 DOI: 10.51161/conalab/8551

I Congresso Brasileiro On-line Multiprofissional de Análises Clínicas e Laboratoriais

CONSOLIDAÇÃO DOS VALORES DE REFERÊNCIA DE MARCADORES BIOQUÍMICOS HEPÁTICOS E RENAIS DE RATOS (*RATTUS NOVERGICUS*) LINHAGEM WISTAR – MATRIZ UNIB

KELLY COSTA DE ALMEIDA; CLÁUDIA MARTINS FOLLY; ANDREA REGINA DE SOUZA BAPTISTA; VINICIUS BITTENCOURT PASCOAL; AISLAN CRISTINA RHEDER FAGUNDES PASCOAL

RESUMO

Introdução: O uso de ratos em pesquisas biomédicas começou há mais de 160 anos atrás e o primeiro uso registrado para investigação científica foi um estudo de sobre os resultados da adrenalectomia em ratos albinos. Desde então os modelos animais são considerados como uma importante ferramenta para o progresso da ciência, já que experimentos realizados em animais são úteis para a exploração de doenças humanas e sua causa, prevenção ou cura. Tais modelos podem ser empregados no controle de produtos farmacêuticos, produção e desenvolvimento de vacinas, como também de novas técnicas de tratamento cirúrgico. Porém, os parâmetros bioquímicos de animais de laboratório podem variar entre linhagens e cepas de uma dada espécie, sendo influenciados por valores do microambiente e macroambiente do biotério de criação e manutenção, assim como particularidades do método e kit comercial utilizado na análise. Objetivo: O presente trabalho teve como objetivo determinar os valores de referência para os parâmetros hepáticos e renais de animais não-tratados oriundos do Núcleo de Animais de Laboratório da Universidade Federal Fluminense e mantidos no Biotério do Laboratório Multiusuário de Pesquisa Biomédica, localizado no Instituto de Saúde de Nova Friburgo. Metodologia: Foram utilizados ratos Wistar, machos, saudáveis, pesando em média 200 a 300 g. Foi avaliado o perfil hepático (TGO, TGP, fosfatase alcalina, gama GT, proteínas totais, albumina, bilirrubina total e bilirrubina direta) e os marcadores renais (ureia e creatinina). Resultados: Foi possível constatar a variação quanto às dosagens séricas, reforçando a premissa de que a modificação na metodologia e kit, bem como a utilização de uma linhagem que é heterogênea, pode impactar potencialmente nos valores encontrados. Conclusão: Os dados da pesquisa estabelecem valores de referência para a criação de ratos Wistar, auxiliando a análise em diversos projetos de pesquisas experimentais, além de realizar uma comparação dos valores obtidos com o que já consta na literatura.

Palavras-chave: bioquímica, ratos, valores de referência.

1 INTRODUÇÃO

Os modelos de pesquisa biomédica com animais começaram a ser utilizados há mais de 160 anos. Desde então, são considerados como uma importante ferramenta para

o progresso da ciência, já que tais experimentos são úteis para a exploração de doenças humanas e sua causa, prevenção ou cura (IPL, 2021). Além disso, tais modelos podem ser empregados no controle de produtos farmacêuticos, produção e desenvolvimento de vacinas, como também de novas técnicas de tratamento cirúrgico.

Animais de várias espécies têm sido utilizados nos últimos tempos, entretanto, os roedores são os mais estudados e também o modelo mais conhecido (MELO et al., 2012). Essa preferência ocorreu porque os roedores apresentam características como fácil domesticação, adaptação a ambientes variados e sociabilidade (MELO et al., 2012). Entre as linhagens, a Wistar tem sido a escolha da maioria dos pesquisadores em diversos modelos de experimentação, pois além dos fatores acima citados, ela possui, aproximadamente, 80% de seu DNA idêntico ao do homem (OSOEGAWA, 2004), permitindo que os resultados científicos obtidos possam ser replicados na estimativa de potenciais efeitos de dado tratamento em seres humanos (MATTARAIA; MOURA, 2012).

Os experimentos geralmente são realizados com machos, no intuito de evitar as variações fisiológicas inerentes às fases do ciclo estral. Os pesquisadores apoiam-se no fato de que as variações nos níveis dos hormônios gonadais influenciam em funções que vão além do sistema reprodutivo, podendo interferir nos resultados dos experimentos (MATTARAIA; MOURA, 2012).

Apesar de cada espécie de animal possuir seus próprios parâmetros fisiológicos, podem existir variações diretamente relacionadas com fatores extrínsecos como a dieta, manuseio, micro e macroambientes. Além disso, os animais experimentais podem se comportar de modo diferente dependendo das condições as quais são submetidos, sendo também passíveis de sofrer influência de fatores climáticos (BRANCO et al., 2011), mesmo que sejam seguidas as diretrizes de instituições como do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (BONELLA, 2009). Nesse contexto, é importante ressaltar que os parâmetros bioquímicos, como os hepáticos e renais, dos animais utilizados em experimentação também podem variar (MELO et al., 2012).

