

Correlação da atividade de lactato desidrogenase e concentração de lactato com a classificação de efusões em cães

Correlation of lactate dehydrogenase and lactate concentration with dog's effusion classification

Paula Nunes Rosato¹ Leticia Abrahão Anai¹ Aureo Evangelista Santana*

RESUMO

As efusões são problemas clínicos frequentes e que ocorrem em consequência de uma enfermidade que culmine com diminuição da pressão coloidosmótica intravascular, elevação da pressão hidrostática local, aumento da permeabilidade vascular e/ou comprometimento da drenagem realizada pelos vasos linfáticos. Dessa maneira, a avaliação laboratorial desse fluido torna-se relevante para que, em conjunto com os sinais clínicos apresentados pelo paciente, possa ser firmado um possível diagnóstico e instituída ação terapêutica adequada. Assim sendo, a classificação de uma efusão em transudato ou exsudato torna-se um dos pontos críticos para a elucidação do diagnóstico e condução do caso clínico. Em Medicina Veterinária, o método tradicional de classificação de uma efusão é baseado na contagem celular e na concentração de proteínas do fluido. Contudo, diversos estudos evidenciam que tais parâmetros não são suficientes para a correta classificação de todas as efusões. Assim, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de verificar a correlação de outros parâmetros bioquímicos com a diferenciação das efusões transudativas e exsudativas e, para tal, foram avaliadas as atividades de lactato desidrogenase (LDH) das efusões, a relação de sua atividade fluido/soro, concentração de lactato das efusões, o gradiente de concentração de lactato do soro para o fluido e a concentração de proteínas das efusões. Os resultados obtidos permitiram observar que a atividade de LDH, a relação LDH efusão/soro, a concentração de lactato e o gradiente de concentração de lactato soro/efusão apresentam diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$), bem como alta correlação com a classificação de uma efusão exsudativa.

Palavras-chave: efusões, análises bioquímicas, lactato, lactato desidrogenase, caninos.

ABSTRACT

The effusions are frequent clinical problems and can occur in consequence to an illness that culminates with

decrease of the intravascular colloid osmotic pressure, increase of local hydrostatic pressure, increase of vascular permeability and/or compromising of the drainage accomplished by lymphatic vessels. Therefore, the laboratorial evaluation of this fluid becomes relevant, jointly with clinical signs presented by patient; to become possible the diagnosis definition and institution of appropriate therapeutic. Thus, classification of effusion in exudate and transudate is one of major points to elucidation of diagnosis and conduction of clinical case. In veterinary medicine the traditional method of an effusion classification is based on cellular counting and protein concentration of the fluid, however, several studies evidence that such parameters are not enough for the correct classification of all kinds of effusions. Considering this, the present study aimed to verify the correlation of some biochemical parameters with the differentiation of transudative and exudative effusions. To perform this, the activities of lactate dehydrogenase (LDH) were appraised, as well as the relationship of their activities with fluid/serum; lactate and proteins concentration and fluid/serum gradients of concentration of these same substances. The results allowed to observe that the activity of LDH, relationship LDH and fluid/serum, lactate concentration and lactate fluid/serum gradient of concentration present statistically significant difference ($P < 0.05$), as well as a high correlation with the classification of an exudative effusion.

Key words: effusions, biochemical analysis, lactate, lactate dehydrogenase, canine.

INTRODUÇÃO

Em condições normais, um pequeno volume de fluido intracavitário é formado a partir da filtração do plasma pelo endotélio capilar, que ocorre através da interação da pressão hidrostática desses capilares,

¹Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária (DCCV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Jaboticabal, 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail:santana@fcav.unesp.br. *Autor para correspondência.

pressão oncótica plasmática, reabsorção linfática e permeabilidade capilar (KJELDSBERG & KNIGHT, 1992). O acúmulo de líquido no interior das cavidades peritoneal, pleural e pericárdica é denominado efusão e reflete uma alteração na interação destas forças (MEYER & FRANKS, 1993). Várias são as enfermidades capazes de resultar na formação de uma efusão e, nessa situação, a colheita e avaliação desses fluidos podem ter valor terapêutico, assim como importância diagnóstica nas doenças inflamatórias, hemorrágicas, neoplásicas, linfáticas ou biliosas (SHELLY, 2003). Contudo, os parâmetros bioquímicos utilizados em rotina para a classificação dos diversos tipos de efusões existentes não são capazes de distinguir, em todos os casos, as efusões transudativas e exsudativas (MARANHÃO et al., 2010).

