

METABOLISMO E MECANISMOS DE AÇÃO DE COMPOSTOS HEPATOTÓXICOS*

INTRODUÇÃO

O fígado executa um grande número de funções, dentre as mais importantes, o armazenamento e biotransformação das substâncias que recebe pela corrente sanguínea e sistema portal. Normalmente biotransforma e acumula substâncias úteis para o organismo, tais como a glicose, na forma de glicogênio, aminoácidos, gorduras e vitamina A e vitamina B₁₂. Os tóxicos sofrem algumas reações no fígado, que os convertem em substâncias menos tóxicas ou não tóxicas de fácil excreção, neste caso se diz que o fígado fez uma desintoxicação. Para realizar suas funções, o fígado conta com uma grande quantidade de enzimas com funções oxidativas e redutivas, entre as quais se encontram o sistema de citocromo da proteína 450 (P-450), flavina-monooxigenases, peroxidases, hidroxilases, esterases e amidases. Outras enzimas também presentes são as glicuroniltransferases, as sulfattransferases, metilases, acetiltransferases, tioltransferases. Todas estas enzimas têm grande importância nas biotransformações dos tóxicos.

O fígado produz e regula a concentração de certas substâncias do sangue, tais como albumina, fibrinogênio e a maioria das globulinas e proteínas da coagulação. Quando ocorre descontrole destas substâncias, o organismo fica com as defesas baixas e suscetível a problemas de coagulação.

Um xenobiótico é qualquer substância que não tenha sido produzida pelo organismo, tais como os produtos industriais, drogas terapêuticas, aditivos de alimentos, compostos inorgânicos, etc. Ao conjunto de caminhos metabólicos, nos quais os tecidos aumentam a polaridade de um tóxico chama-se biotransformação. Podemos dizer que a biotransformação de um tóxico consiste fundamentalmente em converter um xenobiótico não polar em um composto solúvel em água. Este é o mecanismo mais comum que os organismos usam para eliminar os tóxicos ambientais.

Em alguns casos, a biotransformação resulta na produção de um metabólito que é mais tóxico que o composto original, esse processo denomina-se bioativação. Se estes metabólitos se acumulam e vencem as defesas do organismo, então podem produzir uma lesão que se manifesta por uma resposta tóxica.

HEPATOTOXICIDADE

Hepatotoxicidade tipo I (intrínseca, previsível).

Ocorre quando se produz uma lesão característica e lesões semelhantes ocorrem nas diferentes espécies expostas à mesma substância tóxica. A gravidade da resposta está relacionada com a dose, havendo um breve período de latência previsível antes da resposta clínica. A resposta a estas hepatotoxinas é reprodutível experimentalmente, podendo ser classificadas em diretas e indiretas.

As hepatotoxinas diretas normalmente lesam uma variedade de tecidos, incluindo fígado. Elas afetam muitas organelas ou membranas e atuam após um breve período de latência. As hepatotoxinas indiretas afetam rotas metabólicas específicas. Elas alteram a organização metabólica das células e causam lesão por produzirem uma deficiência de enzimas ou cofatores

* Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal (VET00036) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS pela aluna JOSIANE BONEL RAPOSO, no primeiro semestre de 2002. Professor da disciplina: Félix H. D. González.

chaves. A resposta a hepatotoxinas indiretas pode ser mais localizada e sutil do que as respostas a hepatotoxinas diretas.

Hepatotoxicidade tipo II (idiossincrásica, imprevisível, relacionada com a droga).

Ocorre quando as lesões são mais variáveis do que aquelas da hepatotoxicidade do Tipo I e podem ser acompanhadas por uma reação alérgica. Os efeitos não estão relacionados com a dose, não há um período de latência distinto entre o tempo de exposição e a resposta. Somente uma pequena fração da população exposta é suscetível e a síndrome não pode ser reproduzida experimentalmente. Esta ausência de reprodutibilidade experimental pode ser causada por mecanismos imunes, ou, alternativamente, alguns animais podem ser muito sensíveis ou, ainda, não ter a enzima responsável pela detoxificação.

A maioria dos compostos exógenos que entram no organismo sofre uma série de alterações estruturais mediante diversos processos de biotransformação. Nesse momento estas alterações estruturais podem provocar o aparecimento de novas enfermidades.

Uma quantidade crescente destas substâncias denominadas *xenobióticos*, consumidas diariamente pelo homem são capazes de provocar reações adversas. Entretanto, com frequência as alterações se produzem no contexto de outra enfermidade que tenha motivado o consumo do medicamento, o que contribui para dificultar o diagnóstico.

A maioria dos xenobióticos é lipossolúvel, característica que permite sua absorção por difusão passiva através da membrana apical lipídica dos enterócitos. Depois de absorvidos, percorrem o organismo unidos a proteínas plasmáticas, basicamente a albumina, ou se ligam ao tecido adiposo. Os sistemas de desintoxicação preferentemente hepáticos, servem para dar maior polaridade, a fim de facilitar sua excreção. O fígado os modifica para aumentar sua polaridade e torná-los hidrossolúveis. As moléculas já hidrossolúveis, podem voltar ao plasma e serem eliminadas pela urina, ou passar para a bile e serem eliminados com as deposições (Figura 1). Desta forma, a eficiência da eliminação de substâncias lipofílicas, depende de sua conversão a substâncias polares e hidrossolúveis, fenômeno que é habitualmente o fator limitante na eliminação das drogas do organismo.

O estudo das reações que constituem a biotransformação é de grande importância, porque permitem entender os mecanismos pelos quais os tecidos se defendem dos tóxicos, e também como em algumas ocasiões ocorre o contrário, aumentando a toxicidade no interior do corpo. Esses mecanismos de biotransformação podem dividir-se em duas fases, que dependem de distintos processos bioquímicos: fase I e fase II.

A fase I biotransforma os xenobióticos convertendo-os em substratos das enzimas da fase II, ao mesmo tempo em que os tornam mais hidrófilos. A fase II compreende reações de conjugação, nas quais um metabólito com ligação de alta energia cede um grupo funcional polar ao xenobiótico, ou seu produto de transformação pela fase I (Figura 1).

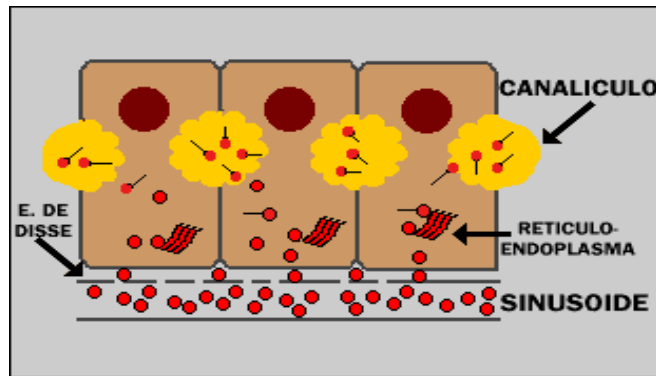


Figura 1. Esquema de transporte de xenobióticos ao fígado:
As moléculas entram através do espaço de Disse e vão ao sistema microssomal (retículo endoplasmático) conferindo a polaridade suficiente para ser excretadas pela bile de volta ao sangue.

Biotransformação de fase I.

É um conjunto de reações de oxidação que preparam os tóxicos para serem transformados pelas reações da fase II (Figura 2). Ocorre a transformação dos grupos funcionais do xenobiótico em sítios que podem levar a reações da fase II ou introduzir grupos novos que lhe dêem esta característica. Para fazer este trabalho as células utilizam os sistemas de enzimas, que tenham a função de introduzir no substrato um átomo de oxigênio proveniente do oxigênio molecular (oxigenases de função mista). Estes dois sistemas são as amino-oxigenases e os citocromos P-450. Ambos sistemas encontram-se localizados no retículo endoplasmático. As amino-monoxigenases oxidam aminas e compostos sulfurados.

