

ENZIMAS DE USO NA CLÍNICA VETERINÁRIA*

Introdução A enzimologia clínica é de grande importância diagnóstica, principalmente em relação às enzimas presentes na corrente sanguínea, várias das quais são incluídas no estudo do perfil enzimático. Utilizando métodos analíticos relativamente simples, como a fotolorimetria, analisa-se a quantidade de produto formado pela adição da enzima em uma solução com concentração conhecida de substrato. A reação ocorre em um tempo fixo, em condições determinadas de temperatura e pH. Pode ser necessária a adição de cofatores, como coenzimas ou íons metálicos. Para uso na rotina de um laboratório de análises existem kits comerciais que oferecem os reagentes e o protocolo.

Histórico

Os estudos de enzimologia iniciaram em 1901 com Vitor Henri e foram intensificados a partir de 1910 com Leonor Michaelis. Apenas em 1927 foi escrita a primeira enzima, a fosfatase alcalina por King e Armstrong. Na década de 1960 foi iniciado o uso da enzimologia no diagnóstico na Medicina Humana e apenas na década de 1980 seu uso foi ampliado no diagnóstico na Medicina Veterinária.

Unidades de medida

Normalmente, as enzimas são medidas de forma indireta. Em outras palavras, não se mede a enzima pela sua concentração molar ou massa total, mas pela sua atividade catalítica.

A IUB definiu como unidade internacional de atividade enzimática (U), a quantidade de enzima que catalisa a conversão de um mol de substrato por minuto. Além disso, IUB e IUPAC recomendam uma nova unidade o katal (kat). O katal equivale a um mol por segundo, seguindo as recomendações do Sistema Internacional de Unidades (SI).

O problema é que o katal é uma unidade muito grande, de forma que na rotina da clínica os valores deveriam ser expressos em nanokatal (nkat). Para ter uma idéia um U é igual a $16,62 \times 10^{-6}$ kat, ou 16,62 nkat. Desta forma, a maioria dos clínicos e laboratórios ainda utilizam a Unidade Internacional (U).

Cuidados com a amostra

Seminário apresentado pela aluna Rochana Rodrigues na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2005. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González.

O uso de enzimas como meio auxiliar de diagnóstico requer alguns cuidados adicionais àqueles já tomados para outros exames. Como em todos exames colorimétricos, cores estranhas presentes em grande quantidade no plasma podem interferir nos resultados. Portanto é importante tomar cuidados para evitar a hemólise das amostras. Da mesma forma, deve-se ter cuidado ao interpretar resultados de amostras muito ictéricas. Normalmente os kits comerciais fornecem parâmetros que indicam valores, dentro dos quais, a hemólise e a icterícia não interferem nos resultados. Outro cuidado a ser tomado é evitar congelar e descongelar muitas vezes a mesma amostra, pois este processo pode causar a desnaturação de algumas enzimas. Quando for necessário analisar uma amostra em dias diferentes, recomenda-se dividir em pequenas alíquotas, descongelando só o que for analisado logo em seguida.

Isoenzimas

Muitas enzimas são específicas de determinado órgão, portanto o surgimento desta enzima no plasma facilita a definição do local lesionado. Em outros tantos casos, as enzimas, estão presentes vários tecidos diferentes, dificultando a interpretação clínica do exame. Quando existe esta dificuldade para definir o órgão lesionado, pode ser útil fazer uso das isoenzimas.

Enzimas que, mesmo catalisando uma reação e em uma mesma espécie animal, diferam entre si por suas características moleculares ou cinéticas, são chamadas de isoenzimas. Estas diferenças podem ser de origem genética ou pós transducionais (GELLA, 1994). A diferenciação das isoenzimas pode ser feita por eletroforese, por técnicas imunológicas ou pelo uso de diferentes substratos, ativadores ou inibidores enzimáticos (KRAMER; HOFFMANN, 1997).

Dentre as enzimas normalmente utilizadas na clínica veterinária, aquelas que possuem isoenzimas são a aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP), creatina quinase (CK), amilase (Amyl), lactato desidrogenase (LDH), gama glutamiltransferase (GGT) e fosfatase ácida (ACP) (BUSH, 1991).

