por estímulo do hormônio colecistoquinina (GUYTON & HALL, 2006). A liberação da bile é necessária após a alimentação, mas, durante os períodos de jejum, o ducto biliar comum permanece fechado através de um esfíncter constituído por musculatura lisa, responsável pelo controle do ducto (SAMUELSON, 2007). O período em que o esfíncter permanece fechado corresponde à fase de armazenamento e modificação (concentração) da bile (QUINN & COOK, 2009).

A concentração dos ácidos biliares, do colesterol e dos fosfolípidios na bile deve estar sempre equilibrada, pois, caso contrário, o colesterol pode precipitar e formar cálculos no

interior da vesícula, levando a obstruções e transtornos digestivos. Dessa forma, há má absorção lipídica pela falta de secreção adequada da bile e, conseqüentemente, dos ácidos biliares no lúmen intestinal, que não cumprirão o seu papel de emulsificação das gorduras e formação das micelas (RIBEIRO, 2010).

Circulação entero-hepática dos ácidos biliares

A absorção a partir dos enterócitos é dependente de transporte ativo, principalmente aquele mediado por sódio, mas uma pequena porcentagem dos ácidos biliares que não estão conjugados pode atravessar as membranas passivamente. Após atingirem a circulação portal, os ácidos biliares retornam ao fígado, onde são extraídos do sangue dos sinusoides pelos hepatócitos da zona periportal (Figura 2). No fígado, os ácidos biliares são reutilizados, sendo secretados novamente na bile (PIRES & COLAÇO, 2004).

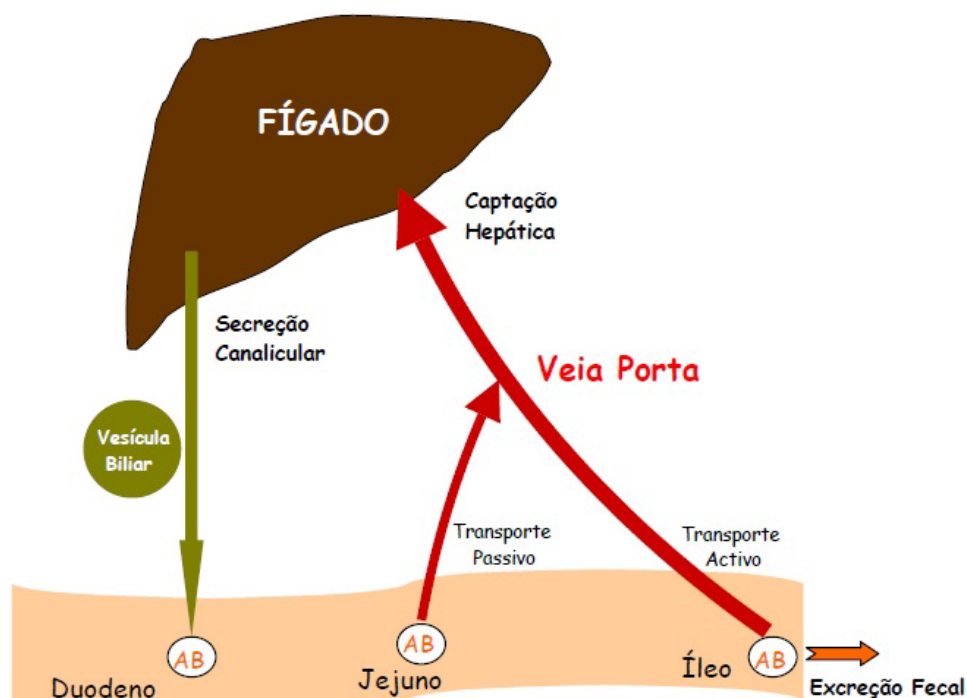


Figura 2. Circulação entero-hepática dos ácidos biliares (AB)