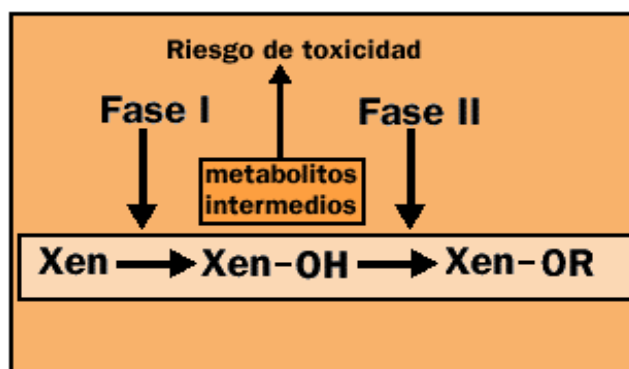


Figura 2. Esquema geral do metabolismo de xenobióticos (Xen): As fases I e II, conferem polaridade à droga para ser excretada. Ambos fenômenos podem ser sucessivos. Algumas drogas somente entram na Fase II e nelas não causam risco de toxicidade.

Os citocromos P-450 estão formados por duas proteínas diferentes, uma tem função de redutase e a outra é uma hemoproteína com atividade de oxigenase. A oxigenase é uma proteína, que em estado reduzido e monóxicaarbonada, apresenta um pico de absorção a 450 nm (denominação a esta família de enzimas).

O mecanismo da reação de oxidação do xenobiótico catalizada pelo citocromo P-450, em termos gerais é o seguinte:

- o xenobiótico entra em seu sítio ativo que se encontra na oxigenase;
- a redutase transfere um elétron ao ferro hemático reduzindo-lo de nível (III) a (II);
- a redução abre o sítio ativo do O_2 ;
- o O_2 entra no seu sítio ativo e oxida ao xenobiótico que está na superfície da enzima transferindo-lhe um dos átomos de oxigênio (Figura 3).

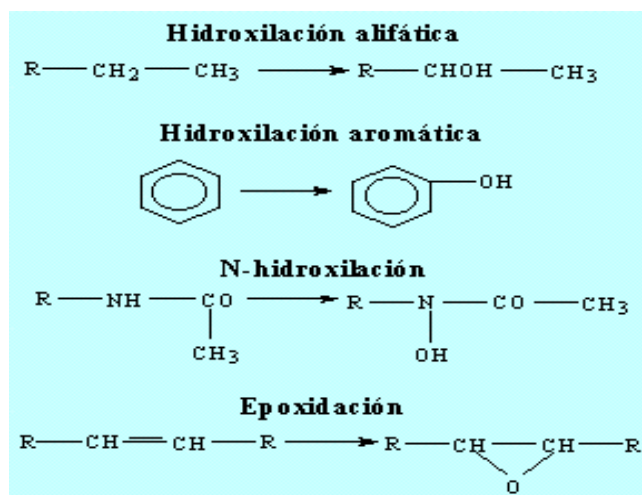


Figura 3. Reações comuns de oxidação na Fase I.

Os metabólitos gerados a partir de hemoproteínas são principalmente de dois tipos: eletrófilos e radicais livres. Os eletrófilos são produzidos pela oxidação de drogas e geram metabólitos ativos, que atuam como arilantes ou alquilantes, unindo-se covalentemente a sítios nucleofílicos, exercendo sua toxicidade através da formação de ligações covalentes.

Os radicais livres são produzidos por reações oxidativas ou redutivas dos sistemas de citocromo P-450, podendo se ligar covalentemente a proteínas ou ácidos graxos não saturados. Extraem elétrons destes ácidos graxos a partir de fosfolípidos de membrana. Os radicais livres podem se combinar com oxigênio e formar radicais peroxidados de ácidos graxos, que retiram elétron do ácido graxo não saturado imediatamente adjacente. Ocorrendo uma reação em cadeia, que é capaz de autopropagar-se, alterando gravemente a composição das membranas (Figura 4).

As reações de redução mais comuns são a transformação de nitroderivados aromáticos a aminas, a azoredução de aminas primárias e a desalogenação redutiva. A redução pode dar lugar a formação de um radical livre mais tóxico que o xenobiótico original, capaz de produzir alterações no DNA. Esta biotransformação é então uma bioativação. Por exemplo, o tetracloreto de carbono sofre a desalogenação redutiva produzindo o radical livre triclorometilo.

Portanto, a biotransformação de fase I é catalizada pelos sistemas de citocromos P-450 (Cit P450) e afins, levam a formação de metabólitos intermediários mediante reações metabólicas redutivas e oxidativas. Estas permitem posteriormente a conjugação dos metabólitos intermediários formados, aumentando assim sua polaridade, na chamada fase II. As reações adversas a drogas se relacionam com a presença de metabólitos intermediários na fase I. A Figura 4 resume as reações de redução em que atuam os citocromos P-450.

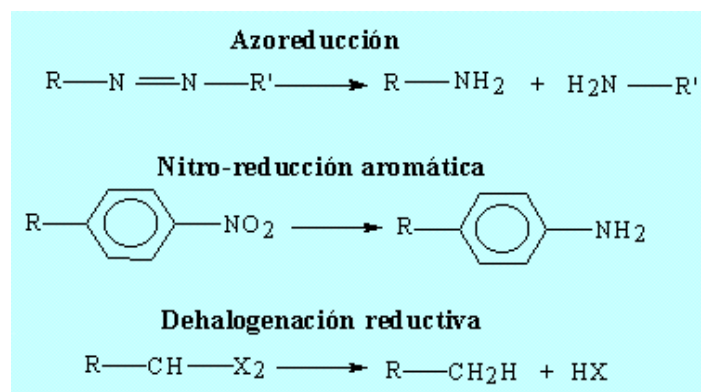


Figura 4. Reações de redução catalisadas pelo citocromo P-450.

Os citocromos P-450 expõem grupos funcionais catalizando reações de desalquilação, desaminação e desalogenação (Figura 5). As peroxidases catalizam reações entre os xenobióticos e os peróxidos endógenos, permitindo, ao mesmo tempo, que a célula oxide ao xenobiótico e se livre destes compostos endógenos altamente tóxicos. O produto desta reação é um álcool que pode ser detoxificado por uma álcool-desidrogenase.

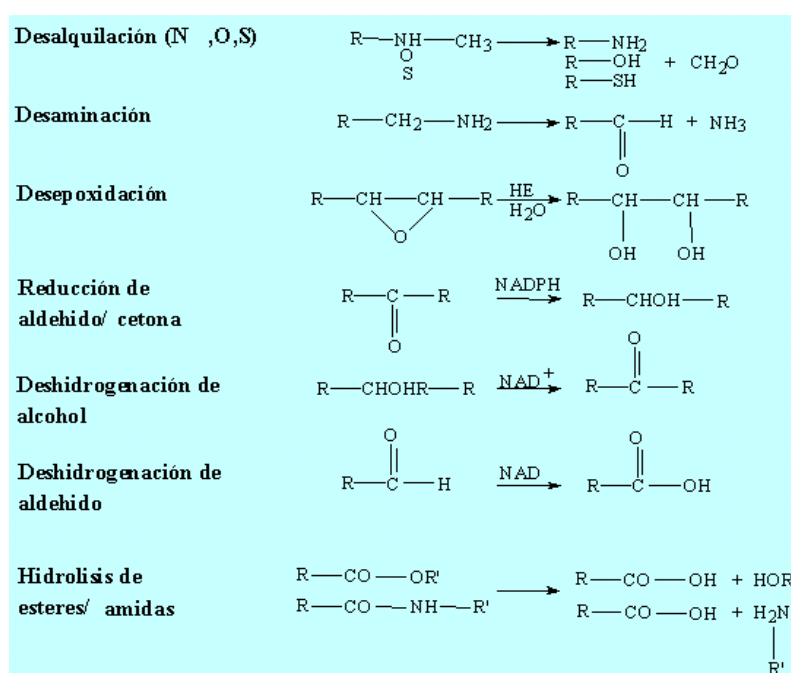


Figura 5. Reações de exposição de grupos funcionais.