Diante da importância das dosagens bioquímicas nos experimentos com modelos animais, se torna imprescindível uma padronização dos valores de referência relacionados ao biotério onde o experimento é realizado. Assim, os biotérios das instituições de pesquisas necessitam manter seu ambiente padronizado e seus parâmetros fisiológicos estabelecidos de acordo com a linhagem, gênero e idade de cada espécie utilizada para que possam servir como referência para os experimentos realizados (BRANCO et al., 2011). Denta forma, o objetivo do presente trabalho foi realizar a padronização de valores bioquímicos dos marcadores hepáticos e renais de ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), fornecidos pelo Núcleo de Animais de Laboratório/UFF – Niterói – RJ e mantidos no biotério do Laboratório Multiusuário de Pesquisa Biomédica, localizado no Instituto de Saúde de Nova Friburgo/UFF – RJ.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram utilizados 40 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) adultos, pesando entre 200 e 300 gramas. Esses animais possuem sua matriz fundadora proveniente da Universidade de Campinas – SP, por isso recebem a identificação de Unib e sua distribuição é a nível nacional. Os animais foram submetidos à temperatura controlada, com ciclo claro/escuro

de 12 horas e com ração e água ad libitum. Toda a manipulação dos animais respeitou as instruções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O projeto foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Fluminense e aprovado sob o nº 1313080119 (ID 000623).

2.2 Análise Bioquímica

A obtenção do soro dos animais para a realização das análises bioquímicas, foi realizada via punção cardíaca, obedecendo as orientações da Diretriz da Prática de Eutanásia do CONCEA. Os animais foram anestesiados com relaxante muscular – Xilazina (9 mg/kg solução à 2%) e anestésico geral – Ketamina (90 mg/kg solução à 10%) por meio de injeção intraperitoneal, numa dose de 3µl/g, em seguida sendo realizada a punção sanguínea no ventrículo esquerdo. O sangue coletado foi centrifugado à 3500 rpm durante 10 minutos, para a obtenção do soro. Para a realização das dosagens dos parâmetros, foram seguidas todas as recomendações do fabricante Biotécnica® e a leitura das amostras foi realizada utilizando espectrofotômetro Epoch (Biotek®). Todas as amostras foram testadas em triplicadas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Instituto de Padronização Clínica e Laboratorial definem "valor de referência" como um resultado obtido pela observação ou mensuração quantitativa de um analito em indivíduo selecionado, com base em critérios bem definidos (CLSI, 2000). O presente trabalho buscou estabelecer tais valores para analitos renais e hepáticos com animais em estado de homeostasia, conforme a tabela 1, permitindo que esses dados sejam utilizados como referência e auxiliem em pesquisas futuras.

Na literatura, foi possível verificar trabalhos que utilizaram o modelo animal em ratos, com as linhagens Sprague Dawley e Wistar, conforme a tabela 2. Os animais de ambas as linhagens são ratos albinos, de classificação genética heterogênea. Embora a Sprague Dawley seja caracterizada pelo seu comportamento dócil e rápido ganho de peso, a linhagem Wistar se destaca nos trabalhos, sendo uma das mais utilizadas ao redor do mundo, devido ao seu pequeno porte, ciclo biológico curto, baixo custo de criação e semelhança genética com os seres humanos, como citado anteriormente (OSOEGAWA, 2004). Conforme consta na tabela 2 a grande incidência de utilização dessa linhagem, se torna mais evidente a importância na aquisição de dados referentes a esses animais e que possam ser reproduzidos em outros experimentos.

Apesar de alguns autores utilizarem grupos de fêmeas para maior análise populacional, como MELO et al., (2012) e EL-BOSHY et al., (2019), a maioria dos desenhos experimentais optam por machos, visando mitigar as possíveis interferências hormonais das fêmeas, que poderiam ser utilizadas numa segunda etapa do experimento.

É importante salientar, que Wistar é uma linhagem heterogênea e que esse fato deve ser levado em consideração na definição do número de animais por grupo, pois já é esperada uma variação considerável e consequentemente, um desvio padrão mais elevado quando comparado com outras linhagens isogênicas.

Com relação a idade dos animais, preconiza-se sempre a utilização de animais jovens, pesando em média 250 gramas. Dos marcadores laboratoriais séricos utilizados no diagnóstico da lesão hepática, as transaminases, especialmente a TGP, representam indicadores universalmente importantes para estudos que vão desde os primeiros testes

 DOI: 10.51161/conalab/8551

pré-clínicos em animais ao monitoramento pós-comercialização do paciente (AMACHER, 1998). Essa enzima é altamente específica para o fígado, enquanto que a TGO também está localizada no coração, cérebro, rim, e músculo esquelético, tornando esta enzima menos específica para avaliação de lesão hepática (REJ, 1978).