Aproximadamente 95% dos ácidos biliares que agem nas porções iniciais do intestino são absorvidos no íleo. O sítio principal de absorção é nas porções mais distais do intestino, no íleo (LIEBERMAN & MARKS, 2013). A maior parte dos ácidos absorvidos são os primários, mas uma pequena parte escapa da absorção intestinal e sofre a desidroxilação provocada por enzimas

bacterianas, formando os ácidos secundários que são absorvidos posteriormente (NELSON & COUTO, 2006). Os ácidos secundários são menos solúveis do que os ácidos primários, que são mais solúveis e prontamente absorvíveis. O ácido biliar menos solúvel e, portanto, mais excretado nas fezes é o litocólico (LIEBERMAN & MARKS, 2013).

A circulação entero-hepática resulta na manutenção estável dos ácidos biliares circulantes, sendo que, nos cães, esses ácidos podem circular até dez vezes por dia e, no geral, todas as perdas que ocorrem pelas fezes podem ser compensadas por uma maior produção hepática (de 0,3 a 0,7 g por dia) (PIRES & COLAÇO, 2004).

Concentrações séricas de ácidos biliares

Cães e gatos

A absorção dos ácidos biliares pelo intestino é extremamente eficiente, mas, na extração hepática do sangue venoso portal, pequenas concentrações dos ácidos cólico, quenodesoxicólico e desoxicólico são liberados no sangue periférico de animais saudáveis em jejum, sendo esta pequena quantidade dosada no soro. Após uma refeição, como uma carga maior de ácidos biliares é liberada para o intestino e, conseqüentemente, para a circulação portal para a reciclagem, os valores pós-prandiais em animais saudáveis podem aumentar de três a quatro vezes (NELSON & COUTO, 2006).

A diminuição da captação dos ácidos biliares pelos hepatócitos e, conseqüentemente, o aumento da sua concentração sérica, pode ser devido, principalmente, aos fatores: hepatopatias (hepatites, necroses, redução da massa funcional hepática), *shunts* portossistêmicos (há desvio do sangue, que não passa pelo fígado, sem reciclagem dos ácidos biliares, que permanecem na circulação) ou em colestases, situação na qual há uma menor excreção dos ácidos biliares pelo sistema biliar, gerando o seu acúmulo na circulação sistêmica (THRALL, 2007).

Uma diminuição das concentrações séricas dos ácidos biliares é geralmente relacionada a obstruções intestinais (GONZÁLEZ & SILVA, 2006), pois nesse caso é provável que haja uma redução da absorção intestinal, na porção do íleo, dos ácidos.

Na técnica-padrão para se avaliar as concentrações de ácidos biliares séricos em cães e gatos, preconiza-se a coleta de 3 ml de sangue em um tubo de soro após a permanência do animal em jejum por 12 horas. A coleta pós-prandial, também de 3 ml de sangue, é realizada duas horas após a oferta de uma refeição (com 27% de gordura com base na matéria seca, para cães) ao

animal. Nesta coleta, a refeição atua como um desafio endógeno para a contração da vesícula biliar e a liberação dos ácidos biliares no intestino (NELSON & COUTO, 2006).

Os valores de referência para animais jovens são similares aos valores para animais adultos, com aumento de três a quatro vezes na análise pós-prandial devido à liberação de ácidos biliares em resposta à presença de alimento no trato gastrointestinal. A dosagem sérica pode ser realizada através do método enzimático ou radioimunoensaio, e os parâmetros de referência para cães e gatos em jejum e alimentados estão listados na Tabela 1 (NELSON & COUTO, 2006).

Tabela 1. Parâmetros de referência da concentração sérica de ácidos biliares pelo método enzimático e radioimunoensaio para cães e gatos em jejum e alimentados

Estado	Concentração sérica de ácidos biliares	
	Metodologia	
	Enzimática	Radioimunoensaio
Jejum	< 5 $\mu\text{mol/l}$	5 – 10 $\mu\text{mol/l}$
Pós-prandial	15 $\mu\text{mol/l}$	25 $\mu\text{mol/l}$

Aves

Nas aves, todo o metabolismo dos ácidos biliares tem início no colesterol, sendo praticamente igual ao dos mamíferos. A diferença entre os valores séricos pré e pós-prandiais não é tão visível nas aves, e o aumento na concentração sérica em aves em jejum costuma ter relação com alterações hepáticas, no seu armazenamento, na sua excreção ou na perfusão do fígado (THRALL, 2007).