Biotransformação de fase II.

Consiste em reações de conjugação, catalizadas por um conjunto de enzimas, a maioria delas localizadas no citosol. As reações consistem em unir um grupo polar de tamanho relativamente grande aos produtos das reações da fase I ou aos xenobióticos originais que contem

os grupos funcionais apropriados para serem substratos das reações de conjugação. Os doadores dos grupos polares devem ter alta energia, já que as reações de conjugação não são termodinamicamente favoráveis. O resultado que se busca com estas reações é aumentar a solubilidade do xenobiótico em água.

Reações de conjugação. (Figura 6)

Glicuronidação.

A reação consiste em unir um grupo glicuronil em um grupo hidroxila, amino ou sulfidrílico do tóxico. A enzima que cataliza a reação é a UDP glicuronil transferase e o doador do grupo polar é o ácido UDP glicurônico. A enzima está localizada no retículo endoplasmático, diferente das outras enzimas da fase II que se localizam no citosol. Os compostos glicuronidados são mais solúveis em água e aparecem na urina e na bile. Existe um grande número de xenobióticos que são substrato desta enzima.

Sulfatação.

A reação consiste na transferência de um grupo sulfato de PAPS (3'-fosfoadenosil-5'-fosfosulfato) a um grupo hidroxila ou amino do xenobiótico. A reação é catalizada por sulfattransferases, enzimas solúveis localizadas no citosol. O produto da reação é um sulfato orgânico ionizado, muito solúvel em água que se excreta na urina.

Aminoacidação.

A reação consiste na união peptídica entre o grupo amino de um aminoácido, normalmente glicina, e uma carboxila no xenobiótico. Obviamente, que é indispensável que o xenobiótico tenha um grupo carboxila para que ocorra esta reação. Estes conjugados são eliminados na urina devido ao sistema de transporte do rim reconhecer ao aminoácido.

Glutationização.

A glutatationização consiste na adição de glutathione (GSH), através de seu grupo sulfidrílico (nucleofílico), com um carbono eletrofílico do xenobiótico. A reação é catalizada pela glutathione-S-transferase e o glutathione mesmo é o cofator de alta energia. O glutathione é um tripeptídeo, Glu-Gli-Cis. O composto que se forma se rompe no rim produzindo o Cis-derivado, que se acetila para produzir um conjugado do ácido mercaptúrico, o qual se excreta na urina. Esta reação é importante na detoxificação de epóxidos e peróxidos. A glutathione-S-transferase se encontra em células de diversos tecidos. Sem esta reação diminui significativamente o nível celular de glutathione, o organismo pode sofrer alterações consideráveis devido a peroxidação de lipídios ou por outros tipos de agressão química.

Metilação.

A metilação tem um papel menor na biotransformação de xenobióticos, exceto na detoxificação de arsênico. Os compostos inorgânicos de arsênico se transformam em metabólitos monometilados e dimetilados que são menos tóxicos. A reação consiste na transferência de um grupo metila a uma hidroxila, amino ou sulfidrílico, é catalizada pelas metiltransferases e o composto doador de grupos metila é a SAM (S-adenosil-metionina). A metilação é importante na transformação de compostos endógenos e forma parte na biosíntese de vários aminoácidos e esteróides, assim como na metilação do DNA.

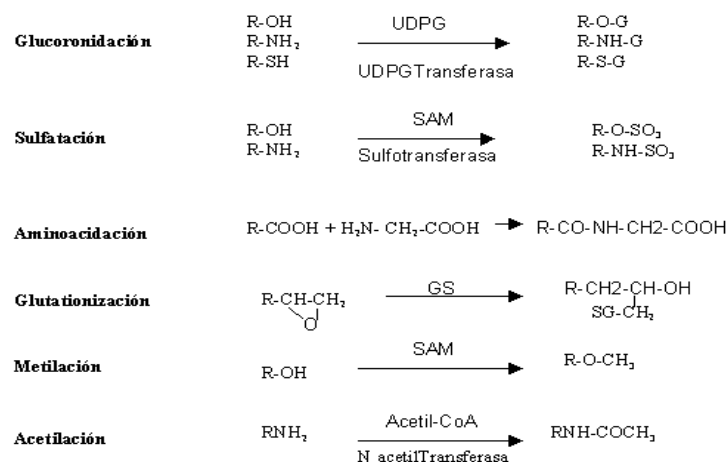


Figura 6. Reações de conjugação da Fase II.

Bioativação.

Bioativação é o conjunto de reações metabólicas que aumentam a toxicidade dos xenobióticos, ou seja que os metabólitos resultantes da biotransformação da substância absorvida sejam mais tóxicos que o composto original (Figura 7). Xenobióticos quimicamente estáveis ativam intermediários reativos durante a biotransformação. Frequentemente estes são transitórios e não podem ser isolados. A formação deles geralmente é inferida pela habilidade do fígado em alquilar ou arilar macromoléculas endógenas (e.g., ácidos nucleicos e proteínas). Essas reações formam uma ligação covalente entre o intermediário eletrofílico e o sítio neutrofilico em macromoléculas endógenas. O aumento na ligação covalente se correlaciona com a gravidade da lesão hepática, mas somente poucos intermediários reativos provavelmente se tornam ligados de forma covalente. A bioativação é medida pela formação de metabólitos específicos ou pela presença de mudanças estruturais.

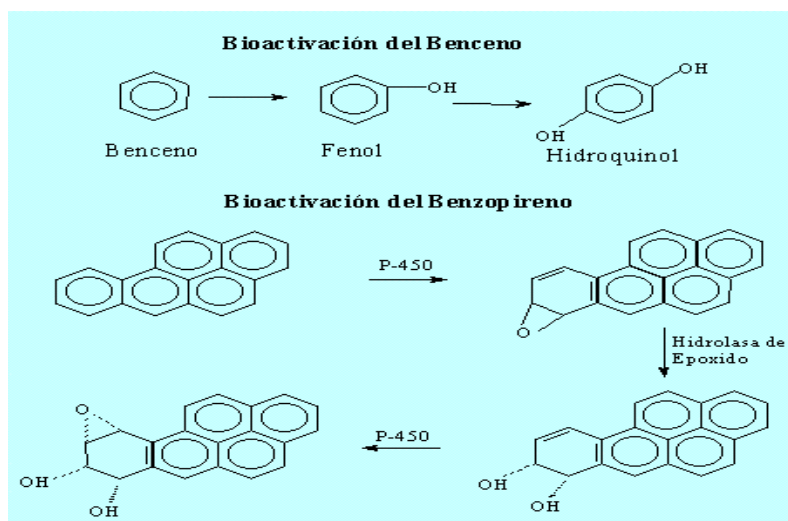


Figura 7. Exemplos de reações de bioativação.

Geralmente as bioativações são produzidas pelas enzimas da fase I, ainda que algumas das enzimas da fase II também possam bioativar alguns xenobióticos. Este efeito lateral indesejável da biotransformação ocorre quando se produzem espécies químicas muito reativas, usualmente

compostos eletrofílicos com grande afinidade pelos nucleófilos. O DNA, as proteínas e os lipídeos são nucleófilos.

As rotas de bioativação são as seguintes:

1. O tecido alvo contém as enzimas para bioativar o xenobiótico e é o sítio ativo para a espécie tóxica. O exemplo clássico desta rota é a bioativação do tetracloreto de carbono via desalogenação pela P-450 do fígado, produzindo o radical livre triclorometilo, o qual reage com proteínas e lipídios do fígado.