Interpretação

Além dos cuidados, já citados, com a coleta e armazenamento da amostra, é importante que o clínico tenha também um cuidado especial com a anamnese do paciente. Alguns fatos podem passar despercebidos e levar a uma interpretação equivocada dos resultados, como por exemplo:

- # A aplicação de uma injeção por via intramuscular pode causar uma irritação tecidual no músculo suficiente para elevar a concentração de CK > AST ou LDH no sangue;

- # A hemólise pode interferir não somente pela variação na absorbância da amostra como também pela liberação de enzimas presentes nos eritrócitos;

A CK pode elevar-se devido uma crise convulsiva em que o animal se debata e traumatize os músculos esqueléticos;

O animal pode ter sofrido algum acidente que não foi percebido ou relatado pelos proprietários. Caso em que se deve procurar outras evidências, pois além do traumatismo muscular, pode ter ocorrido alguma lesão visceral;

Verificar a possibilidade de indução enzimática por uso de drogas;

Levar em conta fatores como caquexia, perenais, idade, dieta e outros que possam interferir nos resultados;

Animais e raças com taxas de crescimento maiores apresentam maior atividade enzimática de AST, ALT e ALP.

Aminotransferases

As aminotransferases (ALT e AST) são enzimas intracelulares que têm por função a transferência de grupos amino durante a conversão de aminoácidos a α cetoácidos. Ambas enzimas são encontradas no citosol celular, entretanto a AT também possui uma isoenzima mitocondrial.

Alanina amino transferase (ALT ou TGP)

A ALT (TGP) catalisa a transaminação reversível de alanina e α -cetoglutarato em piruvato e glutamato. Esta enzima requer fosfato de piridoxal como fosfato. Esta enzima é considerada hepato-específica porque um significativo aumento em sua atividade sérica somente é observado na degeneração ou necrose hepatocelular. A necrose muscular severa pode elevar os valores de ALT em cães sem que haja doença hepática concomitante, no entanto degenerações ou necrose focal da massa muscular não elevam sua atividade sérica. Gella (1994) cita que gestação, nutrição inadequada e falha renal podem levar a uma atividade da ALT diminuída pela deficiência desta vitamina. Cães e ratos tratados com cefalosporina também podem apresentar esta diminuição da atividade enzimática (KRAMER; HOFFMANN, 1997). Não existem isoenzimas.

De forma geral, em primatas, cães, gatos, coelhos e ratos, a ALT pode ser considerada uma enzima indicadora de dano hepático. Já em suínos, eqüinos, bovinos, ovinos e caprinos, a ALT tem pouco valor diagnóstico, uma vez que esta enzima é encontrada em concentrações muito baixas no fígado destas espécies.

Foi demonstrado que, em ratos com 40% do corpo queimado, houve um aumento da concentração de ALT no soro. Concluiu-se que este aumento está relacionado à indução de apoptose (morte celular programada) nas células hepáticas. Portanto, em outros animais, também é provável que ocorra um aumento desta enzima quando houver queimaduras extensas pelo corpo.

Para cães e gatos a ALT é uma das enzimas para avaliar o comprometimento hepático. Segundo Bush (1991) é o melhor teste para detectar dano hepático em pequenos animais. Embora presente no coração, nos rins, músculos e eritrócitos, a enzima oriunda destes órgãos não é capaz de fazer a ALT aumentar muito mais do que três vezes (WILLARD; TVEDTEN, TURNWALD, 1993).

O aumento da ALT está relacionado com o número de células envolvidas, ou seja, com a extensão, e não com a gravidade da lesão. Na realidade, mesmo uma lesão que não cause morte celular, pode ser suficiente para que ocorra a liberação de ALT na corrente sangüínea.

Diversas drogas podem induzir um incremento da atividade sérica da ALT. Em pequenos animais soa relevantes para o clínico o conhecimento dos seguintes princípios ativos: acetaminofeno, barbitúricos, glicocorticóides, cetoconazol, mebendazol, fenobarbital, fenilbutazona, primidona e tetraciclina (SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 1999). Inúmeras substâncias químicas (fenóis, alcatrão e outros), plantas hepatotóxicas e aflatoxina podem causar o mesmo efeito (OSWEILER, 1998).