Em Medicina Veterinária, a classificação de uma efusão é realizada com base na concentração de proteína do fluido e a contagem de células nucleadas deste (COWELL, et al., 2007). Em contrapartida, em humanos, preconiza-se a utilização de outros parâmetros bioquímicos adicionais para a diferenciação de efusões transudativas e exsudativas, em virtude das diversas alterações que podem influenciar na formação de uma efusão (ROMERO-CANDEIRA et al., 2002).

Diversos estudos demonstram que, em alguns casos, ocorre a classificação errada do fluido analisado e, nessa situação, torna-se complicada a elucidação do diagnóstico e, conseqüentemente, direcionar de forma adequada a terapia do paciente (ROTH, et al., 1990).

A concentração de proteínas nas efusões de pacientes com insuficiência cardíaca congestiva pode se elevar em virtude, provavelmente, da produção local de proteínas, comprometendo assim a classificação do fluido, que acaba sendo, erroneamente, considerado exsudato (ROTH, et al., 1990).

Em algumas situações, especialmente no tocante às efusões neoplásicas, o diagnóstico conclusivo fica restrito à visualização dessas células durante a avaliação citológica da efusão. Em neoplasias não esfoliativas, o líquido formado classifica-se, na maioria das circunstâncias, como um transudato modificado e, se houver inflamação, em exsudato (COWELL, et al., 2007). Assim sendo, a elucidação do diagnóstico pode ser comprometida com a utilização apenas dos parâmetros utilizados na rotina.

Segundo JOSEPH et al. (2001), a classificação laboratorial utilizada para a separação dos fluidos exsudativos e transudativos em Medicina é uma estratégia fundamental para a abordagem do paciente com efusão torácica, sendo evidente a necessidade da

dosagem da atividade total de lactato desidrogenase (LDH) da efusão, bem como a relação entre a atividade dessa enzima na efusão e no soro destes pacientes.

A atividade de lactato desidrogenase elevada em uma efusão é um indicativo de extrema importância para classificar um fluido como um exsudato, considerando-se valores superiores a 200U L⁻¹ na efusão ou ainda uma relação da LDH da efusão/LDH sérica acima de 0,6 (LIGTH, et al., 1972). Segundo HORROCK et al. (1962), valores elevados da atividade de LDH em uma efusão apresentam alta correlação com a presença de uma efusão de etiologia neoplásica em humanos. Em cães, estudos evidenciaram correlação positiva entre a atividade total e a relação LDH da efusão/LDH sérica e a presença de uma efusão de etiologia neoplásica (LIMA-JUNIOR, 2008).

Outro parâmetro a ser considerado na investigação de uma efusão é a concentração de lactato (NESTOR et al., 2004). Nas condições em que a obtenção de energia de forma anaeróbica esteja sendo utilizada, é esperada elevação na concentração de lactato, o qual será formado ao final da reação. Assim sendo, estudos correlacionam a elevação da concentração de lactato de uma efusão com a presença de um processo inflamatório de etiologia bacteriana, bem como em efusões neoplásicas (GARCIA-TSAO et al., 1985; LEVIN et al., 2004; NESTOR et al., 2004).

Estudos indicam que a correlação positiva com a elevação da atividade de LDH, bem como a concentração de lactato, ocorre em efusões neoplásicas, pois as células neoplásicas utilizam a glicólise anaeróbica para a obtenção de energia (OGILVIE, 2000; NESTOR et al., 2004).

