

# Patologia clinica delle epatopatie del cane e del gatto



Esistono molti test di laboratorio utilizzabili per l'identificazione delle epatopatie. Dal punto di vista ematologico, l'anomalia più comune è l'anemia, talora associata ad alterazioni morfologiche eritrocitarie. Per quanto riguarda la biochimica clinica, i test di laboratorio vengono suddivisi in tre gruppi: indicatori di danno epatocellulare, di colestasi e test di funzionalità epatobiliare.

Sebbene difficilmente consentano una diagnosi definitiva in quanto poco specifici, i test di laboratorio sono tuttavia un valido screening iniziale in un iter volto a stabilire una diagnosi definitiva di epatopatia, che deve spesso passare attraverso l'imaging e la biopsia epatica.

## INTRODUZIONE

Il riconoscimento e la diagnosi delle epatopatie rappresentano una sfida per il clinico. Sebbene esista un'ampia gamma di esami di laboratorio finalizzati alla valutazione del danno epatico e della funzionalità epatica, difficilmente un singolo test è in grado di identificare in maniera definitiva una determinata malattia epatica. I segni clinici sono spesso incostanti ed aspecifici e talvolta la condizione patologica è subclinica. Il quadro si complica ulteriormente se si considera che le alterazioni di laboratorio e strumentali possono riflettere una condizione sistemica (es. nell'ipertiroidismo del gatto)<sup>1</sup> e non una malattia epatica primaria. Inoltre, anche le capacità di riserva funzionali del fegato possono mascherare una condizione patologica sottostante.<sup>2,3</sup> Sebbene la diagnosi definitiva di molte patologie epatiche sia possibile solo tramite l'esame istologico, la combinazione di dati anamnestici, clinico-patologici e diagnostica per immagini possono portare alla formulazione di una diagnosi presunta di malattia epatica. Gli esami di laboratorio possono inoltre consentire il rilevamento precoce di epatopatie subcliniche e quindi di trattamenti più precoci.<sup>2</sup>

## EMATOLOGIA

Reperto comune è la presenza di un'anemia di grado lieve-moderato (ematocrito tra 20% e 35% nel cane, e tra



Pierpaolo Romanelli  
Med Vet, MYLAV Laboratorio  
La Vallonea, Rho (MI)

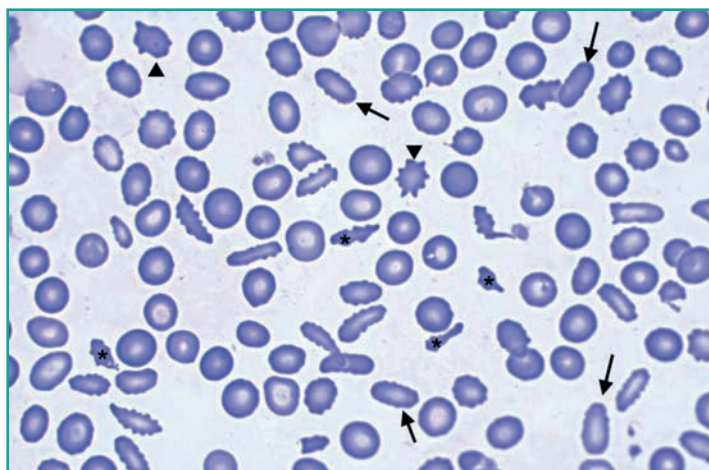


Walter Bertazzolo  
Med Vet, EBVS® European  
Specialist in Veterinary  
Clinical Pathology.  
Scientific Director, MYLAV  
Laboratorio La Vallonea,  
Rho (MI)

**Gli esami di laboratorio possono consentire una diagnosi precoce di epatopatia e quindi un trattamento tempestivo.**

18% e 24% nel gatto)<sup>2</sup> in genere riconducibile ad una risposta aspecifica a patologia cronica, ad emorragie gastrointestinali e/o disturbi dell'emostasi conseguenti all'epatopatia.<sup>3</sup>

In base alla causa dell'anemia, la rigenerazione può essere presente (es. per emorragia) o scarsa. Di conseguenza gli indici eritrocitari possono variare dal macrocitico/ipocromico (es. anemia rigenerativa), al normocitico normocromico, al microcitico/normo o ipocromico (for-



**Figura 1** - Striscio di sangue periferico di gatto con poichilocitosi. → : echinocitociti; ▲ : acantociti; \* : schistociti.

me croniche con carenza di ferro secondaria).<sup>3</sup>

Le alterazioni morfologiche eritrocitarie presenti in corso di malattia epatica comprendono la poichilocitosi (Figura 1) con acantociti, echinociti, codociti e stomatociti.<sup>4</sup> Tali alterazioni sono dovute principalmente ad alterazioni del metabolismo fosfolipidico di membrana e allo stress ossidativo e sono più comuni nel gatto che nel cane. È possibile riscontrare anche schistociti in corso di microangiopatie dovute a concomitante coagulazione intravascolare disseminata (CID) o neoplasia epatica.<sup>3</sup> La trombocitopenia può manifestarsi in corso di ridotta produzione di trombopoietina, di una coagulopatia da consumo ma anche in corso di epatiti (es. da leptospira).<sup>5</sup> Ad eccezione della poichilocitosi del gatto, non ci sono quindi rilievi ematologici particolarmente patognomici di epatopatia.

**La poichilocitosi nel gatto è patognomica di epatopatia. Le altre alterazioni ematologiche sono invece aspecifiche.**

## BIOCHIMICA CLINICA IN PATOLOGIA EPATOBILIARE

Test di laboratorio per la valutazione di un paziente con una patologia epatobiliare possono essere suddivisi in tre gruppi: indicatori di danno epatico, indicatori di colestasi e test di funzionalità epatica (uptake, coniugazione, secrezione e sintesi).

## INDICATORI DI DANNO EPATOCELLULARE

Le potenziali cause di danno cellulare a carico degli epatociti sono numerose e schematizzate per semplicità nel Box 1. Questi agenti inducendo un insulto cellulare agli

epatociti, determinano un aumento della concentrazione di alcuni analiti nel siero.