Na análise dos resultados deve-se levar em conta que a ALT em um pico de liberação no sangue cerca de 3 ou 4 dias após a lesão, mas retorna aos valores basais cerca de 2 semanas após. A persistência de valores elevados por um período maior que este pode indicar o estabelecimento de uma patologia crônica como neoplasia ou hepatite.

Causas de discreto aumento de ALT: Congestão hepática e esteatose. Já um aumento moderado a marcante é observado em: Necrose celular, hepatite tóxica ou infecciosa, congestão hepática, carcinoma, cirrose (pode estar normal). Outras causas de aumento são: infarto do miocárdio, necrose do músculo esquelético, pancreatite aguda e necrose renal.

Aspartato amino transferase (AST ou TGO)

Conhecida também pelo nome de transaminase oxalacética. Esta enzima catalisa a transaminação de aspartato e α -cetoglutarato em oxalacetato e glutamato. Tem como cofator o piridoxal-fosfato. Existe em muitos tecidos como duas isoformas, no citosol e na mitocôndria, sendo mais abundante no fígado e nos músculos. Seu uso é como indicador de danos nesses tecidos. Segundo González, 2003 os aumentos de AST podem ser observados em hepatite infecciosa e tóxica, cirrose, obstrução biliar e fígado gorduroso. Seu nível também está aumentado quando ocorre hemólise, deficiência de selênio/vitamina E e no exercício físico intenso. Em lesões musculares, convém conferir também atividade de CK. A AST é usada para avaliar condicionamento físico em animais de esportes. Também em suínos, pode ser indicador da capacidade de suportar estresse por transporte (teste do halotano).

A AST, nos ruminantes, é um bom indicador de funcionamento hepático. Assim, seus níveis sangüíneos são utilizados em vacas no pré-parto para prevenir doenças metabólicas

durante o pós-parto, especialmente em vacas de alta produção. Vacas com altos valores de AST antes do parto (> 35 U/L), tem mais tendência a sofrer problemas de infertilidade, paresia de parto e retenção de placenta que vacas com baixos valores (< 25 U/L). Valores altos de AST e baixos valores de colesterol e de albumina revelam, com razoável certeza, transtornos na função hepática. Em aves e outros animais, a AST pode indicar toxicidade por ionóforos usados como drogas anticoccidiais. Lesões no músculo cardíaco também são demonstradas pelo aumento da AST. Cardiomiopatias diversas podem causar este efeito, assim com endocardites bacterianas, dirofilariose, trombose aórtica e infarto do miocárdio. Quando estiver presente congestão hepática por problema cardíaco, a enzima provavelmente está elevada devido ao fígado congesto (BUSH, 1991). O aumento da AST sérica pode ocorrer em patologias de localização no sistema nervoso central. Quando isto ocorrer, sugere uma grande lesão do parênquima e um prognóstico ruim.

Amilase (Amyl)

A amilase é uma metaloenzima Ca^{2+} dependente que atua no intestino hidrolisando polímeros de glicose (amido, amilopectina e glicogênio) nas ligações glicosídicas α -1, 4, produzindo maltose e dextrina limite. A alfa-amilase está presente em vários tecidos (glândulas salivares, cérebro, pulmão), mas em maior quantidade no pâncreas e duodeno. O cão não possui alfa-amilase nas glândulas salivares, embora outras espécies a possuam (KRAMER, HOFFMANN, 1997). Grande parte da amilase sangüínea é removida pela filtração renal e eliminada na urina. Portanto, uma das causas prováveis de hiperamilasemia é a diminuição da filtração glomerular. No entanto, se esta causa for eliminada, amilase tem uma alta especificidade para lesão pancreática. Em casos mais raros pode ocorrer aumento da amilase sangüínea por trauma cerebral.

Arginase (Arg)

Esta enzima apresenta aumento de atividade após uma injúria aguda do fígado, retornando aos valores normais mais rapidamente que a ALT e AST. Em hepatites necróticas crônicas pode manter níveis elevados, com um mal prognóstico para o animal. A arginase já foi demonstrada em várias espécies, mas pode ter valor diagnóstico em eqüinos, bovinos, ovinos, caprinos e cães (TENNANT, 1997).