Tabela 1: Comparação de parâmetros bioquímicos de machos, obtidos neste estudo, com os valores de outras pesquisas e fontes de referência

PARÂMETROS	TGP (U/I)*	TGO (U/I)*	FOSFATASE (U/I)*	GAMA (U/I)*	PROTEÍNAS (g/dL)**	ALBUMINA (g/dL)**	BIL T (mg/dL)***	BIL D (mg/dL)***	UREIA (mg/dL)***	CREATININA (mg/dL)***
RESULTADOS	44,90 ± 5,82	105,00 ± 7,50	170,00 ± 18,20	-0,55 ± 0,90	5,76 ± 0,23	3,33 ± 0,15	0,14 ± 0,02	0,05 ± 0,02	45,75 ± 5,95	0,60 ± 0,07
Melo et al. (2012)	48,40 ± 6,46	131,70 ± 23,09	127,10 ± 35,55	**** ± ****	6,20 ± 0,26	3,00 ± 0,12	0,07 ± 0,02	0,03 ± 0,02	35,90 ± 3,58	0,50 ± 0,05
Lima et al. (2014)	57,55 ± 11,95	131,33 ± 43,98	91,63 ± 28,70	3,47 ± 1,74	5,75 ± 0,87	2,65 ± 0,30	0,08 ± 0,04	0,03 ± 0,02	39,97 ± 6,78	0,58 ± 0,24
Castelo Branco et al. (2011)	61,00 ± 2,40	152,40 ± 6,50	184,00 ± 8,00	**** ± ****	6,10 ± 0,10	3,00 ± 0,00	**** ± ****	**** ± ****	45,20 ± 2,30	0,30 ± 0,10
El-Boshy et al. (2019)	41,20 ± 3,29	52,80 ± 3,56	118,20 ± 6,21	**** ± ****	7,56 ± 0,49	3,70 ± 0,14	**** ± ****	**** ± ****	40,10 ± 2,45	0,46 ± 0,07
O.O. Adewale et al. (2019)	47,21 ± 6,10	121,13 ± 1,52	213,30 ± 4,32	**** ± ****	9,17 ± 0,57	4,03 ± 0,45	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Temel et al.(2019)	38,76 ± 0,75	55,14 ± 1,26	74,21 ± 0,85	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	34,50 ± 0,60	0,44 ± 0,01
Abdeen et al. (2019)	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	6,33 ± 0,33	4,14 ± 0,25	**** ± ****	**** ± ****	32,50 ± 2,10	1,05 ± 0,07
Abdulrazzaq et al. (2019)	55,00 ± 6,50	190,00 ± 29,00	150,00 ± 58,00	**** ± ****	**** ± ****	4,60 ± 0,40	0,44 ± 0,03	0,26 ± 0,02	**** ± ****	**** ± ****
Ahmad et al. (2020)	29,31 ± 2,02	37,51 ± 2,46	**** ± ****	**** ± ****	9,92 ± 0,58	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Ahmad et al. (2019)	34,15 ± 6,00	83,00 ± 10,50	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Ahmed et al. (2019)	30,33 ± 0,91	66,66 ± 15,42	448,00 ± 17,93	3,50 ± 0,43	**** ± ****	3,23 ± 0,08	0,70 ± 0,05	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Azarmehr et al. (2019)	29,85 ± 3,78	110,83 ± 12,76	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Dogaru et al. (2020)	34,28 ± 2,69	30,14 ± 3,62	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Mohammadi et al. (2019)	110,34 ± 17,67	128,08 ± 24,09	280,65 ± 13,79	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Pingili et al. (2019)	262,01 ± 9,12	145,27 ± 21,42	167,05 ± 19,27	**** ± ****	8,66 ± 1,09	1,18 ± 0,07	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Rašković et al. (2019)	51,67 ± 8,73	127,50 ± 19,94	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	0,35 ± 0,10	**** ± ****	**** ± ****
Salman et al.(2020)	36,00 ± 0,11	98,00 ± 0,12	282,14 ± 5,63	**** ± ****	6,12 ± 0,04	3,16 ± 0,01	0,37 ± 0,02	0,10 ± 0,01	26,04 ± 0,68	0,54 ± 0,01
Sohail et al. (2019)	38,30 ± 6,60	56,80 ± 4,10	77,60 ± 6,50	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	0,90 ± 0,10	0,10 ± 0,05	21,50 ± 3,70	0,40 ± 0,10
Zakaria et al. (2019)	15,83 ± 2,90	95,13 ± 5,90	117,70 ± 7,00	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****	0,50 ± 0,20	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Hussain et al. (2020)	4,20 ± 0,41	18,16 ± 2,71	209,79 ± 6,90	**** ± ****	1,02 ± 0,19	0,80 ± 0,03	0,16 ± 0,10	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Mahaldar et al.(2020)	66,67 ± 6,25	131,83 ± 5,88	**** ± ****	**** ± ****	5,62 ± 0,12	2,75 ± 0,15	0,19 ± 0,13	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Shehab et al. (2020)	46,67 ± 4,51	107,33 ± 5,86	116,00 ± 7,00	**** ± ****	6,20 ± 0,70	**** ± ****	0,66 ± 0,38	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Al-Doaiss et al. (2020)	48,34 ± 3,40	85,23 ± 6,40	75,14 ± 2,30	**** ± ****	6,50 ± 0,34	**** ± ****	1,57 ± 0,21	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****
Taha et al. (2020)	135,00 ± 1,80	251,00 ± 2,90	460,20 ± 9,80	49,40 ± 3,50	**** ± ****	**** ± ****	0,78 ± 0,05	**** ± ****	**** ± ****	**** ± ****