O lactato pode se difundir rapidamente através das membranas e, portanto, em pacientes em acidose láctica, há a possibilidade de haver a elevação da concentração de lactato no sangue e, conseqüentemente, na efusão. Em vista desse fato, suspeita-se que o gradiente de lactato sangue/efusão possa apresentar melhor correlação com o diagnóstico em efusões exsudativas. A concentração sanguínea de lactato acima de 2,5mmol L⁻¹ e uma concentração de lactato na efusão superior à sanguínea apresentam acurácia superior a 90% na identificação de exsudatos sépticos em cães (LEVIN et al., 2004).

MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento do protocolo experimental, foram utilizados 39 cães atendidos junto à rotina do hospital veterinário no período de março de 2009 a fevereiro de 2010 que apresentaram efusão

pleural, pericárdica ou abdominal. Dentre os pacientes que participaram do presente estudo, um apresentava efusão pericárdica, 13 apresentavam efusão pleural e 25 tinham efusão abdominal.

Foram utilizados apenas pacientes cuja enfermidade e mecanismo de formação da efusão foram identificados por meio da avaliação clínica e laboratorial, permitindo então que as efusões avaliadas pudessem ser classificadas como efusões exsudativas ou transudativas e posteriormente fosse verificada a correlação com cada parâmetro estudado.

Para análise da efusão, foi realizada a punção de 10mL do líquido cavitário, que foi transferido para frascos de vidro para posterior centrifugação e análise bioquímica. Por sua vez, para a avaliação bioquímico-sérica, foi realizada venopunção jugular para obtenção de 5mL de sangue e, em sequência, o material foi transferido para frascos de vidro para posterior centrifugação e obtenção da amostra de soro, o qual foi submetido à avaliação bioquímica.

Tanto no fluido quanto no soro, foi avaliada a atividade da enzima lactato desidrogenase e a concentração de proteínas totais pelo uso de conjuntos de reagentes^a e analisador semi-automático^b. A concentração de lactato sérica e da efusão foi determinada utilizando tiras reagentes e leitor automatizado^c.

Depois de realizadas as determinações acima descritas, foram obtidas também a relação da atividade de lactato desidrogenase efusão/soro e o gradiente de concentração de lactato do soro para a efusão.

Com os resultados obtidos para cada um dos parâmetros, foi realizada a comparação das médias pelo teste de Tukey e análise de correlação dos “pontos de corte” indicados na literatura através do teste de Fisher. Em ambas as análises, um valor de *P* inferior a

0,05 foi considerado significativo, sendo calculado o intervalo de confiança de cada parâmetro avaliado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à etiologia do processo, o que propiciou a classificação entre efusão exsudativa e transudativa, 15 pacientes apresentavam uma efusão exsudativa, sendo um por peritonite bacteriana em virtude de ruptura intestinal e 14 por apresentarem uma neoplasia na cavidade. Os demais pacientes (24 cães) apresentavam efusão transudativa, sendo nove desses pacientes cardiopatas e 15 portadores de hepatopatia.

Os valores médios obtidos para a determinação da atividade de LDH, relação da atividade de LDH fluido/soro, concentração de lactato, gradiente de lactato e concentração de proteínas, bem como o intervalo de confiança obtido para cada um dos parâmetros estão descritos na tabela 1. Tais achados corroboram os estudos realizados em humanos, que relatam que a atividade de lactato desidrogenase tende a se elevar em efusões transudativas (HORROCKS, et al., 1962; LIGTH, et al., 1972; JOSEPH et al., 2001; ROMERO-CANDEIRA et al., 2002).

Para os parâmetros acima referidos, foi possível verificar correlação com a identificação de uma efusão exsudativa (Tabela 2) nos fluidos que apresentaram a atividade de LDH da efusão superior a 200U L⁻¹ e a relação LDH efusão/soro superior a 0,6, como indicados por LIGTH et al. (1972), além da concentração de lactato da efusão superior a 2,2mmol L⁻¹ e gradiente de lactato menor que zero, como descrito por LEVIN et al. (2004).