Colinesterase (Che)

Existem das enzimas conhecidas por este nome, a acetilcolinesterase (AChE) ou colinesterase verdadeira, e a butilcolinesterase (ButChe), ou pseudocolinesterase. As duas apresentam os mesmos ativadores e inibidores, diferenciando-se principalmente pelo local onde são produzidas. A acetilcolinesterase é uma enzima integrante da junção mioneural. Da

substância branca do cérebro, fígado, pâncreas e mucosa intestinal, O aumento da atividade destas enzimas no sangue pode estar relacionado à lesão no sistema nervoso central. A acetilcolinesterase normalmente é solicitada pelo veterinário quando existe a suspeita de intoxicação por organofosforados ou carbamatos. Neste caso, o significado clínico será dado pela diminuição da atividade enzimática no sangue e não pelo seu aumento. A intoxicação por organofosforados causa uma inibição relativamente estável da enzima, enquanto que aquela causada por carbamatos é muito lábil. A acetilcolinesterase serve para fazer o diagnóstico diferencial entre as substâncias tóxicas, uma vez que não tem uma relação muito grande com a gravidade dos sinais clínicos (OSWEILER, 1998). A diminuição da atividade enzimática das colinesterases pode ocorrer por má nutrição, anemia ou doenças hepáticas. Já os aumentos da ChE são vistos em lesões cerebrais (abscessos) ou em hiperlipoproteinemia.

Creatina quinase (CK)

Esta enzima também é conhecida pelo nome de creatina fosfoquinase (CPK). A CK possui quatro isoenzimas. A CK-MM está presente nos músculos esquelético e cardíaco. A CK-BB está presente no cérebro, e a CK-MB é uma isoenzima encontrada no coração. A CK-Mt é uma enzima mitocondrial que responde por até 15% da atividade da CK cardíaca (KRAMER; HOFFMAN, 1997). A CK é a enzima mais sensível para indicar lesão muscular. Pode ocorrer um incremento na atividade plasmática desta enzima por injeção intramuscular, decúbito prolongado, convulsões, tremores, traumas, excesso de exercício, necrose, cirurgias, choque, esforço do parto, miopatias nutricionais que envolvam deficiência de vitamina E e selênio. Em problemas musculares, é conveniente dosar também AST. A CK aparece elevada antes da AST e também desaparece primeiro. Assim, o padrão enzimático dessas enzimas pode indicar o estágio do problema. CK aumentada com baixa AST indica lesão recente, níveis persistentemente alto das duas indica lesão continuada, enquanto que níveis baixos de CK e altos de AST indicam processo de recuperação.

Fosfatase alcalina (ALP, FAS)

A fosfatase alcalina está presente no intestino, nos rins, no fígado e nos ossos. Kramer e Hoffmann (1997) citam duas isoenzimas, uma de origem intestinal e outra inespecífica. Além delas, existe uma isoenzima induzida por corticosteróide. É citado que no soro de cães podem ser encontradas isoenzimas de origem óssea, hepática e induzida por corticosteróide. Alguns pesquisadores citam que existe ainda uma isoenzima de origem placentária, mas que, assim como a isoenzima renal, não comumente encontrada no soro. Isoenzima induzida por corticosteróide pode estar presente nos cães com hiperadrenocorticism, cão em tratamento, ou secundário a doenças prolongadas pelo efeito do stress (CORNELIUS, 1996). Além dos corticosteróides, outras drogas induzem ao aumento da fosfatase alcalina. Willard, Tvedten e

Turnwald (1993) citam, como drogas que podem causar hiperatividade da fosfatase alcalina, os esteróides, barbitúricos, cefalosporinas, fenorbabital, fenotiazinas, fenilbutazona, tetracilinas, tiabendazol e halotano. A Fosfatase Alcalina de origem óssea pode estar aumentada em animais jovens, em consolidação de fraturas, hiperparatireoidismo, osteossarcoma, osteomalácia ou na deficiência de vitamina D. Lorenz (1996) cita a deficiência de cálcio como um fator de elevação da ALP. Em ratas foi observada uma relação negativa entre progesterona e estradiol com a atividade da fosfatase alcalina. Os animais cadastrados apresentaram uma maior atividade da enzima que os inteiros. Os felinos possuem uma menor quantidade hepatocelular de fosfatase alcalina, e que é rapidamente eliminada pelos rins. Além disso, nem toda hepatopatia significativa causa um aumento significativo da enzima. Em cães, a hepatopatia que causa aumento da fosfatase alcalina, cursa com colestase. A obstrução biliar extra-hepática, assim como a introdução por corticosteróides pode aumentá-la em até 10 vezes. Necrose hepatocelular geralmente cursa com aumento transitório da fosfatase alcalina (WILLARD; TVEDTEN; TURNWALD, 1993).