## ALANINA AMINOTRANSFERASI (ALT O GLUTAMMICO-PIRUVICO TRANSFERASI GPT)

L'ALT si trova in concentrazioni elevate all'interno del citoplasma e nei mitocondri di epatociti di cani e gatti sani ed è considerato il test di elezione per il rilevamento del danno epatocellulare (Box 2).<sup>2,6,7</sup> Gli epatociti che hanno subito un danno (reversibile o irreversibile) rilasciano vescicole citoplasmatiche nello spazio extracellulare: il loro contenuto potrà poi entrare nel circolo sistemico.<sup>7,8,9</sup>

La sensibilità dell'ALT in corso di malattia epatica subclinica è relativamente bassa (64%) ma questo valore può ampiamente variare in base al tipo di danno tissutale ed è quindi più marcato quanto più il danno cellulare è severo e il coinvolgimento del parenchima è esteso.<sup>2,10</sup>

L'attività sierica dell'ALT aumenta entro 12 ore dal danno epatocellulare acuto e raggiunge livelli di picco dopo circa 24-48 ore (Figura 2).<sup>3,11</sup> Il tempo necessario affinché un aumento dell'attività sierica dell'ALT ritorni all'interno degli intervalli di riferimento dipende dal tipo di danno (es. danno acuto vs processo patologico cronico). È stato riportato che l'emivita dell'ALT è di circa 40-61 ore nei cani e di 3,5 ore nei gatti.<sup>12</sup> Pertanto, anche lievi aumenti dell'attività sierica o plasmatica di questo enzima sono spesso considerati clinicamente più rilevanti e specifici nei gatti che nei cani.

L'ALT si trova prevalentemente nel fegato ma con attività enzimatiche inferiori anche nei tessuti cardiaco, renale e muscolare scheletrico.<sup>13,14</sup> Questi altri isoenzimi sono presenti in basse concentrazioni nel siero oppure hanno un'emivita molto breve, per cui raramente contribuiscono alla crescita dell'attività sierica dell'enzima.<sup>2</sup> I livelli dell'ALT possono pertanto aumentare in alcune malattie muscolari molto gravi associate a rabdomiolisi (es. necrosi muscolare, miositi).<sup>2</sup>

Oltre alle patologie epatiche responsabili di danno epatocellulare (es. malattie infiammatorie, ipossia da shock ipovolemico, tossine, farmaci e neoplasie), l'ALT può aumentare in maniera modesta anche a seguito di terapie corticosteroidi o con fenobarbitale: quest'ultimi sono principalmente dovuti ad induzione enzimatica ma occasionalmente anche ad un effettivo danno cellulare.<sup>3,15</sup> Nelle malattie epatiche acute l'incremento dell'ALT è approssimativamente proporzionale al numero di epatociti danneggiati. Nelle epatopatie croniche, gli aumenti dei livelli sierici dell'ALT possono non essere così marcati e possono fluttuare; inoltre nelle malattie epatiche in stadio terminale (es. cirrosi atrofica), l'attività sierica dell'enzima può risultare anche normale per un esaurimento del tessuto funzionalmente attivo.<sup>3</sup> Se da un lato

**Box 1 - Cause epatiche ed extraepatiche di possibile aumento degli enzimi epatobiliari.**

<b>Agenti ambientali</b>	<b>Farmaci</b>	
Aflatossine	Alotano	Itraconazolo
Amanita phalloides	Amiodarone	Ketoconazolo
Chlorella vulgaris (alga blu-verde)	Arsenamide	Lomustina
Cycas revoluta	Azatioprina	Mebendazolo
<b>Agenti infettivi</b>	Carprofene	Metimazolo (gatto)
Adenovirus canino-1	Clindamicina	Metotrexato
Blastomyces dermatitidis	Corticosteroidi	Mitotano
Clostridium perfringens	Diazepam (gatto, per os)	Nitrofuratoina
Coccidioides immitis	Dietilcarbamazina - ossibenzazolo	Paracetamolo
Cryptococcus neoformans	Doxiciclina	Stanozololo
Escherichia coli	Fenazopiridina	Sulfonamide
Histoplasma capsulatum	Fenobarbital	Tetraciclina
Larve migranti	Griseofulvina (gatto)	Zonisamide
Leptospira	Altre	
Mycobacterium tuberculosis	Diabete mellito	
Platynosomum fastosum	Emolisi (AST)	
Schistosomiasi	Enterite	
Toxoplasmosi	Epatopatia vacuolare (idiopatica o secondaria a glucocorticoidi esogeni/endogeni)	
<b>Additivi alimentari</b>	Iperplasia nodulare	
Xilitolo	Ipertiroidismo (gatto)	
<b>Sostanze chimiche</b>	Ipotesia e disturbi di circolo locali o sistemici (patologia cardiaca, trombosi epatica, anemia)	
Metalli pesanti	Ipotiroidismo (cane)	
Arsenico	Lipidosi epatica (gatto)	
<b>Patologie infiammatorie</b>	Malattia da accumulo lisosomiale	
Colangite	Neoplasia (primaria o metastatica)	
Epatite cronica associata all'accumulo di rame	Pancreatite/neoplasia pancreatica	
Epatite cronica idiopatica	Peritonite	
Mucocele biliare	Setticemia	
	Shunt porto-sistemico (congenito o acquisito)	
	Trauma	