Contudo, com os valores encontrados para a concentração de proteínas da efusão, não foi possível observar diferença estatisticamente significativa entre as médias dos dois grupos avaliados, havendo sobreposição dos intervalos de confiança obtidos para ambos os parâmetros. Da mesma forma, a concentração

Tabela 1 - Valores médios obtidos para a atividade de LDH (U L⁻¹) na efusão, relação da atividade de LDH efusão/soro, concentração de lactato (mmol L⁻¹) na efusão, gradiente de lactato (mmol L⁻¹) do soro para efusão e concentração de proteínas (g dL⁻¹) das efusões exsudativas e transudativas em cães.

Parâmetro	-----Média-----		-----p-----	-----IC-----	
	Exudatos	Transudatos		Exudatos	Transudato
LDH efusão	1130,80 a	70,85 b	0,0086*	1130,80 ± 740,48	70,85 ± 48,26
Relação LDH efusão/soro	6,83 a	0,50 b	0,0378*	6,83 ± 5,89	0,50 ± 0,42
Lactato da efusão	5,23 a	1,31 b	0,0024*	5,23 ± 2,20	1,31 ± 0,90
Gradiente de lactato	-1,94 a	1,79 b	0,0006*	-1,94 ± 1,75	1,79 ± 0,87
Proteínas da efusão	2,97 a	2,09 a	0,0725	2,97 ± 0,61	2,09 ± 0,78

*médias nas linhas seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 2 - Distribuição e correlação das efusões exsudativas e transudativas de cães segundo a atividade de lactato desidrogenase, relação da atividade de lactato desidrogenase da efusão concentração de lactato, gradiente de concentração de lactato do soro para a efusão e concentração de proteínas.

Atividade de LDH na efusão	-----Classificação-----		Total
	Exudato	Transudato	
>200U L ⁻¹	10	2	12
<200U L ⁻¹	5	22	27
Total	15	24	39
P=0,0002*			
Relação da atividade de LDH fluido/sélica	Exudato	Transudato	Total
>0,6	12	5	17
<0,6	3	19	22
TOTAL	15	24	39
P=0,0006*			
Concentração de lactato na efusão	Exudato	Transudato	Total
>2,2mmol L ⁻¹	11	4	15
<2,2mmol L ⁻¹	4	20	24
TOTAL	15	24	39
P=0,0007*			
Gradiente de lactato	Exudato	Transudato	Total
<0	12	2	14
=0	3	22	25
TOTAL	15	24	39
P=0,0001*			
Concentração de proteínas	Exudato	Transudato	Total
>3,0g dL ⁻¹	6	9	15
<3,0g dL ⁻¹	9	15	24
TOTAL	15	24	39
P=1,0			

de proteínas superior a 3g dL⁻¹ não demonstrou correlação com a identificação de uma efusão exsudativa.

Assim sendo, embora a concentração proteica da efusão seja o parâmetro bioquímico considerado de eleição para a classificação de uma efusão em Medicina Veterinária (COWELL, et al., 2007), alguns fatores podem colaborar para a alteração da concentração dessa substância na efusão e comprometer a sua classificação (ROMERO-CANDEIRA et al., 2002).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que a determinação da atividade de lactato desidrogenase e a concentração de lactato das efusões, bem como a relação de lactato desidrogenase do fluido para o soro e o gradiente de concentração de lactato do soro para o fluido, em cães, podem contribuir com a identificação das efusões exsudativas e, dessa forma, diminuir o número de fluidos classificados inadequadamente.

FONTES DE AQUISIÇÃO

- a - Labtest Diagnóstica – Lagoa Santa – Minas gerais – Brasil.
b - Labquest – Labtest – Lagoa Santa – Minas gerais – Brasil.
c - Accutrend PLUS – Roche – Schweiz.