2. Um tecido não alvo bioativa o xenobiótico, o qual experimenta outra bioativação no tecido alvo. Por exemplo, o benzeno é oxidado a fenol pelos citocromos P-450 do fígado e este composto se transporta até a medula óssea, onde se transforma em hidroquinol, um diol que causa alteração na medula óssea.

3. Um tecido não alvo bioativa o xenobiótico, o qual tem seus efeitos no tecido alvo. Por exemplo, o hexano se transforma em 2,5-hexanodiona pela ação de P-450 e álcool desidrogenase do fígado. Este metabólito produz ligações cruzadas nos neurofilamentos causando alterações nos nervos periféricos.

ETIOLOGIA DA INSUFICIÊNCIA HEPÁTICA AGUDA GRAVE (IHAG).

A IHAG pode ter diversas etiologias (Figura 8). Sendo a etiologia viral a mais freqüente., sendo razoável supor que a profilaxia das enfermidades infecciosas irá alterar o espectro etiológico no futuro. O desenvolvimento tecnológico faz cada vez mais freqüente o uso de medicamentos e produtos químicos potencialmente hepatotóxicos. Em alguns países do hemisfério norte, a lesão hepática aguda por paracetamol constitui hoje em dia uma freqüente causa de lesão hepática fulminante.

ETIOLOGIAS DE LA IHAG	
1 Virus:	• Virus de la hepatitis (A,B,C,D,E?) • Otros virus
2 Tóxicos:	• Tetracloruro de carbono • Compuestos fosforados • Hongos (Amanita Falloides)
3 Fármacos:	• Paracetamol • Isoniacida • Halotano • Tetraciclinas • Inhibidores de la MAO • Antiinflamatorios no esteroidales • Antitiroideos
4 Vascular:	• Hepatitis isquémica • Budd Chiari agudo • Ligadura de arteria hepática más trombosis de vena porta
5 Esteatosis aguda del embarazo	
6 Miscelánea:	• Enfermedad de Wilson • Síndrome de Reye • Hepatitis autoinmune • Infecciones bacterianas sistémicas • Invasión tumoral hepática masiva

Figura 8: Etiologias da insuficiência hepática aguda grave (IHAG).

A Hepatite Viral Aguda é a causa mais freqüente de IHAG, seguida em ordem de freqüência por tóxicos e fármacos, lesões vasculares e infiltrações gordurosas do tipo microvesicular. Os vírus mais freqüentemente responsáveis são os vírus da hepatite A, B, C, e D. A probabilidade de evolução, assim como a gravidade e mortalidade da mesma, dependem do tipo de vírus. Porém, a prevalência de diferentes vírus é variável nas diversas áreas geográficas.

Patogenia da hepatotoxicidade.

Apesar das diferenças teóricas entre lesão provocada por propriedades intrínsecas da droga e secundária a hipersensibilidade, deve-se considerar que os mecanismos mediante os quais se exercem ambos tipos de lesão apresentam algumas características comuns. A lesão é sempre consequência da alteração de estruturas, seja da membrana celular ou das organelas subcelulares, ou bem secundário a alteração direta de enzimas ou transportadores vitais para a célula. Para que um determinado xenobiótico provoque lesão, dependerá da dose, de sua forma estrutural e dos mecanismos que utilize o organismo para conferir-lhe polaridade e lhe excretar.

Diagnóstico da hepatotoxicidade.

O diagnóstico de hepatotoxicidade realiza-se baseado nas avaliações clínica, laboratorial e de biópsia ou necrópsia.

Sinais clínicos.

São similares para uma variedade de hepatotoxinas e outros agentes. Na necrose hepática aguda ou insuficiência hepática observa-se depressão, anorexia, dor abdominal e vômito. Se a fase aguda se torna mais grave e avançada podem ocorrer icterícia, hepatomegalia, estupor ou coma encefalopatia hepática. Se a síntese de fatores de coagulação é inibida pode ocorrer coagulopatia.

A encefalopatia hepática está associada com hiperamonemia, que ocorre quando o fígado não metaboliza adequadamente os produtos finais do metabolismo do nitrogênio ou da amônia que é produzida pela redução de bactérias intestinais. As concentrações de amônia não estão diretamente correlacionadas com os sinais clínicos porque outros metabólitos tóxicos (p.ex., mercaptanos, metionina e ácidos graxos de cadeia curta) também podem contribuir para a hiperamonemia. A toxicidade da amônia é aumentada quando ocorre alcalose sistêmica, possibilitando que a amônia não ionizada atravessasse a barreira sangue-cérebro.

A insuficiência hepática subaguda é uma extensão da insuficiência hepática aguda. Ocorre usualmente quando a exposição às substâncias tóxicas é mínima ou quando o animal sobrevive à fase aguda. Os sinais clínicos incluem vômito, anorexia e perda de peso, depressão, icterícia, possível modificação da cor das fezes, pelagem opaca e áspera e coagulopatia.

Na intoxicação hepática crônica pode ocorrer após a recuperação da forma aguda ou subaguda. A exposição prolongada a substâncias tóxicas em baixas doses também pode causar intoxicação hepática crônica. É comum a diminuição do peso, anorexia e redução da produção de leite, vômito, náuseas e material fecal descolorado ocorrem de modo intermitente. Ocorre icterícia em alguns animais. O fígado geralmente não está aumentado nem palpável, e pode tornar-se menor e fibrótico. A cirrose verdadeira (destruição da arquitetura hepática normal por fibrose do septo que circunda os nódulos regenerativos dos hepatócitos) é rara em animais domésticos com hepatotoxicose crônica. A maioria das insuficiências hepáticas crônicas decorrentes de intoxicação aguda ou crônica em animais domésticos é caracterizada por fibrose acentuada, mas não envolve nódulos regenerativos. Animais em pastoreio podem desenvolver fotossensibilização secundária porque não podem excretar metabólitos da clorofila. Animais com lesão hepática podem ser mais suscetíveis a uma variedade de outras drogas e substâncias tóxicas.

Exames laboratoriais.

Em geral se avalia a atividade de enzimas séricas. A liberação de uma enzima através da membrana plasmática danificada aumenta os níveis desta enzima na circulação sistêmica. Alterações na atividade de enzimas séricas são mais úteis para a detecção de lesão hepática aguda

do que para lesões hepáticas crônicas ou alterações no depósito de gorduras. A elevação da atividade enzimática sérica está relacionada com o grau de lesões nos hepatócitos. A sensibilidade e a duração da elevação varia para cada enzima hepática. Alterações na atividade dos principais grupos de enzimas hepáticas indicam diferentes tipos de lesão hepática.

Existem duas categorias gerais de enzimas hepáticas. O primeiro grupo inclui as enzimas transaminases: alaninoaminotransferase (ALT) e a aspartato aminotransferase (AST), antes conhecidas como SGPT e SGOT. Estas são enzimas indicadoras de lesão da célula hepática. O segundo grupo inclui certas enzimas hepáticas, como a fosfatase alcalina (FA.) e a gamaglutamiltranspeptidase (GGT) as quais indicam obstrução do sistema biliar. As ALT e AST são enzimas das células hepáticas que permanecem na circulação sanguínea quando existe lesão na célula hepática. Acredita-se que a ALT seja o indicador mais específico da inflamação hepática, uma vez que a AST pode aparecer elevada em enfermidades de outros órgãos, como o coração e o músculo. No caso de lesão severa no fígado, como na hepatite viral aguda, a ALT e a AST podem estar elevadas. Na hepatite viral aguda ou na cirrose, o aumento destas enzimas pode ser mínimo (menos de 2-3 vezes do normal) ou moderado. Aumentos leves ou moderados da ALT ou AST não são específicos e podem ser causados por extensa gama de enfermidades hepáticas. A ALT e a AST são o meio usado para avaliar a evolução da hepatite crônica e a resposta ao tratamento com corticosteroides e interferón. A fosfatase alcalina e a GGT se elevam em uma grande quantidade de transtornos que afetam a drenagem da bile, como quando existe um tumor que bloqueia o conduto normal da bile, ou uma enfermidade hepática causada pelo álcool ou drogas, que ocasiona um bloqueio do fluxo da bile nos canais mais pequenos dentro do fígado.