com o mesmo gênero.

*U/I= unidade internacional; g/dL:grama por decilitro; mg/dL: miligrama por decilitro.

ISSN: 2675-8008

DOI: 10.51161/conalab/8551

As atividades das aminotransferases séricas estão aumentadas em todos os tipos de lesão hepática, mas fornecem apenas uma estimativa da quantidade de danos recentes e sem indicação da capacidade funcional residual (TYGSTRUP, 1990). O grau de aumento não se correlaciona bem com a extensão de lesão hepática ou prognóstico (FRIEDMAN, 1994). Um declínio das concentrações de atividade no soro geralmente indica recuperação, mas em lesão fulminante pode ser um sinal de mau prognóstico, refletindo uma grande perda de hepatócitos funcionais (REJ, 1978).

Os resultados para a TGO observados no presente estudo, apresentaram média de 44,9 U/I com desvio padrão de 5,82 U/I. Resultados semelhantes foram descritos em trabalhos como de MELO et al. (2012), LIMA et al.(2014), TEMEL et al. (2019) e SHEHAB et al. (2020). Em relação ao desvio padrão dos trabalhos, foi bem variável, com valores que de 0,11 U/I até 17,67 U/I. Quanto as dosagens de TGP, apresentaram média de 105 U/I, valores próximos aos descritos por AZARMEHR et al. (2019), MOHAMMADI et al. (2019) e RAŠKOVIĆ et al. (2018). O desvio padrão encontrado nos nossos resultados foi de 7,5 U/I, menor entre esses trabalhos, no entanto, no geral os desvios de todos apresentou variação entre 0,12 U/I e 24,09 U/I (Tabela 1). Quando se trata de análise hepática, a maioria dos trabalhos dosaram exclusivamente as transaminases TGO (aspartato aminotransferase) e TGP (alanina aminotransferase), os demais parâmetros são pouco citados, o que dificulta uma análise completa da função hepática, conforme ocorre em humanos (DE ALMEIDA et al., 2022).

Embora as enzimas sejam dosadas frequentemente, quando o se trata de um exame de prova de função hepática, existem outros parâmetros como fosfatase alcalina, proteínas totais, albumina, bilirrubinas totais e frações. Para estudos que visam à pesquisa de novos fármacos com ação hepatoproterora, esses valores são capazes de fornecer um panorama mais amplo do processo hepático agudo e/ou crônico.

A fosfatase alcalina é muito utilizada na análise da alteração hepática, no entanto, a sua especificidade para o fígado não é tão eficaz quando comparado com as transaminases, pois ela está aumentada em várias outras condições (particularmente doenças ósseas, surtos de crescimento ou gravidez) (FRIEDMAN, 1994). Os ácidos biliares são responsáveis por esse aumento, pois induzem a sua síntese e exercem um efeito detergente na membrana canalicular, permitindo o extravasamento no soro (FRIEDMAN, 1994; DE ALMEIDA et al., 2022). Aumentos de leve a moderado (menos de três vezes) não são específicos para lesão hepática (DE ALMEIDA et al., 2022). Em contraste com TGO e TGP, o nível sérico de fosfatase está relacionado à função da célula hepática ao invés de sua integridade (ABDULKHALEQ et al., 2018). Outra situação que dificulta a comparação dos valores de fosfatase são seus valores de referência, que podem variar de acordo com o fabricante e método utilizados, podendo esse ser colorimétrico com variações, como Bowers e Mccomb modificado, DGKC, IFCC entre outros. A complexidade da padronização é tão significativa ao ponto de que na literatura é permitida uma variação de 35% nos valores para o cálculo dos intervalos (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005; 2011). O valor encontrado neste trabalho foi de 170 U/I, com desvio de 18,2 U/I, assim como o observado nos estudos de PINGILI et al. (2019) e Castelo BRANCO et al. (2011). No entanto, LIMA et al. (2014) chegaram a descrever desvio de 35,55 U/I e ABDULRAZZAQ et al. (2019) de 58 U/I (Tabela 1), evidenciando a dificuldade descrita acima.