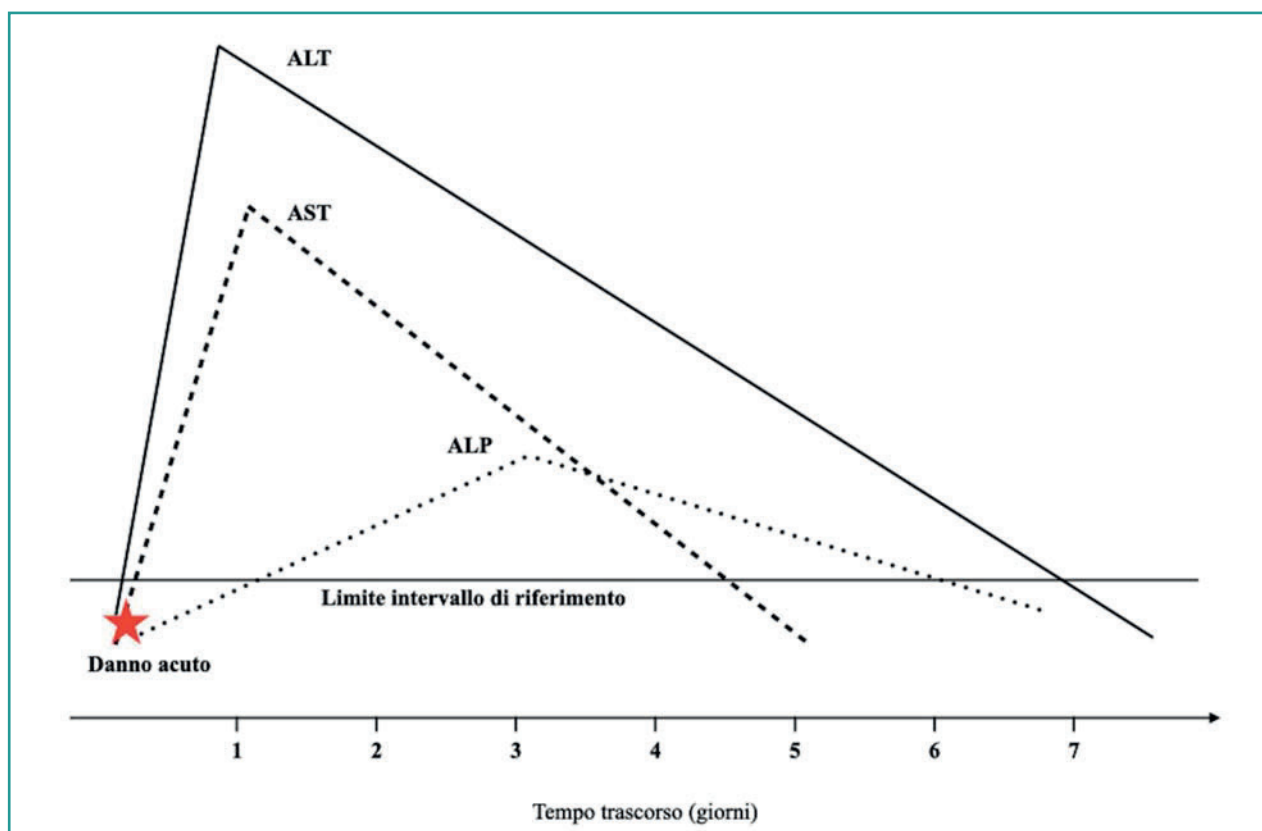
una riduzione dell'attività sierica dell'ALT può rappresentare un segno di prognosi sfavorevole qualora rifletta una perdita di epatociti nelle forme croniche, dall'altro una riduzione di questo enzima in seguito ad un insulto acuto è in genere indicativa di prognosi favorevole.<sup>3</sup> In quest'ultimo caso, l'attività sierica dell'ALT potrebbe ridursi più lentamente di quanto ci si aspetterebbe in base alla sua emivita, dal momento che l'enzima rilasciato deriva sia dagli epatociti danneggiati sia da quelli in via di rigenerazione. Pertanto, nel cane, l'attività dell'enzima dopo un insulto acuto, dovrebbe ridursi del 50% ogni 3-4 giorni e dovrebbe tornare entro l'intervallo di riferimento nell'arco di 2-3 settimane (Figura 2).<sup>2</sup> Di conseguenza, una singola misurazione non fornisce una prognosi accurata.<sup>3</sup> Nel caso di shock ipovolemico, l'aumento delle transaminasi può essere tuttavia molto marcato e re-

**L'ALT è considerato il test di elezione per identificare il danno epatocellulare e aumenti (anche lievi) sono considerati rilevanti e più specifici nel gatto, rispetto al cane.**

pentino ma in caso di riperfusione adeguata è anche caratterizzato da un rapido ritorno alla normalità in pochi giorni (danno da ipotesia transitorio).

### **ASPARTATO AMINOTRANSFERASI (AST O GLUTAMMICO OSSALACETICO TRANSAMINASI GOT)**

L'aspartato aminotransferasi (AST o Glutammico Ossalacetico Transaminasi GOT) è un altro enzima utilizzato come indicatore di danno epatocellulare. Questo en-



**Figura 2** - Andamento degli enzimi in corso di danno epatocellulare acuto.

zima è presente in quantità significative nel tessuto muscolare scheletrico e cardiaco, nel cervello, nel fegato, nei reni e negli eritrociti.<sup>16,17</sup> Le fonti extraepatiche tendono ad essere clinicamente più significative di quelle dell'ALT, quindi un danno muscolare o un'emolisi possono causare notevoli aumenti dell'attività dell'AST. L'AST è quindi considerato meno specifico di danno epa-

tocellulare rispetto all'ALT (Box 2).<sup>2,3,7</sup> Rispetto all'ALT, in corso di danno epatocellulare tende ad avere rialzi più modesti essendo un enzima mitocondriale. Inoltre non viene indotto significativamente da farmaci e corticosteroidi come per altri enzimi epatici.<sup>2</sup> Le cause di un aumento dell'attività dell'AST sono simili a quelle dell'ALT. La valutazione dell'AST sierica in con-

#### Box 2 - Sede cellulare e utilità dei principali enzimi epatocellulari ed epatobiliari del cane e del gatto.

Enzima epatico	Sede tissutale	Indicazione diagnostica	Epatite acuta	Epatite cronica	Cirrosi	Shunt porto-sistemico congenito	Patologia biliare non ostruttiva	Ostruzione vie biliari extra epatiche	Neoplasia epatica
ALT	Citoplasma epatociti (+++) Mitocondri epatociti (+) Muscolo scheletrico (+) Muscolo cardiaco (+) Eritrociti (?)	Danno epatocellulare (+/+++) Danno muscolare (+) Emolisi e lipemia (+)	++/+++	+ /+++	N/++	N/+	N/++	N/++	N/++
ALP	B-ALP: tessuto osseo L-ALP e C-ALP (cane): membrane epatociti Altri isoenzimi: placenta, mammella, intestino (non contribuiscono ad attività plasmatica)	B-ALP: accrescimento, malattie ossee (+) L-ALP: colestasi (+/+++) C-ALP (cane): induzione	+ /++	+ /++	N/++	N/+	+ /+++	+++	N/++
AST	Citoplasma epatociti (+++) Mitocondri epatociti (+++) Muscolo scheletrico (+++) Muscolo cardiaco (+++) Eritrociti (+++)	Danno epatocellulare (+/+++) Danno muscolare scheletrico e cardiaco (+/+++) Emolisi e lipemia (+/+++)	+ /++	+ /++	N/++	N/+	N/+	N/+	N/+
GGT	Epitelio biliare, epitelio tubulare renale, pancreas, mammella, intestino	Colestasi (+/+++) Induzione enzimatica (cane) (+/+++)	N/+	N/+	N/++	N/+	+ /+++	+++	N/++

N: normale



giunzione con le attività di altri enzimi epatici e della creatinasi (CK) tuttavia consente generalmente al clinico di distinguere gli aumenti dovuti a danno epatico da quelli dovuti a danno muscolare.<sup>3</sup>

L'AST ha un'emivita di circa 12 ore nei cani e di 1,5 ore nei gatti.<sup>11</sup> Rispetto al cane, nella specie felina il riscontro di aumenti relativamente più lievi è più significativo; di fatto, è stato suggerito che, nel gatto, l'AST rappresenti un marker più sensibile di danno epatico significativo.<sup>2</sup> Nell'epatite acuta, gli aumenti dei livelli dell'AST si verificano parallelamente alla crescita dei livelli dell'ALT, anche se raramente raggiungono un'entità maggiore di 50 volte (Figura 2).<sup>2,3,18</sup> Sebbene la loro riduzione richieda diverse settimane, in genere i livelli di questo enzima si normalizzano prima di quelli dell'ALT; il riscontro di un incremento persistente dell'attività sierica dell'AST è un segno di prognosi sfavorevole.<sup>2</sup>