Para a dosagem de ácidos biliares séricos, é necessária a coleta de sangue após 12 horas de jejum e, no caso de aves carnívoras, 24 horas de jejum. A determinação tanto do período de jejum quanto de uma possível coleta de sangue pós-prandial torna-se complicada em aves devido ao fato de que aves enfermas geralmente apresentam diminuição do fluxo intestinal ou mesmo estase, o que compromete a absorção intestinal dos ácidos biliares (THRALL, 2007). Além disso, o fato de armazenarem alimento no papo pode alterar totalmente o fluxo de alimento no trato gastrointestinal (HARR, 2002).

Pode-se utilizar o método enzimático, radioimunoensaio ou cromatografia para a determinação da concentração sérica dos ácidos biliares em aves (HARR, 2002), mas o método mais utilizado é o enzimático, apesar de nenhum dos três ter sido validado ainda (THRALL, 2007). Para aves, ainda há algumas ressalvas quanto à metodologia, como, por exemplo, a falta de reagentes comerciais para aves (e, portanto, a adaptação com o uso de reagentes para outras espécies) ou o fato de que muitos dos reagentes comerciais não quantificam concentrações

superiores a 50 $\mu\text{mol/l}$, que são comuns para aves, tornando necessária a diluição das amostras antes da análise (HARR, 2002).

As concentrações séricas de ácidos biliares nas aves são geralmente muito superiores às dos mamíferos, conforme tabela 2.

Tabela 2. Concentração sérica de ácidos biliares para algumas espécies de aves

Espécie	Concentração sérica de ácidos biliares
Araras, pombos e cacatuas	8 – 71 $\mu\text{mol/l}$
Papagaios	19 – 144 $\mu\text{mol/l}$
Avestruzes	8 – 30 $\mu\text{mol/l}$
Maioria das aves	100 – 250 $\mu\text{mol/l}$

Nas aves, diferente do que ocorre com os mamíferos, não há a produção de bilirrubina pois há falta da enzima bilirrubina redutase. Assim, o pigmento biliar é a biliverdina e, portanto, é rara a ocorrência de icterícia nas aves. Além disso, devido à instabilidade e à sensibilidade desse pigmento quando exposto à luz, a dosagem de biliverdina não é praticada, sendo a dosagem de ácidos biliares uma ferramenta útil para a avaliação hepática das aves (THRALL, 2007).

Outra particularidade das aves é com relação à saída do ducto biliar, que está presente no final do intestino delgado e, por isso, há um processo de antiperistaltismo para que a bile retorne ao duodeno, local onde deve ocorrer a emulsificação das gorduras pelos ácidos biliares. Dessa forma, a bile retorna para o local onde entrará em contato com o alimento, podendo chegar até a moela (RIBEIRO, 2010).

Alterações relacionadas ao aumento sérico dos ácidos biliares

A maioria das causas de aumento da concentração sérica dos ácidos biliares está relacionada ao sistema hepatobiliar, mas nenhuma pode ser diagnosticada através dessa análise e, portanto, testes diagnósticos específicos devem ser sempre realizados para identificar a causa específica (NELSON & COUTO, 2006).

Em cães e gatos, há uma série de patologias que podem aumentar os níveis de ácidos biliares, como: lipidose hepática, colangite, obstruções do ducto biliar, desvio portossistêmico, pancreatite, dentre outras (NELSON & COUTO, 2006).