A gama glutamil transferase (gama GT) está presente em uma variedade de tecidos, incluindo coração, cérebro, rim, pâncreas, baço e as células do ducto biliar do fígado (AHMED et al., 2018). Os seus valores se correlacionarem bem com os da fosfatase alcalina, devido a isso as dosagens são realizadas em conjunto e seu uso primordial está na exclusão de doença óssea como causa do aumento, uma condição que

 DOI: 10.51161/conalab/8551

não afeta as concentrações de GGT (LUM; GAMBINO, 1972). A gama GT é razoavelmente específica para o fígado, além de ser um marcador mais sensível para lesões colestáticas que a fosfatase, por esse motivo pode estar elevada até mesmo em pequenos níveis subclínicos de disfunção hepática (STURGILL; LAMBERT, 1997).

Todos os valores para gama GT obtidos neste trabalho, foram negativos. Acredita-se que seja devido à metodologia e ao kit utilizado na sua mensuração (Tabela 1).

Tabela 2: Comparação da linhagem, gênero e peso utilizados neste estudo, com outras pesquisas e fontes que dosaram parâmetros semelhantes.

	ESPÉCIE	**GÊNERO**	**PESO (g)***
RESULTADOS	Wistar	Machos	200 a 300
Melo et al. (2012)	Wistar	Machos e fêmeas	140 a 310
Lima et al. (2014)	Wistar	Machos e fêmeas	140 a 310
Castelo Branco et al. (2011)	Wistar	Machos e fêmeas	150 a 350
El-Boshy et al. (2019)	Wistar	Machos e fêmeas	150 a 170
O.O. Adewale et al. (2019)	Wistar	Machos	160 a 210
Temel et al.(2019)	Wistar	Machos	220 a 240
Abdeen et al. (2019)	Wistar	Machos	170 a 200
Abdulrazzaq et al. (2019)	Sprague Dawley	Machos	220 a 260
Ahmad et al. (2020)	Wistar	Machos	180 a 200
Ahmad et al. (2019)	Wistar	Machos	150 a 180
Ahmed et al. (2019)	Wistar	Machos	130 a 150
Azarmehr et al. (2019)	Wistar	Machos	200 a 250
Dogaru et al. (2020)	Wistar	Machos	200 a 250
Mohammadi et al. (2019)	Wistar	Machos	160 a 200
Pingili et al. (2019)	Wistar	Machos	180 a 220
Rašković et al. (2019)	Wistar	Machos	250 a 300
Salman et al.(2020)	Wistar	Machos	130 a 150
Sohail et al. (2019)	Sprague Dawley	Machos	150 a 200
Zakaria et al. (2019)	Sprague Dawley	Machos	180 a 200
Hussain et al. (2020)	Wistar	Machos	170 a 220
Mahaldar et al.(2020)	Sprague Dawley	Machos	NÃO INFORMOU
Shehab et al. (2020)	Wistar	Machos	200 a 250
Al-Doaiss et al. (2020)	Wistar	Machos	150 a 200
Taha et al. (2020)	Wistar	Machos	150 a 200

(g: gramas)

Esse analito é pouco descrito em outros trabalhos, mas alguns autores obtiveram sucesso na sua dosagem alcançando leitura na absorbância e consequentemente resultados positivos (LIMA et al., 2014; AHMED et al., 2019; TAHA; KAMAL; IBRAHIM, 2019).

A maioria das proteínas do sangue (albumina, alfa e beta globulina, fibrinogênio e outros fatores de coagulação) são sintetizadas principalmente no fígado, por células parenquimatosas. Dessa maneira, lesões hepáticas podem alterar a concentração dessas no sangue.

Normalmente, a lesão do fígado causada por alguns fármacos, como paracetamol, inibe a síntese de proteínas totais e albumina (DE ALMEIDA et al., 2022). Isto ocorre

pois, quando administrados em excesso, levam a ruptura dos hepatócitos pela destruição de lipídios de membrana e oxidação de proteínas de membrana, juntos com disfunção mitocondrial (ABDEEN et al., 2018). Consequentemente, ocorre queda na síntese de proteínas, ou proteólise aumentada e atividades de degradação no fígado (ABDULKHALEQ et al., 2018).

As proteínas totais não são frequentemente utilizadas como parâmetro isolado de diagnóstico, no entanto são de grande importância na interpretação do perfil hepático completo. Elas foram dosadas por alguns autores e apresentam uma homogeneidade nos valores descritos, consequentemente com desvio padrão pequeno quando comparado aos outros analitos (Tabela 1).