A fosfatase alcalina pode ser encontrada também em outros órgãos, como osso, placenta e intestino. Por esta razão, a GGT é utilizada como uma prova suplementar para assegurar de que o aumento da fosfatase alcalina provém verdadeiramente do sistema biliar ou do fígado. Em contraste com a fosfatase alcalina, a GGT não aparece aumentada na enfermidade de osso, placenta ou intestino. Um aumento leve ou moderado da GGT na presença de níveis normais de fosfatase alcalina é difícil de interpretar, e em muitos casos é causado por alterações nas enzimas das células hepáticas induzidas pelo álcool ou medicamentos, porém sem que exista lesão hepática.

Enzimas que refletem lesão citotóxica inespecífica incluem aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e malato desidrogenase (MDH).

Enzimas que estão concentradas no fígado da maioria dos animais incluem a alanina aminotransferase (ALT). A ALT tem uma meia-vida de aproximadamente 60 horas nos cães. Os níveis podem permanecer elevados por 1-3 semanas após a ocorrência de toxicidade hepática.

Enzimas que são específicas do fígado incluem: ornitina carbamiltransferase (OCT), sorbitol desidrogenase (SDH) e isoenzimas LDH. SDH é sensível a hepatotoxicidade, mas tem meia-vida curta. Os níveis de SDH podem retornar ao normal dentro de 1-2 dias após a ocorrência da hepatotoxicidade.

A atividade de algumas enzimas, como a colinesterase, é diminuída por lesão hepática. Os triglicerídios hepáticos são aumentados por agentes que alteram a síntese de proteínas. A atividade da glicose-6-fosfatase é um indicador geral da lesão ao retículo endoplasmático (RE). A síntese microssomal de proteína pode estar aumentada ou reduzida.

Histologia da lesão hepática aguda por drogas.

A microscopia óptica pode confirmar a natureza e o grau da lesão hepática em animais que morrem de intoxicação. A morfologia descritiva frequentemente está relacionada com as alterações funcionais. A descrição de lesões é de utilidade limitada na determinação da causa da

toxicidade porque muitas substâncias químicas causam alterações bioquímicas e morfológicas similares. Os exames histopatológicos são úteis na estimativa da extensão da lesão.

Algumas das características mais significativas que permitem ao fígado realizar suas tarefas de biotransformação são as seguintes:

O fígado possui sistemas enzimáticos e de transporte. O hepatócito possui mecanismos normais para biotransformar compostos endógenos que recebe de forma fisiológica. Estes mecanismos adaptativos são os mesmos que utiliza para a metabolização de compostos exógenos, conseguindo pleno êxito na maioria dos casos. Devido a grande quantidade de compostos que entram em contato com o organismo, as reações adversas a drogas constituem uma exceção.

A unidade funcional, o ácino hepático tem particularidades que dependem de sua estrutura e que o fazem diferente de um ácino glandular normal, exercendo os hepatócitos diferentes funções segundo sua localização no ácino (Figura 9).

Existem diferenças estruturais, de concentração de oxigênio, de enzimas e organelas entre hepatócitos, que dependem, também, da zona acinar em que estão localizados (Figura 10).

Tudo isto permite explicar em parte porque diferentes drogas afetam anatomicamente a distintas zonas do ácino, dependendo da concentração que os potenciais metabólitos tóxicos alcancem, de acordo com a maior ou menor disponibilidade de vias metabólicas específicas em uma determinada zona de acordo com o gradiente de oxigênio que existe no ácino.

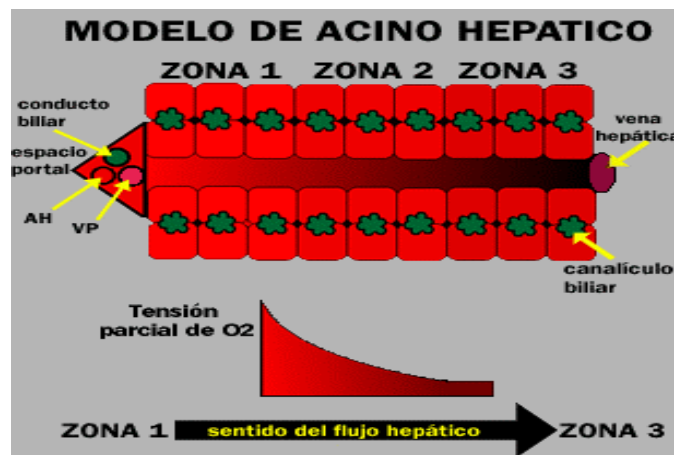


Figura 9: Esquema de ácino hepático. O sangue se distribui de forma sequencial desde a zona 1 até a zona 3, até chegar na veia hepática terminal. O sangue que entra na zona 1, está mais oxigenado do que chega na zona.

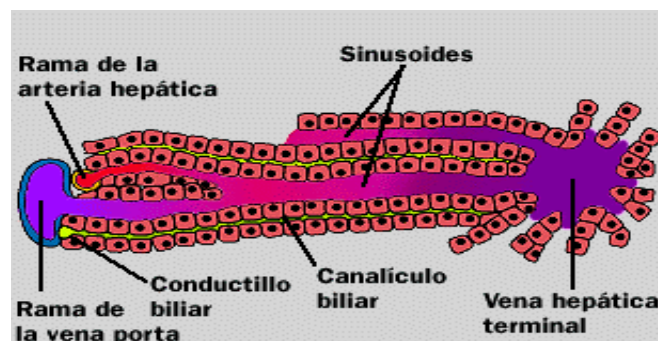


Figura 10: Esquema de ácino hepático. A distinta pressão de oxigênio nas diversas porções do ácino, condiciona diferentes características metabólicas.

A lesão histológica apresenta características variadas e em geral inespecíficas. As mais freqüentes são as seguintes:

1. Necrose hepatocelular, que se produz quando a viabilidade celular é afetada (Figura 11). Pode comprometer diferentes zonas do ácino, mais comumente a zona 3.
2. Lesão colestática, que pode ter pouca repercussão na histologia, somente com a presença de trombos biliares (Figura 12).
3. Infiltração gordurosa, que habitualmente adota a forma de gordura microvesicular e é secundária a um transtorno do transporte de lipoproteínas (Figura 13).
4. Um achado menos freqüente é a presença de granulomas e/ou a presença de eosinófilos intralobulares.

Tanto o halotano como a isoniacida e o paracetamol produzem necrose da zona 3 (Figura 14), a esteatose microvesicular é própria do uso de tetraciclina e.v. ou ácido valpróico (Figura 15), a colestase exsudativa com componente inflamatório portal se observa em casos de idiossincrasia por clorpromazina, já os trombos biliares com pouco componente exsudativo são próprios dos esteróides, particularmente dos estrogênicos. A lesão por quinidina e alopurinol se manifesta geralmente pela presença de granulomas. Estes exemplos demonstram que a histologia é muito inespecífica, não sendo muito útil como método de diagnóstico, embora ajude a classificar a lesão. Pode servir nos casos em que a responsabilidade de um fármaco não tem sido muito precisa e este não pode ser facilmente suprimido. Também é de utilidade quando se suspeita de uma lesão hepática crônica.