REFERÊNCIAS

- COWELL, R.L et al. Abdominal and thoracic fluid. In: COWELL, R. L.; TYLER, R. D. **Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat**. 3.ed. St. Louis: Mosby, 2007. p.142-158.
- GARCIA-TSAO, G. et al. The diagnosis of bacterial peritonitis: comparison of pH, lactate concentration and leukocyte count. **Hepatology**, v.5, p.91-96, 1985. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.1840050119>>. Acesso em: 20 maio, 2011. doi: 10.1002/hep.1840050119.
- HORROCKS, J.E. et al. Lactate dehydrogenase activity in the diagnosis of malignant effusion. **Journal of Clinical Pathology**, v.15, p.57-61, 1962. Disponível em: <<http://jcp.bmj.com/content/15/1/57>>. Acesso em: 20 maio, 2011. doi: 10.1136/jcp.15.1.57.
- JOSEPH, J. et al. Is albumin gradient or fluid to serum albumin ratio better than the pleural fluid lactate dehydrogenase in the diagnosis of separation on pleural effusion? **Biomed Central**

- Pulmonary Medicine**, v.2, p.1-5, 2002. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2466/2/1>>. Acesso em: 20 maio, 2011. doi: 10.1186/1471-2466-2-1.
- KJELDSBERG, C.R.; KNIGHT, J.A. Pleural and pericardial fluids. In: ____; _____. **Body fluids**. 3.ed. Chicago, 1992. p.159-222.
- LEVIN, G.M. et al. Lactate as a diagnostic test for septic peritoneal effusion in dogs and cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.40, p.364-371, 2004. Disponível em: <<http://www.jaaha.org/cgi/content/abstract/40/5/364>>. Acesso em: 20 maio, 2011.
- LIGHT, R.W. et al. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. **Annals of Internal Medicine**, v.77, p.507-513, 1972. Disponível em: <<http://www.annals.org/content/77/4/507>>. Acesso em: 20 maio, 2011.
- LIMA-JUNIOR, F.F. **Determinação das concentrações de lactatodesidrogenase e fosfatase alcalina no soro e no fluido abdominal de cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) para classificação das efusões e diferenciação entre fluidos neoplásicos e não neoplásicos**. 2008. 71f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, RJ.
- MARANHÃO, B.H.F. et al. Dosagem de proteínas totais e desidrogenase láctica para o diagnóstico de transudatos e exsudatos pleurais: redefinindo o critério clássico com uma nova abordagem estatística. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.36, p.468-74, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpneu/v36n4/v36n4a12>>. Acesso em: 20 maio, 2011.
- MEYER, D.J.; FRANKS, P.T. Effusions: classification and cytologic examination. In: ____; _____. **Veterinary laboratory medicine**. New Jersey: In practice - The Compendium Collection, 1993. p.86-91.
- NESTOR, D.D. et al. Biochemical analysis of neoplastic versus nonneoplastic abdominal effusions in dogs. **Journal of American Animal Hospital Association**, v.40, p.372-375, 2004. Disponível em: <<http://www.jaaha.org/cgi/reprint/40/5/372>>. Acesso em: 20 maio, 2011.
- OGILVIE, G.K. Paraneoplastic syndromes. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Textbook of veterinary internal medicine**. Philadelphia: Saunders, 2000. p.498-506.
- ROMERO-CANDEIRA, S. et al. Is it meaningful to biochemical parameters to discriminate between transudative and exudative pleural effusion? **Chest**, v.122, p.1524-1529, 2002. Disponível em: <<http://chestjournal.chestpubs.org/content/122/5/1524>>. Acesso em: 20 maio, 2011. doi: 10.1378/chest.122.5.1524.
- ROMERO, S. et al. Licht's criteria revisited: consistency and comparison with new proposed alternative criteria for separating pleural transudates from exudates. **Respiration**, v.67, p.18-23, 2000. Disponível em: <<http://content.karger.com/ProdukteDB/produkte.asp?Aktion=ShowAbstract&ProduktNr=224278&Ausgabe=226558&ArtikelNr=29457>>. Acesso em: 20 maio, 2011. doi: 10.1159/000029457.
- ROTH, B.J. et al. The serum-effusion albumin gradient in the evaluation of pleural effusions. **Chest**, v.98, p.546-549, 1990. Disponível em: <<http://chestjournal.chestpubs.org/content/98/3/546>>. Acesso em: 20 maio, 2011. doi: 10.1378/chest.98.3.546.
- SHELLY, S.M. Fluidos de cavidades corporais. In: _____. **Atlas de citologia de cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2003. p.157-171.