**L'AST è considerato un indicatore di danno epatocellulare meno specifico per la presenza di diversi isoenzimi, primi fra tutti quello muscolare ed eritrocitario (emolisi).**

## INDICATORI DI COLESTASI FOSFATASI ALCALINA

La fosfatasi alcalina (ALP) è un enzima associato alle membrane microsomiali e cellulari degli epatociti e dei colangiociti e viene normalmente escreta con la bile. L'ALP viene rilasciata in risposta a diversi disturbi epatici e non epatici e all'induzione da parte di alcuni farmaci (Box 1 e 2).<sup>2,3,7</sup> Sono stati identificati diversi isoenzimi dell'ALP nel fegato, nelle ossa, nell'intestino, nei reni e nella placenta.<sup>6,17,19,20</sup> L'emivita sierica dell'ALP epatica è di circa 70 ore nel cane e di 6 ore nel gatto.<sup>17,20</sup> L'ALP presenta una maggiore specificità per la colestasi nel gatto, rispetto al cane, poiché nella specie felina non sono presenti isoenzimi indotti dagli steroidi. Inoltre, l'emivita sierica più breve e una minore attività totale dell'ALP rendono più significativo il riscontro di aumenti anche se modici, rispetto a quanto osservato nel cane. Per contro, livelli di ALP nel gatto non presentano la stessa sensibilità riscontrata nel cane e possono addirittura essere normali in soggetti itterici.<sup>2</sup>

Tra i diversi isoenzimi di ALP di origine non epatica, quelli di origine renale e intestinale non contribuiscono all'innalzamento dei livelli sierici dell'enzima e l'ALP placentare è ovviamente rilevabile soltanto durante la gravidanza.<sup>3</sup> Pertanto, le cause principali di un innalzamento dei livelli sierici di ALP sono la colestasi, l'induzione da parte di farmaci/ormoni e l'aumento dell'attività osteo-

blastica.<sup>3</sup>

L'ALP viene rilasciata in risposta all'attività osteoblastica e nei cani e gatti in accrescimento: i normali livelli sierici dell'ALP totale sono circa il doppio di quelli riscontrati negli adulti, a causa proprio della presenza dell'isoenzima osseo. Nei cani adulti, un aumento dei livelli di ALP si osserva in caso di lesioni ossee attive (ad esempio, fratture, osteomielite e tumori ossei) e nell'iperparatiroidismo renale secondario – sebbene raramente raggiunga valori superiori a 5 volte il massimo dell'intervallo di riferimento. Nei gatti con lesioni ossee, gli aumenti dell'attività sierica dell'ALP sono ancora più lievi rispetto a quanto osservato nel cane, sebbene sia stato riportato che l'isoenzima osseo sia indotto dall'ipertiroidismo.<sup>2</sup> Un'elevata attività sierica dell'ALP non distingue tra colestasi intraepatica ed extraepatica.<sup>3</sup> Nella colestasi, l'aumento dei livelli sierici dell'ALP epatica non è dovuto

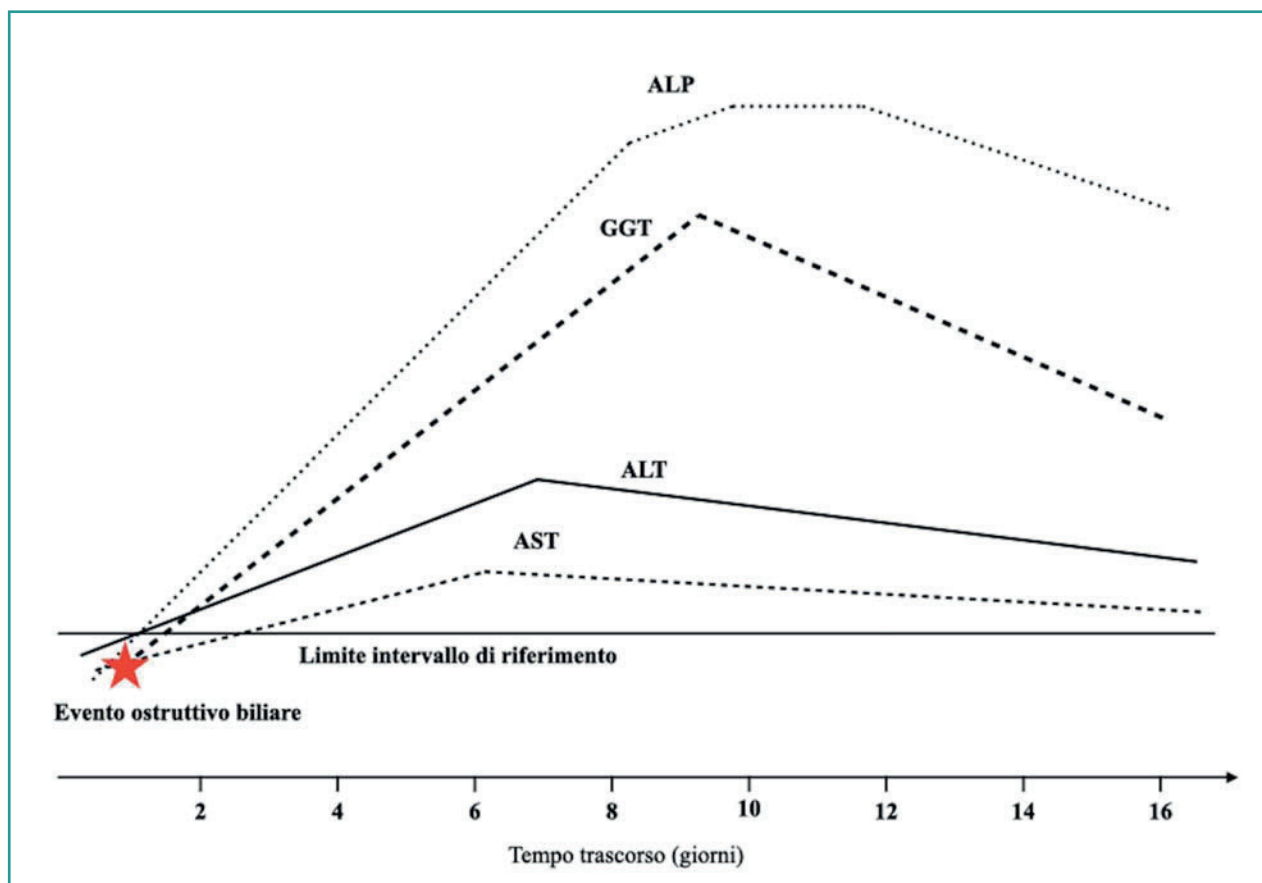
soltanto al semplice riversamento nel sangue dell'enzima contenuto negli epatociti, ma riflette anche la solubilizzazione dell'ALP legata alle membrane causata dall'azione dei sali biliari accumulati, nonché l'induzione di una sintesi *de novo*.<sup>3,21</sup> Pertanto, l'aumento dell'ALP in seguito ad un danno epatico acuto è ritardato rispetto all'aumento degli altri marcatori di danno epatocellulare. Nel