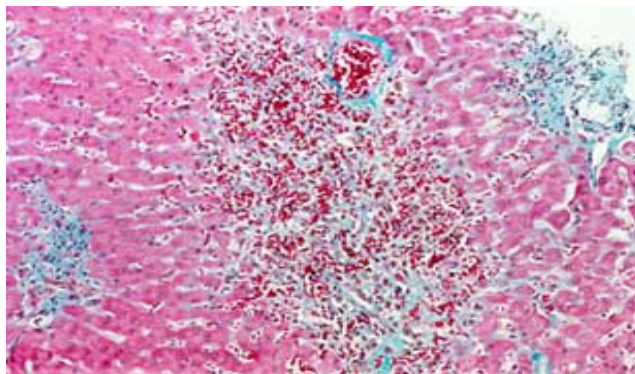


Figura 11. Necrose isquêmica pós-choque hipovolêmico (HE). Observa-se extravasamento sanguíneo ocupando espaço deixado pela necrose da zona 3.

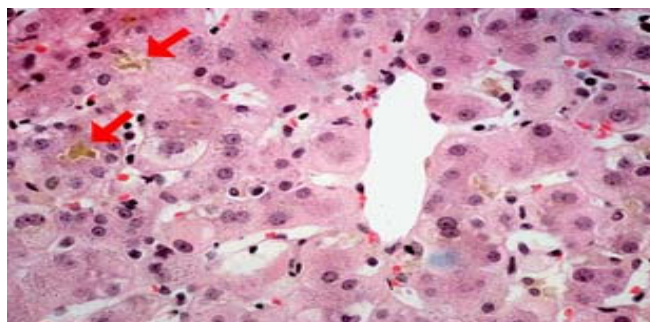


Figura 12. Colestase por estrógenos. Em grande aumento observam-se (flechas) trombos biliares intracanaliculares, única manifestação histológica da colestase.

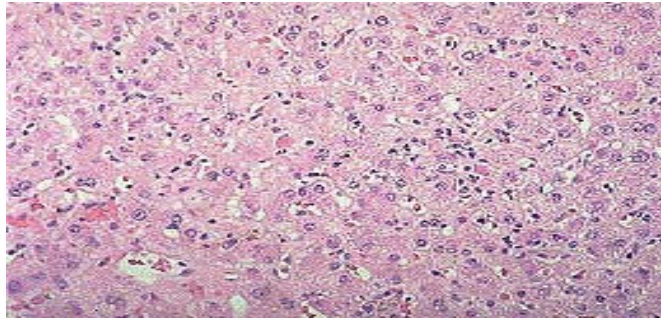


Figura 13. Lesão hepática aguda provocada pelo uso de amiodarona. Observa-se a presença de gordura, degeneração turva e aparecimento de corpos acidófilos (Mallory), que não são específicos de hepatite alcoólica.

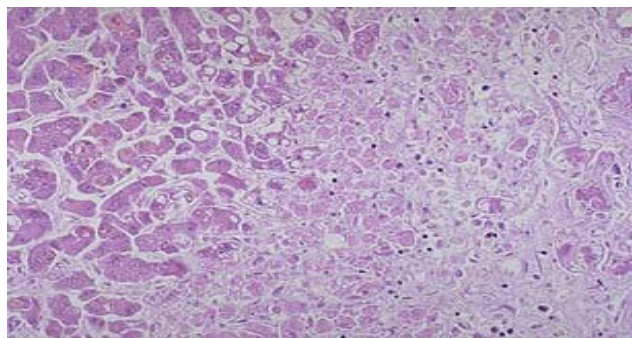


Figura 14. Necrose hepática provocada por paracetamol. A maior parte dos hepatócitos está danificada. À direita, a necrose é mais evidente, porém o resto das células também mostra sinais de injúria grave. Escassa reação inflamatória.

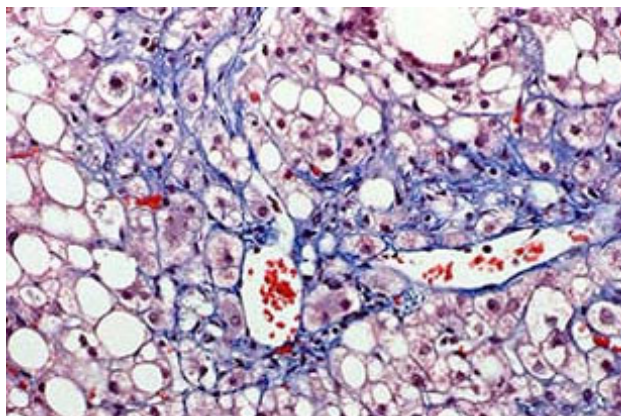


Figura 15. Lesão hepática por ácido valpróico. Neste caso, a alteração histológica é uma infiltração gordurosa que arrebate o núcleo do hepático para periferia. Observa-se algum grau mínimo de fibrose que tende a isolar hepatócitos (em azul).

Outras causas menos freqüentes de Insuficiência Hepática Fulminante (IHF).

1. Paracetamol: representa uma causa freqüente de IHAG nos países anglosaxones, quase sempre com fins de suicídio e constitui uma causa de elevada mortalidade.
2. *Amanita phalloides*: constitui uma causa relativamente freqüente de IHAG em algumas zonas européias, onde se costumava a comer fungos silvestres (França e Espanha).
3. Necrose isquêmica hepatocelular: é relativamente freqüente uma elevação de transaminases, com ou sem icterícia, como resposta hepatocelular a um choque de qualquer etiologia, embora muito poucos casos desenvolvem um quadro de IHAG.
4. Síndrome de Budd-Chiari agudo: a trombose brusca e massiva das veias supra-hepáticas pode manifestar-se como um quadro de IHAG. Existe alguma evidência de que os indivíduos proclives a desenvolver este tipo de trombose, são heterozigotos portadores de elevadas quantidades de proteína C circulante, em que algum desencadeante (uso de anticoncepcionais hormonais por exemplo), se provoca a trombose de grandes vasos.
5. Ligadura cirúrgica da artéria hepática: como tratamento do carcinoma hepatocelular em presença de uma trombose portal pode provocar uma necrose isquêmica hepática massiva e como consequência uma IHAG.
6. Esteatose aguda da gravidez: trata-se de um quadro excepcional (1/15.000 prenhez), consiste em uma esteatose hepática microvesicular, que pode aparecer no terceiro trimestre da gravidez e se associa na metade dos casos a uma toxemia gravídica. Geralmente cursa sem sinais de insuficiência hepática grave, e somente de forma extraordinária pode ser causa de lesão hepática fulminante.
7. Síndrome de Reye: também consiste em uma esteatose microvesicular que afeta fundamentalmente a crianças e pode cursar com uma IHAG.

Exemplos de hepatotoxicidade.

Em Medicina Veterinária algumas drogas, tóxicos e plantas têm importância significativa na perda de animais domésticos (Tabela 1).

Muitos medicamentos afetam a função hepática de diversas formas. Isto explica o porque nas listas de medicamentos hepatotóxicos, a mesma droga pode aparecer citada várias vezes. A seguir alguns exemplos representativos.

Halotano.

Os casos de lesão hepática por este composto ilustram a dificuldade de interpretar como patogenicamente é distinta a lesão por hipersensibilidade ou idiossincrasia, relacionada intrinsecamente com propriedades inerentes a droga. Não parece discutível a presença de elementos de hipersensibilidade em seu mecanismo de hepatotoxicidade:

- acompanhado com freqüência de febre e às vezes de eosinofilia periférica;
- na primeira exposição se tem descrito freqüente aparecimento de febrículas, sem outras manifestações clínicas. Exposição a quantidades mínimas do anestésico, à pacientes previamente expostos, pode produzir grave lesão;
- tem-se buscado identificar anticorpos circulantes frente a membranas hepatocitárias em pacientes com hepatite por halotano;
- mais de 70% dos casos de lesão por anestésico se produzem em indivíduos previamente expostos.