Gama-glutamil transferase (GGT)

Também é conhecida como gama glutamil transpeptidase (GTP). Presente em todas as células com exceção do músculo. Apresenta grande atividade nos rins e no fígado, mas somente aquela de origem hepática é normalmente encontrada no plasma, pois a de origem renal é excretada na urina. O aumento da atividade da enzima ocorre, em todas as espécies examinadas, após colestase. Em felinos, mas não em cães, pode ser utilizada no lugar da fosfatase alcalina, com maior sensibilidade e especificidade para o fígado. Por isso é mais utilizada em gatos do que em cães. Em cães pode ser induzida pelo tratamento com prednisolona, sem causar colestase. Em filhotes de cão, a GGT pode atingir valores de até 25 vezes o valor normal para cães adultos. Aparentemente os cães também absorvem a GGT a partir do colostro (CENTER; HORNBuckle; HOSKINS, 1997). Em bovinos e ovinos, a GGT é transferida para filhotes pelo colostro (KRAMER; HOFFMANN, 1997). Desta forma, é possível usar a GGT como forma de monitorar a ingestão de colostro pelos terneiros, embora com menor eficiência que a imunoglobina G. Foi demonstrado que a GGT é rapidamente absorvida pelos filhotes, mas que após algum tempo ela não é mais absorvida. Os níveis de GGT começam a diminuir no soro, e aos 21 dias estabilizam. Feitosa e Birgel (2002) não encontraram diferenças entre os níveis de GGT de vacas holandesas no periparto, confirmando que esta enzima não sofre alteração pelos efeitos do parto ou da colostrogênese. Muller (2001) descreve que animais infestados com *Fasciola hepática* têm os níveis de GGT aumentados cerca de 6 semanas após infecção.

Glutamato desidrogenase (GLDH)

É uma enzima utilizada para avaliar necrose hepática em ovinos, caprinos e bovinos. Pode aumentar também no parto e associado à obstrução de ducto biliar (TENNANT, 1997). Normalmente a GLDH tem uma resposta mais rápida do que a GGT, mas também volta aos níveis normais mais rapidamente. Muller (2001) descreve que animais infestados com *Fasciola hepática* têm os níveis de GLDH aumentados até cerca de 2 semanas após a infecção, enquanto a GGT aumenta só a partir da sexta semana.

Glutation peroxidase (GSH-Px)

É uma enzima intracelular presente nos eritrócitos, que contém quatro átomos de selênio por molécula. A GSH-Px representa mais de 75% do selênio sanguíneo. O fato de existir uma boa correlação entre a atividade enzimática nos eritrócitos e a concentração de selênio faz com que a GSH-Px seja usada para avaliar deficiência deste mineral. Como a enzima é intracelular, normalmente ela é avaliada como unidades por miligrama de hemoglobina (U/mg de Hb) ou unidades por decilitro de hemácias (U/dl de hemácias). A deficiência de selênio é conhecida por estar relacionada a uma maior incidência de mastite, degeneração testicular, imunossupressão, aborto, retenção de placenta, miopatia cardíaca, doença dos músculos brancos entre outras. A GSH-Px pode ser usada para avaliar a melhor forma de suplementar o mineral e sua resposta frente à doença e correlação com ganho de peso. Foi verificado que animais deficientes em selênio, quando submetidos a esforços físicos intensos, têm uma maior lesão tecidual e por consequência um nível mais elevado de outras enzimas como a AST, CK e LDH.