Com relação à albumina, geralmente é solicitada juntamente com as proteínas totais, sendo considerada uma fração e/ou extensão desse exame. Assim como as proteínas totais, dificilmente ocorre uma pesquisa isolada e interpretação de resultados apenas com esse parâmetro. Outro ponto em comum, é que a variação dos resultados também é bem pequena quando comparamos aos resultados de outros trabalhos (Tabela 1). Essa baixa variação dos valores encontrados de ambos analitos também é evidenciada nos valores de cálculos para intervalos (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005; 2011), onde a variação padronizada é de 12%. No entanto, PINGILI et al. (2019) e HUSSAIN et al. (2020) observaram resultados bem discrepantes em comparação aos demais, em que a média dos trabalhos foi de 3,5 g/dL enquanto esses apresentaram resultados de 1,10 g/dL e 0,77 g/dL respectivamente. Nesse estudo, houve média de 3,33 g/dL com desvio de 0,15 g/dL (Tabela 1) semelhante ao encontrado por MELO et al. (2012), AHMED et al. (2019) e SALMAN et al. (2020).

Além de várias funções normais, o fígado excreta o produto da decomposição da hemoglobina, a bilirrubina, na bile. A sua concentração tem sido usada para avaliar a lesão hepática induzida quimicamente (SASIDHARAN et al., 2010). Embora seja um parâmetro importante e um bom marcador para avaliar o funcionamento do fígado, ela não é muito eficaz na determinação da extensão da lesão hepatocelular (SASIDHARAN et al., 2010).

Na rotina laboratorial as bilirrubinas fazem parte de um grupo de analitos que apresentam muita instabilidade quanto aos controles de qualidade, por se tratar de uma detecção muita das vezes com valor pequeno, associada a fácil deterioração do reagente utilizado na sua reação. Os dados encontrados nesse estudo apresentaram uma média de 0,14 mg/dL com desvio de 0,02 mg/dL e foi corroboram com os experimentos de HUSSAIN et al. (2020) e MAHALDAR et al. (2020), porém esses apresentaram desvios de 0,10 e 0,13 respectivamente, maiores quando comparados com ao presente trabalho.

A bilirrubina direta foi compatível com o que foi descrito por MELO et al. (2012) e LIMA et al. (2014), uma média de 0,05 mg/dL. É importante salientar que as diferenças encontradas nessas dosagens podem estar diretamente relacionadas às diversas apresentações de reagentes que variam de acordo com o fabricante. O fato de ter a apresentação monoreagente (um reagente) e bi-reagente (dois reagentes), influenciam diretamente na reação e no valor de referência do analito, impactando e dificultando a padronização do mesmo. Acredita-se, que esse seja um dos motivos pelo qual as bilirrubinas totais e frações não sejam amplamente dosadas, mesmo diante da sua importância quanto a função hepática.

A nefrotoxicidade causada por substâncias tem sido alvo de muitas pesquisas que analisam as possíveis alterações hepáticas causadas por medicamentos, isso devido ao fato, dela ocorrer em cerca de 1-2% dos doentes que apresentam dano hepático, sendo mais comum em crianças e adolescentes (MAZER; PERRONE, 2008). É possível o desenvolvimento da toxicidade renal sem ocorrer hepatotoxicidade, o que nos leva a

acreditar que são necessárias doses menores para induzir a nefrotoxicidade, como ocorre com o paracetamol (DE ALMEIDA et al., 2022).

A ureia e creatinina são considerados preditores importantes, confiáveis e bem descritos na literatura para a investigação de nefrotoxicidade induzida por drogas em animais e no homem (AHMAD et al., 2012), isso porque entre tantas as funções, uma das principais é a eliminação de substâncias tóxicas do organismo (SINGH et al., 2016). Embora a creatinina seja mais específica do que a ureia na análise do estado de função renal, a análise da correlação desses analitos, permite a determinação da presença da doença renal intrínseca (orgânica) ou extrínseca (funcional) doença.

A ureia é formada no fígado como principal produto do metabolismo de nitrogênio substâncias e é excretado pelos rins (BAUM; DICHOSO; CARLTON, 1975). A creatinina é um produto do metabolismo muscular, e como a ureia, é excretada pelos rins. Desde sua única fonte é o metabolismo muscular, o único fator extra renal que pode afetar seu nível sérico é massa muscular. O nível de creatinina sérica é relativamente estável, variando não mais que 10 a 15 por cento de sua média em um período de vinte e quatro horas. Por si só, portanto, é um índice mais sensível de função renal do que o nitrogênio ureico no sangue ((BAUM; DICHOSO; CARLTON, 1975).

Uma vez elevada, a ureia pode causar distúrbios funcionais por exceder a taxa de depuração, enquanto que a creatinina elevada indica distúrbio na função do néfron (SRINIVASAN et al., 2014), geralmente os autores optam por dosar ambas no mesmo experimento devido a sua correlação. Neste trabalho, foi identificada uma média de 45,75 mg/dL (desvio padrão de 5,95 mg/dL) e 0,60 mg/dL (desvio padrão de 0,07 mg/dL) para ureia e creatinina respectivamente (Tabela 1). Valores próximos foram encontrados por CASTELO BRANCO et al. (2011) e EL-BOSHY et al. (2019). É possível verificar nos parâmetros pré-definidos de valores de referência, que o desvio padrão possa ocorrer dentro do esperado, conforme consta na literatura, onde para ureia seria 18% e para creatinina 20% (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2005; 2011).