cane, i livelli di ALP iniziano a crescere 8 ore dopo un'ostruzione biliare e si innalzano fino a 15 volte nell'arco di 2-4 giorni. Il picco si raggiunge in 1-2 settimane quando poi si stabilizza ad un livello di plateau (Figura 3).<sup>2,3,18</sup> In genere, l'ALP è anche l'ultimo enzima i cui livelli tornano nell'intervallo di riferimento e la sintesi dell'enzima può persistere anche oltre la risoluzione del danno.<sup>2,3</sup>

L'interpretazione dell'attività sierica dell'ALP è complicata nel cane dalla presenza di un isoenzima indotto dai corticosteroidi (CIALP o SIALP, CorticoSteroid-Induced ALP).<sup>3</sup> Tale isoenzima aumenta pertanto nell'iperadrenocorticismismo canino o in seguito alla somministrazione

**La ALP è più specifica nel gatto per l'assenza di isoenzimi indotti da steroidi e aumenti anche modici possono essere significativi di colestasi.**

ne di steroidi esogeni, sebbene la sua sintesi possa essere indotta anche dai barbiturici ad attività anticonvulsivante.<sup>3</sup> L'ALP indotta dagli steroidi non sembra essere presente nel gatto e, nel cane, la risposta ai corticosteroidi esogeni varia a seconda del tipo di steroide, del dosaggio, della frequenza, della via di somministrazione e del soggetto (variabilità biologica).<sup>2</sup> Tecnicamente, è possibile misurare selettivamente l'attività dell'ALP indotta da glucocorticoidi utilizzando tecniche come



**Figura 3** - Andamento degli enzimi epatobiliari dopo un evento ostruttivo.

**Nel gatto, l'ipertiroidismo è un'importante diagnosi differenziale all'epatopatie in caso di aumento di ALT e ALP.**

l'inibizione del levamisolo. La misurazione dell'ALP indotta da glucocorticoidi tuttavia non è clinicamente utile perché questo enzima può aumentare anche in corso di numerose malattie concomitanti.<sup>3</sup>

### GAMMA-GLUTAMILTRANSFERASI

La gamma-glutamyltransferasi (GGT) è un altro enzima legato alla membrana che si trova nelle cellule epiteliali biliari e negli epatociti, così come nelle cellule epiteliali pancreatiche, tubulari renali e della ghiandola mammaria.<sup>22</sup> I risultati di alcuni studi indicano che l'enzima trovato nel siero di soggetti normali proviene esclusivamente dal fegato<sup>22</sup> e che gli aumenti dei livelli sierici di GGT sono attribuiti alla colestasi o all'iperplasia biliare (Box 2 e figura 3).<sup>27</sup> La GGT ha un'emivita di circa 72 ore nei cani;<sup>23</sup> nei gatti, a causa della breve emivita, può essere un indicatore più sensibile della malattia epatobiliare rispetto all'ALP.<sup>3</sup> Un'eccezione degna di nota è la lipidosi epatica felina, in cui si possono osservare aumenti anche mol-

to marcati dei livelli di ALP in assenza di un incremento significativo della GGT.<sup>3</sup> È stato ipotizzato che questa discordanza rifletta un'eliminazione ritardata o un'eccessiva produzione di ALP oppure la presenza di differenze nella localizzazione dei due enzimi.<sup>2</sup> Nei cani, la GGT è spesso considerata più specifica ma meno sensibile dell'ALP per l'individuazione di colestasi. L'influenza di corticosteroidi esogeni o endogeni può comportare un aumento marcato dell'attività sierica di GGT nei cani. Incrementi da lievi a moderati di GGT sierica possono verificarsi anche durante la terapia anticonvulsivante (fenobarbitale, fenitoina, primidone).<sup>23</sup>

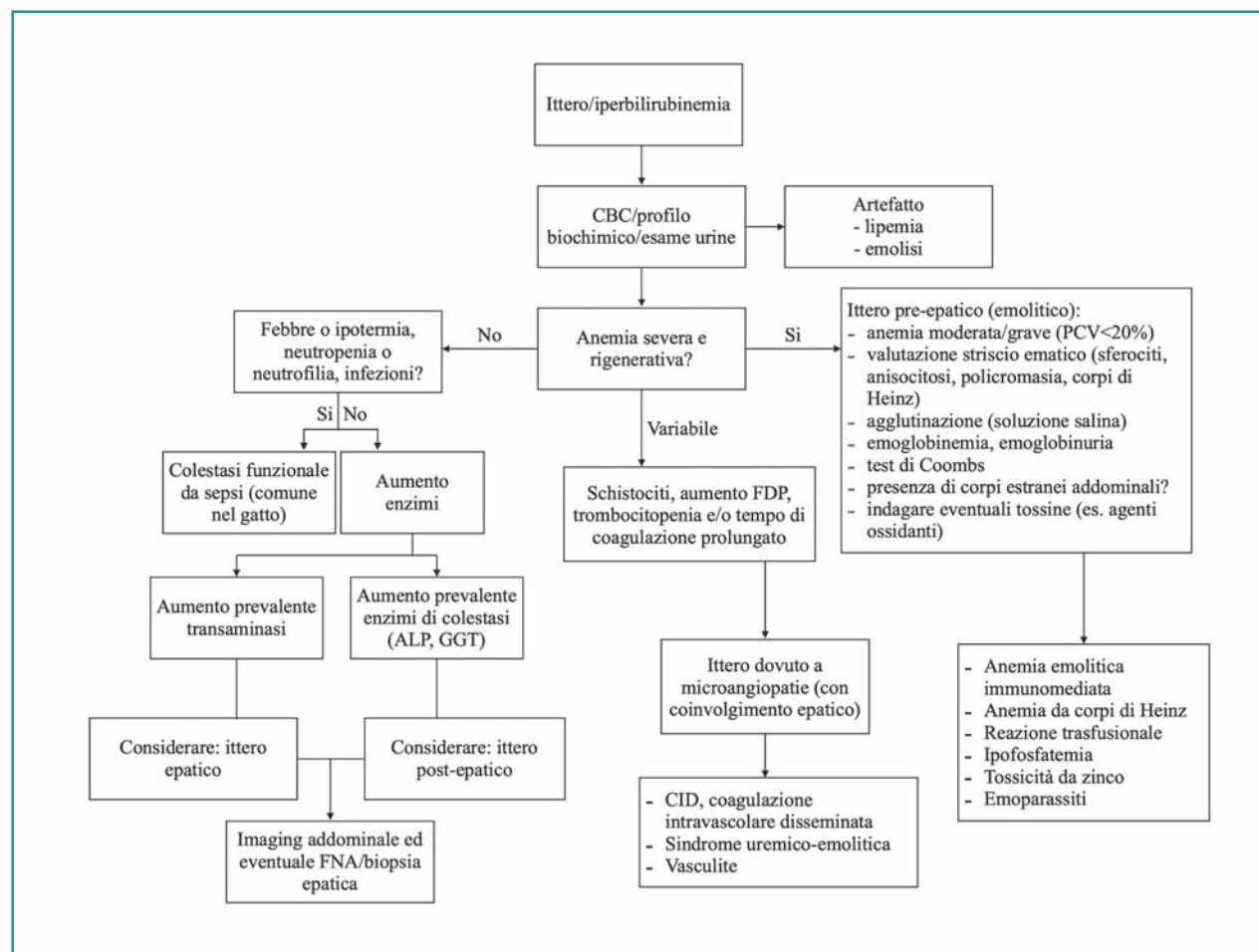
**La lipidosi felina ha un pattern tipico in quanto è caratterizzata da un aumento della ALP in assenza di incremento della GGT.**