Lactato desidrogenase (LDH)

A LDH catalisa a oxidação reversível do lactato para piruvato com o cofator NAD. É uma enzima presente em vários tecidos, em particular no músculo esquelético, músculo cardíaco, fígado e eritrócitos, mas também nos rins, osso e pulmões. Existem cinco isoenzimas conhecidas, que não são comumente analisadas nos laboratórios veterinários. Isoladamente a enzima não é específica para nenhum órgão. Qualquer intensidade de hemólise é prejudicial, pois o extravasamento de enzimas eritrocitárias ainda incrementa a atividade total da LDH no plasma. Lesões musculares de etiologias variadas podem estar relacionadas ao aumento da LDH. A LDH pode ser utilizada para avaliar cardiomiopatias diversas (isquemia, endocardite bacteriana, dirofilariose, trombose aórtica e infarto do miocárdio). Normalmente a LDH aumenta menos rapidamente que a CK, mas também mantém os valores elevados por mais tempo. A concentração de LDH nos eritrócitos é 150 vezes maior do que no plasma. Portanto, uma hemólise leve é detectada por aumento nos níveis desta enzima no soro. Smith (1993) considera comum o aumento de LDH, em grandes animais, por problemas hepáticos como colelitíase, fasciolose e insuficiência hepática.

Lipase (Lip)

A lipase catalisa a hidrólise de triglicerídeos liberando 2 ácidos graxos e um 2-monoglicerídeo. A lipase pancreática é a mais abundante de todas as lipases do plasma. Sua presença elevada no soro é indicativo de pancreatite, especialmente em cães. Normalmente é medida em conjunto com a amilase para diagnosticar pancreatite, Brobst (1997) cita que a lipase pode aumentar por doenças hepáticas e renais. Além disso, a manipulação de vísceras durante cirurgia (estômago, fígado, intestino) pode ter o mesmo efeito. Também existe evidência de aumento de concentração de lipase pela administração de dexametasona. Também há relatos de neoplasias hepáticas e pancreáticas produtoras de lipase.

Sorbitol desidrogenase (SDH)

É uma enzima com uma vida muito curta, de no máximo 24 a 48 horas e apresenta um pico logo após a lesão retornando aos valores normais em cerca de três dias. Por este motivo deve ser analisada rapidamente (MEYER; COLES; RICH, 1995). É utilizada em eqüinos para diagnosticar lesão hepatocelular aguda, mas também pode ser utilizada em ruminantes, substituindo a GLDH.

Tripsina

Esta enzima é produzida inicialmente pelo pâncreas na forma de tripsinogênio, sendo convertido em tripsina pela enteroquinase intestinal ou pela própria tripsina. No plasma, ela pode ocorrer na forma de tripsina, tripsinogênio ou do complexo antitripsina. Um tipo de imunoensaio específico é capaz de detectar as três formas de tripsina, e é chamado de TLI (trypsin-like immunoreactivity ou imunorreatividade semelhante à tripsina). O aumento da TLI pode ocorrer nos casos de pancreatite aguda (KRAMER; HOFFMANN, 1997).). Em alguns casos os valores encontrados não apresentaram uma magnitude suficiente para um diagnóstico conclusivo (Dimiski, 1999).

Outras enzimas

Algumas outras enzimas podem ser utilizadas na medicina veterinária. No entanto, devido aos custos elevados, dificuldade de realizar os testes ou à baixa especificidade que oferecem, acabam substituídas por outras enzimas.

Piruvato quinase (PK): Pode ser utilizada para avaliar lesões musculares.

Fosfatase ácida (AcP): Utilizada em medicina humana no diagnóstico de câncer de próstata, hiperparatireoidismo, hemólise, destruição de plaquetas e câncer de mama. Tem uso restrito em veterinária.

Transcetolase (TK): É uma enzima intra-eritrocitária que pode estar aumentada na acidose láctica nos bovinos e em casos de necrose cerebrocortical (DIURKSEN, GRÜNDER; STÖBER, 1993).

Aldolase (Ald): Esta enzima tem boa especificidade por lesões do fígado e nos músculos esquelético e cardíaco. A atividade sèrica pode estar aumentada em hepatites virais< tumores hepáticos< infarto do miocárdio e lesões dos músculos esqueléticos. A dificuldade de realizar o *ensaio de* determinação da atividade da aldolase faz com que seja substituída por testes mais fáceis e rápidos.