4 CONCLUSÃO

A partir da comparação dos dados encontrados na presente pesquisa com os resultados observados na literatura, foi possível constatar a variação quanto às dosagens séricas, reforçando a premissa de que a modificação na metodologia e kit, bem como a utilização de uma linhagem que é heterogênea, pode impactar potencialmente nos valores encontrados.

Os resultados das dosagens obtidas a partir dos analitos estudados permitiram estabelecer valores de referência de parâmetros bioquímicos dos *Rattus novergicus* linhagem Wistar, matriz fundadora Unib (provenientes da Unicamp) e mantidos no Biotério do Laboratório Multiusuário de Pesquisa Biomédica, localizado no Instituto de Saúde de Nova Friburgo, os quais são usados em diversas linhas de pesquisas de graduação e pós-graduação, tanto em projetos da Universidade Federal Fluminense, como em projetos de colaboração com outras instituições de ensino.

REFERÊNCIAS

As referências devem ser listadas apenas os trabalhos mencionados no texto em ordem alfabética seguindo as diretrizes ABNT NBR 6023:2018.

ABDEEN, A. et al. Protective effect of cinnamon against acetaminophen-mediated cellular damage and apoptosis in renal tissue. Environmental Science and Pollution Research, v. 26, n. 1, p. 240–249, 3 nov. 2018.

ABDULKHALEQ, F. et al. Antioxidative stress effects of vitamins C, E, and B12, and their combination can protect the liver against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Drug Design, Development and Therapy, v. Volume 12, p. 3525–3533, out. 2018.

ABDULRAZZAQ, A. M. et al. Hepatoprotective Actions of Ascorbic Acid, Alpha Lipoic Acid and Silymarin or Their Combination Against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Rats. Medicina, v. 55, n. 5, 21 maio 2019.

AHMAD, S. T. et al. Hesperidin alleviates acetaminophen induced toxicity in wistar rats by abrogation of oxidative stress, apoptosis and inflammation. Toxicology Letters, v. 208, n. 2, p. 149–161, jan. 2012.

AHMED, O. M. et al. The Preventive Effects and the Mechanisms of Action of Navel Orange Peel Hydroethanolic Extract, Naringin, and Naringenin in N-Acetyl-p-aminophenol-Induced Liver Injury in Wistar Rats. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2019, p. 1–19, 26 mar. 2019.

AHMED, Z. et al. Liver function tests in identifying patients with liver disease. Clinical and Experimental Gastroenterology, v. Volume 11, p. 301–307, ago. 2018.

AMACHER, D. E. Serum Transaminase Elevations as Indicators of Hepatic Injury Following the Administration of Drugs. Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 27, n. 2, p. 119–130, abr. 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS.NBR ISO/IEC 17025: Requisitos gerais sobre a competência dos laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro: ABNT; 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS.NBR ISO/IEC 17043: Avaliação de conformidade - Requisitos gerais para Ensaios de Proficiência. Rio de Janeiro: ABNT; 2011.

AZARMEHR, N. et al. Hepatoprotective and antioxidant activity of watercress extract on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Heliyon, v. 5, n. 7, p. e02072, jul. 2019.

BAUM, N.; DICHOSO, C. C.; CARLTON, C. EUGENE. Blood urea nitrogen and serum creatinine. Urology, v. 5, n. 5, p. 583–588, maio 1975.

BONELLA, A. E. Animais em laboratórios e a lei Arouca. Scientiae Studia, v. 7, n. 3, p. 507–514, 2009.

BRANCO, A. C. DA S. C. et al. PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS DE RATOS WISTAR E CAMUNDONGOS SWISS DO BIOTÉRIO PROFESSOR THOMAS GEORGE. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, v. 15, n. 2, p. 209–214, 17 out. 2011.

Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory. Document C 28-A2; 2000

DE ALMEIDA, K. C. et al. Panorama atual do modelo de indução da hepatotoxicidade por paracetamol para estudos de hepatoproteção em ratos: Scoping review / Current overview of the model of induction of hepatotoxicity by paracetamol for studies of hepatoprotection in rats: Scoping review. Brazilian Journal of Development, v. 8, n. 2, p. 12529–12558, 17 fev. 2022.

EL-BOSHY, M. E. et al. The remedial effect of Thymus vulgaris extract against lead toxicity-induced oxidative stress, hepatorenal damage, immunosuppression, and hematological disorders in rats. Environmental Science and Pollution Research, v. 26, n. 22, p. 22736–22746, 6 jun. 2019.

FRIEDMAN, L. S. Diseases of the liver, seventh edition. Edited by L. Schiff and E. R. Schiff, 1,516 pp. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1993. $195. Hepatology, v. 19, n. 3, p. 797–798, mar. 1994.