Entretanto, existe um controle genético sobre a formação de metabólitos redutivos de halotano gerados a nível de citocromos P-450. Isto tem sido comprovado em cepas de ratos (Fischer) nas quais busca-se uma lesão centrolobular característica, mediante a administração de

halotano e prévia indução de seus sistemas citocromos com fenobarbital. Este efeito não se busca em ratos Wistar ou Sprague-Dawley, se não for associado a uma hipoxia relativa. É necessário lembrar que não se trata de um efeito aleatório: todos os ratos submetidos à condição descrita desenvolvem diversos graus de lesão mencionada.

Isto enfatiza a importância do papel do metabolismo redutivo na etiologia da lesão por anestésico e sugere variabilidade genética na formação de metabólitos hepatotóxicos. Aparentemente, se trata de uma situação em que a biotransformação, mediante mecanismos redutivos geneticamente condicionados, gera uma sensibilização do hospedeiro a macromoléculas, as quais o metabólito da droga se une e serve de hapteno. Algo similar ocorre com a lesão por clorpromazina (CPZ) (Figura 16). Conhecem-se mais de 120 metabólitos diferentes de CPZ e poucos deles são hepatotóxicos. Uma alternativa é que o indivíduo tenha geneticamente mais desenvolvida uma via metabólica que produz o metabólito hepatotóxico. A outra é que a hepatotoxicidade de CPZ provenha da indução exógena de alguma via metabólica com aparecimento de um metabólito capaz de desencadear a reação de hipersensibilidade, com sinal clínico de colestase como elemento predominante.

Tabela 1. Drogas, tóxicos e plantas hepatotóxicas de importância em Medicina Veterinária.

Fonte	Substância tóxica	Uso ou exposição	Espécies mais afetadas
Drogas	acetaminofeno	analgésico	cães, gatos (raro)
	cobre	suplemento	ovinos, suínos
	ferro dextrano	suplemento	suínos
	mebendazole	anti-helmíntico	cães
	tiacetarsamida	filaricida	cães
	tolueno	anti-helmíntico	cães, gatos
	vitamina A	suplemento	cães, gatos
Substâncias químicas	alcatrão, piche	solvente	raro, todos os animais
	dissulfeto de carbono	fumegante	bovinos
	fósforo	contaminante	raro, todos os animais
	nitrosamina	desinfetante	cães, suínos
	tetracloreto de carbono	rodenticida	cães
Micotoxinas	aflatoxina		suínos, aves, cães
	esterigmatocistina		ovinos
	fumonisinias		equínos, suínos
	rubratoxina		raro, todos os animais
Plantas (hepatotoxicidade)	<i>Amsinckia, Crotalaria, Cynoglossum, Senecio, Heliotropium, Trichoderma</i>		equínos, bovinos
	alcalóides pirrozilidínicos		bovinos
	algas azul-verdes		cães, bovinos
	carrapicho (<i>Xanthium</i> spp.)		suínos, bovinos
	cogumelo amanita		cães
	<i>Myoporum laetum</i>		ovinos, bovinos
	gossypol		bovinos, ovinos
	<i>Helenium</i> spp.		bovinos, ovinos
	<i>Hymenoxys</i> spp.		bovinos, ovinos
	<i>Lantana câmara</i>		bovinos, ovinos
	<i>Myoporum laetum</i>		ovinos, bovinos
	alcalóides pirrozilidínicos		equínos, bovinos, ovinos
	<i>Microcystis</i> alga azul-verde		ovinos, bovinos
Plantas (sensibilizantes hepatogênicos)	<i>Lantana câmara</i>		bovinos, ovinos, equínos,
	<i>Tribulus</i> spp.		ovinos
	<i>Trifolium</i> spp.		ovinos, bovinos

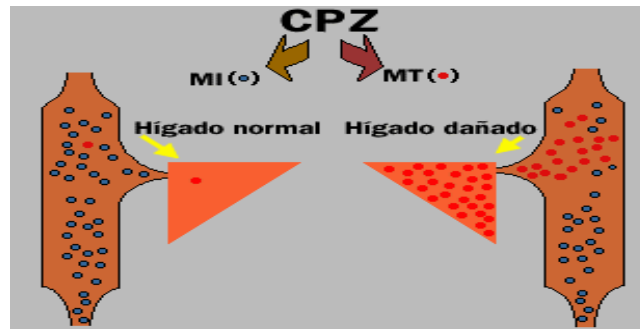


Figura 16: Metabolismo de clorpromazina (CPZ). A maior parte dos indivíduos metaboliza o composto a metabólitos inertes (MI). Alguns poucos, por razões genéticas ou ambientais, produzem metabólitos tóxicos (MT), o que provoca lesão habitualmente colestásica.

Paracetamol.

É um dos medicamentos mais usados por suas propriedades analgésicas e antitérmicas. Há muitos anos já se conhece sua capacidade de provocar lesão hepática aguda com necrose na zona 3 do ácino hepático. Esta lesão é do tipo intrínseca, e se produz sempre ao ingerir mais de 8-10 gramas em uma dose (Figura 17).

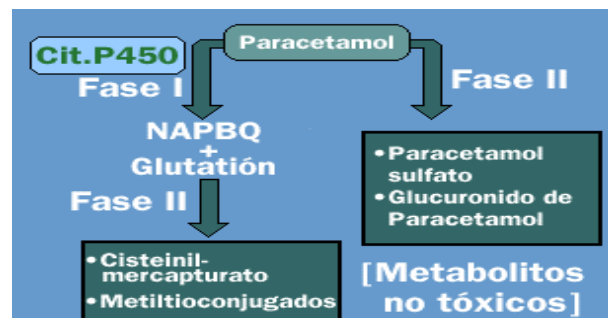


Figura 17: Esquema do metabolismo normal do paracetamol. A maior parte se metaboliza na fase II a sulfato e glicuronato. Uma pequena parte, faz o metabolismo microssomal (Cit P450) e deve conjugar-se com glutathion.

A dose terapêutica é mais de 10 vezes menor que a tóxica em condições normais, de modo que o risco em circunstâncias habituais é desprezível. Isto se explica porque em doses baixas, a maior parte do paracetamol se metaboliza diretamente a conjugados na fase II e só uma pequena porção sofre reações de fase I com formação de metabólitos reativos (N-acetil parabenzoquinona) (Figura 18). O glutathion desempenha um papel fundamental na defesa do organismo frente ao aparecimento dos metabólitos eletrofílicos, já que os conjuga tornando-os inertes.

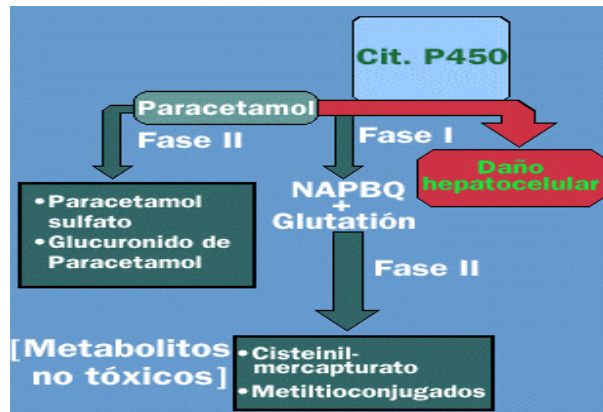


Figura 18: Esquema do metabolismo anormal do paracetamol. Em indivíduos com seus sistemas citocromos (P450) induzido, ou que ingerem grandes doses, se favorece o metabolismo microssomal e a lesão é produzida se esgotar o glutathione.