### TEST DI FUNZIONALITÀ EPATICA

I test di funzionalità epatica possono essere utilizzati come indicatori di particolari aspetti biosintetici.<sup>2</sup>

### BILIRUBINA

La bilirubina è il prodotto della degradazione delle emo-



**Figura 4** - Algoritmo con approccio ragionato all'ittero.

proteine che compongono l'emoglobina, la mioglobina ed enzimi contenenti il gruppo eme (es. il citocromo P-450).<sup>2,24</sup> La maggior parte della bilirubina viene generata durante la rimozione dei globuli rossi senescenti da parte del sistema fagocitico reticolo-endoteliale in fegato, milza e midollo osseo. Il gruppo eme contenuto in emoglobina, mioglobina ed altre proteine viene così convertito prima in biliverdina e poi in bilirubina, che essendo insolubile viene trasportata al fegato legata all'albumina.<sup>2,24</sup> A questo livello viene captata e, assieme alla bilirubina prodotta nel fegato, viene coniugata a bilirubina diglucuronide. La coniugazione ne favorisce la solubilità e la sua escrezione mediante i canalicoli biliari.<sup>2,24</sup> Come componente della bile, viene successivamente degradata dai batteri del colon in diversi pigmenti (urobilinogeno, stercobilina).<sup>3</sup>

L'iperbilirubinemia è responsabile della comparsa di ittero, ossia di una colorazione giallastra dei tessuti dovuta all'accumulo di pigmenti biliari.<sup>2</sup>

Clinicamente, la presenza di ittero viene rilevata inizialmente in corrispondenza della sclera dell'occhio quando però le concentrazioni di bilirubina superano il va-

lore di 1,5 mg/dL mentre negli altri tessuti la variazione di colorazione è percepibile solo con valori superiori a 2,6 mg/dL.<sup>2,3</sup> L'iperbilirubinemia può essere tuttavia identificata più precocemente nei campioni di siero separato quando la concentrazione è superiore a 0,9 mg/dL.<sup>2,3</sup> A causa della bassa soglia renale della bilirubina, nel cane il riscontro di bilirubinuria precede in genere la comparsa di un ittero incipiente; nel gatto, la soglia renale della bilirubina è più elevata e la presenza di bilirubinuria è di solito associata a ittero conclamato.<sup>2</sup> Va ricordato che nei cani, soprattutto se maschi, è comune e non patologico il riscontro di bilirubinuria in urine concentrate, in quanto i tubuli renali sono in grado di coniugare la bilirubina e secernerla nelle urine.<sup>2</sup> L'iperbilirubinemia può derivare da tre meccanismi fondamentali (Figura 4)<sup>2,3,18,25</sup>:

- cause pre-epatiche: aumento della produzione di bilirubina superiore alla capacità di escrezione epatica (ittero emolitico);
- cause epatiche: anomalie nei processi di captazione, coniugazione o escrezione da parte degli epatociti;
- cause post-epatiche: ostacolo all'escrezione biliare in-

tra- o extraepatica o rottura del tratto biliare con riassorbimento di bile dal peritoneo e da altri tessuti. L'aumentata produzione di bilirubina e la conseguente comparsa di ittero sono quasi invariabilmente associate a una grave emolisi. L'emolisi è spesso distinguibile da altre cause di iperbilirubinemia per la presenza di anemia concomitante (solitamente rigenerativa).<sup>2,3</sup> Un'iperbilirubinemia di grado lieve (spesso senza ittero conclamato) può verificarsi anche in alcuni gatti ipertiroidi, forse secondariamente ad un accelerato turnover delle emoproteine caratteristico dello stato ipermetabolico di questi pazienti.<sup>2</sup> In tutti i pazienti iperbilirubinemici è necessario valutare la morfologia dei globuli rossi per l'eventuale presenza di sferociti, autoagglutinazione, corpi di Heinz e parassiti emotrofi. Le cause comuni di emolisi includono anemia emolitica immunomediata, parassiti emotrofi, farmaci e tossine o malattia microangiopatica.<sup>2,3</sup> Aumenti concomitanti di ALT/AST possono verificarsi a causa di lesioni ipossiche agli epatociti ed essere quindi confondenti circa la causa dell'ittero. Il riscontro di ittero con incremento di enzimi epatici, in presenza di un valore di ematocrito normale o di una lieve forma di anemia, indica che la condizione probabilmente non è di origine emolitica.<sup>2,3,18,25</sup>

**Il riscontro di bilirubinuria nel cane è un reperto comune soprattutto nei maschi e con urine concentrate: è dovuta alla capacità dei tubuli renali di coniugare la bilirubina e di secernerla.**