FRIEDMAN, L. S. Diseases of the liver, seventh edition. Edited by L. Schiff and E. R. Schiff, 1,516 pp. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1993. $195. Hepatology, v. 19, n. 3, p. 797–798, mar. 1994.

HUSSAIN, S. et al. Cinnamon oil against acetaminophen-induced acute liver toxicity by attenuating inflammation, oxidative stress and apoptosis. Toxicology Reports, v. 7, p. 1296–1304, 2020.

IPL, Advantages And Disadvantages Of Animal Experimentation, 2021| ipl.org acesso em 18 de abril de 2022

LIMA, C. M. et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (Rattus novergicus linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. Scientia Plena, v. 10, n. 3, 7 abr. 2014.

LUM, G.; GAMBINO, S. R. Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity as an indicator of disease of liver, pancreas, or bone. Clinical Chemistry, v. 18, n. 4, p. 358–362, 1 abr. 1972.

MAHALDAR, K. et al. Antioxidant and hepatoprotective activity of Piper retrofractum against Paracetamol-induced hepatotoxicity in Sprague-Dawley rat. Natural Product Research, v. 34, n. 22, p. 3219–3225, 19 jan. 2019.

MATTARAIA, V. G. DE M.; MOURA, A. S. A. M. T. Produtividade de ratos Wistar em diferentes sistemas de acasalamento. Ciência Rural, v. 42, n. 8, p. 1490–1496, ago. 2012.

MAZER, M.; PERRONE, J. Acetaminophen-induced nephrotoxicity: Pathophysiology, clinical manifestations, and management. Journal of Medical Toxicology, v. 4, n. 1, p. 2–6, mar. 2008.

MELO, M. G. D. et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (Rattus novergicus linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. Scientia Plena, v. 8, n. 9, 2012.

MOHAMMADI, A. et al. Chrysin Effect in Prevention of Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Rat. Chemical Research in Toxicology, v. 32, n. 11, p. 2329–2337, 18 out. 2019.

OSOEGAWA, K. BAC Resources for the Rat Genome Project. Genome Research, v. 14, n. 4, p. 780–785, 1 abr. 2004.

PINGILI, R. B.; PAWAR, A. K.; CHALLA, S. R. Effect of chrysin on the formation of N-acetyl-p-benzoquinoneimine, a toxic metabolite of paracetamol in rats and isolated rat hepatocytes. Chemico-Biological Interactions, v. 302, p. 123–134, abr. 2019.

RAŠKOVIĆ, A. et al. Hepatoprotective and antioxidant potential of Pycnogenol® in acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Phytotherapy Research, 16 dez. 2018.

REJ, R. Aspartate aminotransferase activity and isoenzyme proportions in human liver tissues. Clinical Chemistry, v. 24, n. 11, p. 1971–1979, 1 nov. 1978.

SALMAN, A. A. et al. Assessment of antioxidant traits and protective action of Egyptian acacia pods extracts against paracetamol-induced liver toxicity in rats. Journal of Food Biochemistry, v. 44, n. 9, 21 jul. 2020.

SASIDHARAN, S. et al. In Vitro Antioxidant Activity and Hepatoprotective Effects of Lentinula edodes against Paracetamol-Induced Hepatotoxicity. Molecules, v. 15, n. 6, p. 4478–4489, 23 jun. 2010.

SHEHAB, N. G. et al. Preparation and antihepatotoxicity activity of Fagonia indica extract and its solid dispersion formulation. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 33, n. 3, p. 1025–1032, 1 maio 2020.

SINGH, H. et al. Hepatoprotective effect oftrans-Chalcone on experimentally induced hepatic injury in rats: inhibition of hepatic inflammation and fibrosis. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, v. 94, n. 8, p. 879–887, ago. 2016.

SRINIVASAN, V.; PANNEERSELVAM, R.; GUNASEKARAN, S.; SUBRAMANI, PALANI. Ethanolic extract of Melia Azadirachta against acetaminophen induced nephrotoxicity. International Journal of PharmTech Research, n. 6, p. 70-79, jan. 2014.

STURGILL, M. G.; LAMBERT, G. H. Xenobiotic-induced hepatotoxicity: mechanisms of liver injury and methods of monitoring hepatic function. Clinical Chemistry, v. 43, n. 8 Pt 2, p. 1512–1526, 1 ago. 1997.

TAHA, M. E.-S.; KAMAL, A. M.; IBRAHIM, D. R. Possible protective effect of olive leaves extract on paracetamol induced hepatotoxicity in male albino rats. Bioscience Journal, v. 36, n. 1, 31 out. 2019.

TEMEL, Y. et al. Protective effect of chrysin on cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via the inhibition of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, v. 393, n. 3, p. 325–337, 16 out. 2019.

TYGSTRUP, N. Assessment of liver function: Principles and practice. Journal of Gastroenterology and Hepatology, v. 5, n. 4, p. 468–482, ago. 1990.