No caso de o animal apresentar alterações clínicas típicas de algumas dessas patologias, como vômitos, diarreia, apatia, icterícia, hepatomegalia, anorexia, deve-se sempre aliar os sinais

clínicos com o histórico e a realização de testes laboratoriais ou exames diagnósticos que possam guiar o médico veterinário na busca pelo diagnóstico. Geralmente são sinais clínicos inespecíficos, comuns entre algumas doenças, e a dosagem de ácidos biliares muitas vezes pode indicar que se trata de um problema hepatobiliar, mas sem especificar a causa. Além disso, há outras análises a serem consideradas e com custo menor. Uma das limitações para a realização da dosagem de ácidos biliares séricos ainda é o alto custo dos reagentes (GONZÁLEZ & SILVA, 2006), então geralmente o custo-benefício não vale a pena.

Na maioria das patologias em que há aumento sérico dos ácidos biliares, esse aumento ocorre por lesão ou degeneração dos hepatócitos, como nas doenças inflamatórias. No caso do shunt, ocorre um desvio da veia porta, sem o retorno do sangue da circulação portal para o fígado, podendo ocorrer, inclusive, a atrofia do órgão. Na pancreatite, apesar de o problema ser no pâncreas, a inflamação pode se estender ao sistema hepatobiliar e o extravasamento de enzimas hepáticas pode lesionar as células do fígado (NELSON & COUTO, 2006).

Considerações finais

A produção dos ácidos biliares depende de outras rotas metabólicas que podem originar o colesterol, produzido a partir do acetil-CoA (glicólise e gliconeogênese), ou da própria ingestão do colesterol a partir da dieta, já que o fígado apresenta uma capacidade máxima de produção própria. Assim, como em diversos processos metabólicos do organismo, a produção dos ácidos biliares está interligada a outras funções e devem estar em equilíbrio.

A concentração sérica dos ácidos biliares varia conforme o estado de alimentação do animal, podendo estar baixa nos períodos de jejum e mais alta após uma refeição, o que deve ser observado no momento de análise dos resultados.

Apesar de ser uma análise indicadora de doença hepatobiliar, há outros métodos mais precisos e com menor custo que podem guiar o médico veterinário de forma mais direta, com resultados mais específicos. Mas, ainda que seja necessário realizar essa análise, ela deve ser sempre acompanhada de outros testes laboratoriais que possam auxiliar no diagnóstico e associados aos sinais clínicos e ao histórico do animal, se houver, já que alterações (aumento ou diminuição) da concentração sérica dos ácidos biliares não são patognômicas de nenhuma patologia específica.

Referências bibliográficas

- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006. 357 p.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Funções secretoras do tubo alimentar. In: GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de fisiologia médica. 11 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. Cap. 64, p. 617-631.
- HARR, K. E. Clinical chemistry of companion avian species: a review. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 31, n. 3, p. 140-151, 2002.
- HAYES, K. C. Nutritional problems in cats: taurine deficiency and vitamin A excess. *The Canadian Veterinary Journal*, v. 23, p. 2-5, 1982.
- LIEBERMAN, M.; MARKS, A. D. Marks' basic medical biochemistry: a clinical approach. 4 ed. Philadelphia: Wolter Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2013. 1014 p.
- MCDONALD, P. et al. Animal nutrition. 7 ed. Pearson Canada, 2010. 712 p.
- NELSON, R. W.; COUTO, G. C. Medicina interna de pequenos animais. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. 1324 p.
- PIRES, M. J.; COLAÇO, A. O papel dos ácidos biliares na patologia e terapêutica das doenças hepáticas no cão e no gato. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 99, n. 551, p. 137-143, 2004.
- QUINN, R.; COOK, A. K. An update on gallbladder mucoceles in dogs. *Veterinary Medicine*, v. 103, n. 4, p. 169-175, 2009.
- RIBEIRO, A. M. L. Nutrição animal. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. 93 p.
- SAMUELSON, D. A. Tratado de histologia veterinária. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 527 p.
- THRALL, M. A. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. São Paulo: Roca, 2007. 592 p.