L'ittero epatico può essere dovuto a una concomitante diminuzione della funzione degli epatociti e a colestasi intraepatica. Queste condizioni portano a una diminuzione della captazione, della coniugazione e dell'escrezione della bilirubina. Deve tuttavia essere presente una malattia epatica significativa tale da provocare iperbilirubinemia.<sup>2,3</sup> Quindi, la bilirubina sierica totale non è un test sensibile per la malattia epatica. Anche alcune malattie extraepatiche possono essere responsabili di ittero colestatico, anche se i meccanismi precisi non sono stati del tutto chiariti.<sup>2,3</sup> La presenza di sepsi al di fuori del sistema epatobiliare può portare a colestasi intraepatica e a ittero, probabilmente attraverso un effetto mediato da citochine infiammatorie e/o endotossine batteriche che riducono la capacità degli epatociti di coniugare la bilirubina e secernerla nei canalicoli. Non è chiaro invece perché, nel gatto, la FIP sia responsabile della comparsa di ittero.<sup>2</sup>

L'ittero post-epatico è secondario all'ostruzione del dotto biliare extraepatico. Le cause comuni includono pancreatite, colecistite batterica, mucocele biliare, neoplasia

biliare e neoplasia pancreatica. L'ostruzione del dotto biliare extraepatico spesso provoca un aumento sproporzionato degli enzimi colestatici (ALP e GGT) rispetto agli enzimi di lesione epatocellulare (ALT e AST). Anche le concentrazioni sieriche di colesterolo sono spesso aumentate con l'ostruzione biliare. L'esame ecografico è spesso utile per confermare la diagnosi. Ove disponibile, la colangiografia in risonanza magnetica può offrire uno studio migliore delle vie biliari.<sup>3</sup>

La misurazione della concentrazione di bilirubina coniugata (diretta) e non coniugata (indiretta) sierica – Test di Van den Bergh – per distinguere tra ittero pre-epatico, epatico o post-epatico è risultata non clinicamente affidabile nel cane e nel gatto.<sup>3</sup>

**La presenza di sepsi può portare ad una colestasi intraepatica funzionale e ad ittero grazie probabilmente all'azione di citochine infiammatorie (ridotta capacità epatocellulare di sintesi ed escrezione della bile).**

La bilirubina può legarsi irreversibilmente (covalentemente) all'albumina.<sup>26</sup> Non potendo essere eliminata dal fegato, questa biliproteina (delta-bilirubina) persiste nel plasma<sup>26</sup> e ha un'emivita sierica paragonabile a quella dell'albumina. Questo diventa clinicamente rilevante perché l'iperbilirubinemia (e l'ittero) può persistere per diverse settimane dopo la risoluzione della causa.<sup>3</sup>

## AMMONIEMIA

L'ammoniaca è prodotta prevalentemente nell'intestino attraverso il catabolismo della glutammina da parte degli enterociti e la deaminazione batterica delle proteine alimentari o in corso di emorragia gastrointestinale.<sup>27,28</sup> L'ammoniaca dal lume intestinale diffonde attraverso la mucosa e viene poi trasportata al fegato attraverso la circolazione portale epatica dove arriva agli epatociti sotto forma di ammonio. Poiché il fegato ha una grande capacità di riserva per la conversione dell'ammoniaca in urea, la misurazione plasmatica dell'ammoniaca è un marker relativamente poco sensibile per la funzione epatica,<sup>29</sup> ed è stato suggerito che è necessaria una riduzione superiore al 70% della funzione epatica per aumentare la concentrazione sierica di ammoniaca.<sup>30</sup> Le concentrazioni plasmatiche di ammoniaca non sono influenzate da colestasi o disturbi epatici che non alterano la circolazione portosistemica o riducono significativamente la massa funzionale epatica. La sensibilità dell'ammoniaca plasmatica per il rilevamento di shunt portosistemici congeniti è invece molto buona, ed è riportata essere tra l'81% e il 100% nei cani e dell'83% nei gatti.<sup>30,31</sup> L'iperammoniemia è generalmente considerata indicativa di insufficienza epatica causata da shunt por-



**Per misurare l'ammoniaca è necessario un analizzatore direttamente presente in struttura perché è molto instabile. Infatti, deve essere raccolta in provette pre-refrigerate ed analizzata entro 30 minuti.**

tosistemico. Occasionalmente però anche le carenze enzimatiche del ciclo dell'urea possono causare un aumento delle concentrazioni di ammoniaca nel sangue. Queste carenze enzimatiche possono essere ereditarie a causa dell'assenza di un particolare enzima o secondarie ad un deficit di cobalamina o arginina.<sup>32,33</sup> La carenza di arginina può verificarsi nei gatti con lipidosi epatica e può contribuire all'iperammoniemia. L'ammoniaca svolge un ruolo centrale nella patogenesi dell'encefalopatia epatica di cui è un marcatore utile.<sup>34,35,36</sup> Esistono anche test di tolleranza all'ammoniaca, studiati nel tentativo di aumentare la sensibilità della misurazione dell'ammoniaca per rilevare l'insufficienza epatica e lo shunt porto-sistemico. L'esecuzione di tali test tuttavia comporta il pericolo di un potenziale peggioramento dell'encefalopatia epatica.<sup>3</sup>

Va sottolineato che l'ammoniaca non è molto stabile nei campioni di plasma. I campioni di sangue devono essere raccolti in provette pre-refrigerate e analizzati entro 30 minuti dalla raccolta. Pertanto, è necessario un analizzatore direttamente presente in struttura per misurare in modo affidabile la concentrazione plasmatica di ammoniaca.<sup>3</sup>

## ACIDI BILIARI

Gli acidi biliari sono steroidi anfifilici sintetizzati nel fegato a partire dal colesterolo e sono il principale costituente della bile. Attraverso la formazione di micelle, gli acidi biliari migliorano la solubilizzazione dei lipidi all'interno dell'intestino, facilitando la digestione e l'assorbimento dei grassi e delle vitamine liposolubili.<sup>3</sup> Gli acidi biliari sierici sono spesso usati per valutare la funzione epatica nei cani e nei gatti e possono essere misurati come singolo campione pre-prandiale (dopo digiuno di 12 ore) oppure insieme ai post-prandiali, dopo circa 2 ore dalla somministrazione del cibo (test dinamico degli acidi biliari).<sup>3</sup> Entrambi questi test sono semplici da eseguire e sicuri e i campioni sono stabili a temperatura ambiente, facilitando così la valutazione di un laboratorio esterno. La lipemia o l'emolisi possono però interferire con il test.<sup>3</sup> I soggetti che hanno avuto una colecistectomia o hanno una patologia a carico dell'ileo possono avere risultati inaffidabili. Gli aumenti delle concentrazioni di acidi biliari sierici a digiuno o postprandiali sono indicativi di una disfunzione epatica, di shunt portosistemico o di colestasi.<sup>3</sup> Pertanto, le concentrazioni sieriche di acidi biliari non devono essere va-

lutate in pazienti con altre evidenze di colestasi, come l'aumento delle concentrazioni sieriche di bilirubina.<sup>3</sup> La contrazione spontanea della cistifellea può verificarsi durante il periodo di digiuno e può spesso comportare un valore a digiuno superiore al campione postprandiale; tuttavia, entrambi i valori dovrebbero essere all'interno dell'intervallo di riferimento del valore postprandiale. L'uso clinico primario della misurazione degli acidi biliari sierici è quello di valutare la funzionalità epatica in pazienti con concentrazioni sieriche di bilirubina all'interno dell'intervallo di riferimento.<sup>3</sup> La misurazione delle concentrazioni di acidi biliari sierici postprandiali non ha un vantaggio rispetto alle concentrazioni sieriche di acidi biliari a digiuno, se non di migliorarne la sensibilità.<sup>29,31</sup>