Referências bibliográficas

- BROBST, D. F. Pancreatic function. IN: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997.cap.14, p. 353-366.
- BUSH, B. M. **Interpretation of laboratory results for small animal clinicians**. Oxford: Blackwell Scientific, 1991.
- CENTER, S. A.; HORNBUCKLE, W. E.; HOSKINS, J. D. O fígado e o pâncreas. In: HOSKINS, J. D. (Ed.) **Pediatria Veterinária: cães e gatos do nascimento aos seis meses**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1997.Cap 11, p.235-256.
- CORNELIUS, L.M. Anormalidade do perfil Bioquímico padrão. In: LORENZ, M. D.; CORNELIUS, L. M. (Ed.) **Diagnóstico clínico de pequenos animais**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996. Cap. 61, p. 435-478.
- DIMSKI, D. S. Fígado e pâncreas exócrino.In: GOLDSTON, R. T.; HOSKINS, J. D.(Ed.) **Geriatrica e Gerontologia: cães e gatos**. São Paulo: Roca, 1999.Cap.11, p.227-250.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.; STÖBER, M.Rosenberger: **Exame clínico dos bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1993.
- FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H. Variação da concentração de imunoglobulinas G e M, de proteína total e suas frações eletroforéticas e da atividade da gamaglutamiltransferase no soro sanguíneo de vacas holandesas, antes e após o parto. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2000, v.52, n.2, p.11-116.
- GELLA, J. Enzimologia clínica. In: SASTRE, F. G. (Ed.) **Bioquímica clínica**. Barcelona: Barcanova, 1994. p.113-124.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução a bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: UFRGS, 2003.
- KRAMER, J. W.; HOFFMANN, W. E. Clinical enzymology. IN: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. cap.12, p.303-325.
- LORENZ, M. D. Atraso do crescimento. In: LORENZ, M. D.; CORNELIUS, L. M.(Ed.) **Diagnóstico clínico de pequenos animais**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interlivros,1996. cap. 12 , p. 72-77.
- MEYER, D. J.;COLES, E. H.; RICH, L.J. **Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico**. 1. ed. São Paulo:Roca,1995.
- MÜLLER, G. Fasciolose. In: RIET-CORREA, F. et al. (Ed.) **Doenças de ruminantes e eqüinos**.São Paulo:Varela, 2001. v.2, cap.1, p.118-130.
- OSWEILER, G. D. **Toxicologia veterinária**. Porto Alegre: ArtMed, 1998. p.526.
- SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, 1993.
- SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada a medicina veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan,1999.
- TENNANT, B. C. Hepatic function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L.(ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic Press,1997.cap.13, p.327-352.
- WILLARD, M.; TVEDTEN, H.; TURNWALD, G. H. **Diagnóstico clínico patológico pratico en los animales pequeños**. Buenos Aires: Intermedica, 1993.

Apêndice. Interpretação e valores de referência de enzimas séricas de interesse diagnóstico, no cão e no gato.

Enzima	Valores de referência (U/L)	Interpretação
ALP	20-156(cão) 25-93(gato)	Colestase, dano hepático, indução por esteróides, animais em crescimento, neoplasia, inanição, doenças ósseas (tumores, consolidação de fraturas, osteomalácia), prenhez, deficiência de vitamina D e doenças endócrinas (hiperadrenocorticism, diabetes mellitus, hiperparatireoidismo, hipertireoidismo).
ALT	21-102(cão) 6-83(gato)	Dano hepático (hepatites tóxicas ou infecciosas, trauma, neoplasia, hipóxia, amiloidose), indução por drogas e miocardite.
Amyl	185-700(cão)	Pancreatite aguda, insuficiência renal e distúrbios do TGI (obstrução ou torção intestinal, úlcera duodenal).
AST	23-66(cão) 26-43(gato)	Dano hepático, lesão de músculos esqueléticos, esforço excessivo e doenças cardíacas (isquemia, endocardite, dirofilariose, trombose aórtica, infarto do miocárdio).
CK	1,15-28,4(cão) 7,5-28,2(gato)	Lesão e músculos esqueléticos, lesões do miocárdio (infarto, isquemia), esforço excessivo, hipertireoidismo, lúpus eritematoso sistêmico.
GGT	1,2- 6,4(cão) 1,3-5,1(gato)	Lesões hepáticas e obstrução do trato biliar.
LDH	45-233(cão) 63- 273(gato)	Lesão de músculo esquelético, lesão do músculo cardíaco e doenças hepáticas.
Fonte: Kaneko et al. (1997).		