A lesão é produzida em duas circunstâncias: (a) pela ingestão de dose massiva por erro, ou mais frequentemente por tentativa de suicídio, e (b) pelo consumo de doses menores, até de 2 gramas em uma dose. As doses menores provocam lesão em indivíduos que tem uma indução prévia de sua Cit P450, o que pode ocorrer por exemplo em alcoólicos. O etanol induz o sistema oxidação microssomal e se produz proporcionalmente uma maior probabilidade de reações de Fase I com formação de metabólitos reativos. O etanol deprime os depósitos de GSH, assim sua disponibilidade diminui e favorece a lesão estrutural mediante a união covalente dos metabólitos reativos a macromoléculas (Figura 19).

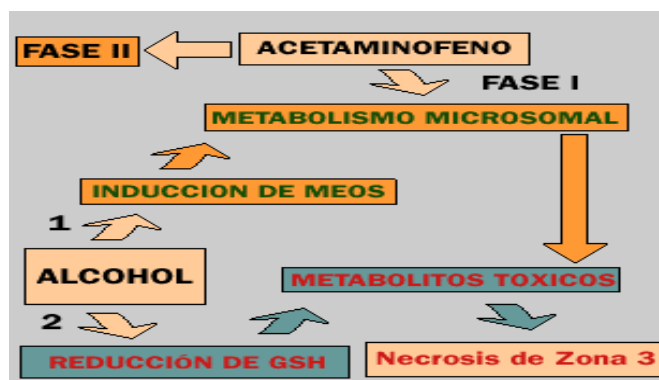


Figura 19: Contribuição do etanol para a necrose hepática por paracetamol. O álcool por um lado induz o sistema microssomal (1) favorecendo o aparecimento de metabólitos da fase I e por outro, reduz a quantidade de glutathione disponível para conjugar os metabólitos potencialmente tóxicos (2).

Tratamento da lesão hepática aguda por drogas.

As causas de morte por insuficiência hepática tóxica aguda incluem toxemia devido à reduzida detoxificação de produtos metabólicos normais, hipoglicemia, coagulopatia, choque e coagulação intravascular disseminada (CID). No tratamento deve considerar-se:

1. a exposição ao agente tóxico deve ser interrompida;
2. o tratamento da emese e da desidratação são medidas de apoio importantes;

3. considerações nutricionais: a dieta deve ser rica em carboidratos, pobre em gordura e suplementada com quantidades limitadas de proteína de alta qualidade que reduz as necessidades de metabolizar o nitrogênio excessivo. O uso de drogas ou suplementos que requeiram metabolismo hepático deve ser evitado;
4. antibióticos orais devem ser administrados para controlar a produção de amônia por bactérias intestinais ou do cólon;
5. o veterinário deve monitorar o animal quanto aos sinais de coagulopatia ou lesão crônica que possam influenciar a saúde subsequente.

Não existe tratamento específico em cada caso para esta condição, com exceção da hepatotoxicidade por paracetamol. A forma mais eficaz de impedir a hepatotoxicidade é a profilaxia, mediante o uso racional de medicamentos e utilizando com prudência aqueles que com maior frequência produzem reações de idiossincrasia, sobretudo ante a presença de indutores dos sistemas citocromos.

A forma de impedir lesão por paracetamol, é atuando a dois níveis: (1) se pode inibir o Cit P450 e a cimetidina tem se mostrado efetiva neste sentido, porém usada preferentemente antes da ingestão de paracetamol; (2) se pode aportar GSH em excesso, na forma de N-acetilcisteína (Mucomist) que é um precursor de GSH. Recomenda-se uma dose de impregnação de 140 mg/kg seguida de 70 mg/kg cada 4 horas até que os níveis plasmáticos de paracetamol decresçam abaixo do nível crítico.

A N-acetil-cisteína deve administrar-se de forma precoce, se possível antes de transcorridas 12 da ingestão do fármaco. É útil determinar a concentração plasmática de paracetamol e o tempo transcorrido desde sua ingestão para determinar a probabilidade e a intensidade da eventual lesão hepática. Para assegurar que não vai produzir a lesão hepática, os níveis plasmáticos de paracetamol às 4 horas de sua ingestão devem ser inferiores a 150 µg/ml. Como a vida média plasmática do paracetamol é de aproximadamente 4 horas, seus níveis plasmáticos deveram ser inferiores a 75 ug/ml às 8 horas e a 37,5 ug/ml às 12 horas. Níveis superiores a 48 µg/ml às 12 horas são de mau prognóstico.

Até 20% de pacientes que recebem isoniacida (ISN) podem apresentar inicialmente (um a dois meses) uma elevação de transaminases inferior a 200mU/ml, a qual geralmente é transitória. A maioria dos pacientes não apresenta lesão hepática, as enzimas regredem rapidamente a níveis normais e somente 1% apresentam uma hepatite clínica.

A ISN é metabolizada a acetilhidrazina catalizada por uma N-acetiltransferase. A velocidade de acetilação é variável, e em diversas populações investigadas se tem descrito curvas bimodais com acetiladores rápidos e acetiladores lentos.

A toxicidade mais comum da ISN é a polineurite, que se vê mais freqüentemente em acetiladores lentos, relacionada a um déficit de vitamina B6, devendo ser administrada nos tratamentos longos.

É interessante observar que os acetiladores lentos têm também maior susceptibilidade a desenvolver lupus eritematoso induzido e espontâneo, e a câncer vesical em pacientes expostos a benzydina.

Devido sua hepatotoxicidade, se tem estudado extensamente a relação entre ISN e sua velocidade de acetilação. Na verdade não parece haver estrita relação entre ambos fenômenos, e a capacidade hepatotóxica parece estar mais relacionada com indução de citocromos: mas a presença de monoacetilhidrazina é indispensável para o aparecimento da lesão e sua produção depende diretamente da velocidade de acetilação, uma maior concentração de monoacetilhidrazina promove também ao passo da diacetilhidrazina já que ambas reações são mediadas pela enzima n-acetiltransferase e a diacetilhidrazina é muito hidrossolúvel e facilmente eliminada (Figura 20).



Figura 20. Metabolismo de isoniacida. A N-acetiltransferase catalisa a formação tanto de mono, como de diacetilhidrazina. A possibilidade de lesão se relaciona ao metabolismo da primeira no sistema microsomal (Cit P450) que pode ser induzido por álcool ou rifampicina, entre outros.

Para que se produza a lesão parece mais importante que parte da monoacetilhidrazina siga uma via metabólica através do sistema cit P450, com formação de metabólitos reativos. Isto é mais provável se a disponibilidade dos sistemas citocromos aumenta por indução, como pode ocorrer com o uso concomitante de rifampicina, que é um conhecido indutor de P450.

REFERÊNCIAS

- BURT A.D., JAMES O.F.W. *Pathophysiology of the liver*. In: Pathology of the Liver. Edits: MacSWEEN R.N.M., ANTHONY P.P., SCHEUER P.J., BURT A.D., PORTMANN B.C. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Madrid, Melbourne, New York, Tokyo. Third Edition. 1994. p.59-60.
- MEEKS R.G., HARRISON S.D., BULL R.J. *Hepatotoxicology*. CRC Press, Inc., Corporate Blvd., N.W., Boca Raton, Florida, 2000. p.700.
- OSWEILER G.D. *Toxicologia Veterinária* / Gary D. Osweiler, trad. Eliane Maria Zanchet *et al.* Artes Médicas, PortoAlegre, 1998. p.106-118.
- PEÑA C.E., CARTER D.E., AYALA-FIERRO F. *Toxicología Ambiental. Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental*. Southwest Hazardous Waste Program. University of Arizona. 2001. p.204.
- VESSEY D.A. *Metabolism of xenobiotics by the human liver*. In: Hepathology. A Textbook of Liver Disease. Edits: ZAKIN D., BOYER T.D. Cap.9. p.257-305.