**La sensibilità degli acidi biliari per la diagnosi di shunt porto-sistemico va dal 90% nel cane al 100% nel gatto.**

Ai fini della diagnosi di malattia epatobiliare, la specificità delle concentrazioni di acidi biliari preprandiali è del 100% a valori superiori a 20 mmol/L e quella delle concentrazioni di acidi biliari postprandiali è del 100% a valori superiori a 25 mmol/L.<sup>2,29</sup> Uno studio ha rilevato che la sensibilità della concentrazione di acidi biliari sierici a digiuno per la diagnosi di shunt portosistemico (valore limite di 20 mmol/L) è del 93% per i cani e del 100% per i gatti.<sup>2,3,31</sup> A causa delle diverse tecniche e saggi utilizzati, che hanno una variabilità analitica importante, dovrebbero essere stabiliti valori di riferimento adattati a ciascun laboratorio.<sup>37</sup>

## INDICATORI DELLA CAPACITÀ DI SINTESI EPATICA

Una patologia epatica può causare una diminuzione della sintesi proteica e un alterato metabolismo del glucosio, dell'urea e dei lipidi. Deve essere presente una riduzione di circa il 70-80% della massa funzionale epatica prima che tali anomalie biochimiche siano rilevabili. Proprio per questo motivo tali parametri non sono abbastanza sensibili per la diagnosi precoce di malattia epatobiliare. Inoltre, i cambiamenti in questi analiti si verificano anche a causa di processi patologici di altra origine.<sup>3</sup>

Il fegato svolge un ruolo centrale nel metabolismo dei lipidi, compresa la sintesi del colesterolo. Le concentrazioni sieriche di colesterolo possono essere aumentate, normali o diminuite nei pazienti con malattia epatobiliare.<sup>3</sup> Diminuzioni della concentrazione sierica di colesterolo possono verificarsi in pazienti con grave insufficienza epatica e shunt portosistemico acquisito o con-

genito a causa di una ridotta sintesi. Ulteriori cause di ipocolesterolemia includono malattie gastrointestinali con conseguente malassorbimento o maldigestione, diminuzione dell'assunzione dietetica e ipoadrenocorticismo. Concentrazioni sieriche di colesterolo all'interno dell'intervallo di riferimento sono comunemente osservate in pazienti con vari disturbi epatobiliari e l'ipercolesterolemia può o meno essere osservata nei pazienti con colestasi.<sup>3</sup> Concentrazioni anormali di colesterolo sierico non sono sensibili o specifiche per la malattia epatobiliare nei cani o nei gatti poiché aumenti o diminuzioni possono verificarsi anche in corso di endocrinopatie, obesità, nefropatie, enteropatia proteino-disperdente, pancreatite o iperlipidemie primarie.<sup>3</sup>

Il fegato interviene anche nel metabolismo dei carboidrati in quanto è responsabile per lo stoccaggio del glicogeno, la conversione del galattosio e del fruttosio in glucosio, la gluconeogenesi e la sintesi di molti composti che utilizzano i carboidrati come substrato. Il glucosio non è un marker sensibile o specifico di malattia epatica in quanto il fegato ha una grande capacità di riserva.<sup>3</sup> Per quanto riguarda il metabolismo delle proteine, il fegato è responsabile della sintesi delle proteine plasmatiche, della deaminazione degli amminoacidi, della conversione dell'ammoniaca in urea e della sintesi degli amminoacidi. Tutte queste funzioni possono essere compromesse in pazienti con una patologia epatica.<sup>3</sup> L'albumina è una proteina plasmatica sintetizzata esclusivamente dal fegato e le sue concentrazioni sieriche sono mantenute tali da un uguale tasso di sintesi epatica e degradazione proteica. Sebbene diversi disturbi possano causare diminuzioni delle concentrazioni sieriche di albumina, l'ipoalbuminemia grave (<2 g/dL) si verifica più comunemente in corso di insufficienza epatica, enteropatia proteino-disperdente, nefropatia e in corso di dermatopatie essudative. A causa della grande capacità di riserva del fegato per l'albumina, l'ipoalbuminemia gra-

ve è un marker relativamente poco sensibile per la malattia epatobiliare ed è probabile che si osservi prevalentemente nei casi con insufficienza epatica avanzata o shunt portosistemici.<sup>3</sup>

I fattori della coagulazione (ad eccezione del fattore VIII), i fattori anticoagulanti e il plasminogeno sono tutti sintetizzati dal fegato, il quale costituisce anche il sito di attivazione di alcuni di essi.<sup>3,38</sup> Inoltre, un altro aspetto che influisce sull'emostasi è l'assorbimento della vitamina K mediato dagli acidi biliari. Anomalie coagulative sono state riportate per attività specifiche dei fattori della coagulazione, tempo di protrombina (PT), tempo di tromboplastina parziale attivato (aPTT), proteine indotte in assenza di vitamina K (PIVKA), prodotti di degradazione della fibrina (FDPs), fibrinogeno e/o attività della proteina C.<sup>39-44</sup> Le alterazioni della coagulazione non sono specifiche o diagnostiche di malattia epatobiliare, ma, in corso di patologie epatiche, possono verificarsi disturbi della coagulazione, spesso subclinici. La coagulazione intravascolare disseminata (CID) non è rara nei pazienti con malattia epatica e può essere difficile distinguere da una coagulopatia dovuta alla diminuzione della funzione epatobiliare.<sup>3</sup>

## ESAME DELLE URINE

Anche la bilirubinuria e i cristalli di urato di ammonio possono essere degli indicatori di epatopatia. La bilirubina è comunemente misurata semiquantitativamente nelle urine canine e feline con il dipstick urinario.

Può essere un reperto normale nei cani, in particolare nei cani maschi, o come conseguenza della perdita di bilirubina non coniugata (legata all'albumina) nei pazienti proteinurici o della coniugazione e produzione di bilirubina nelle cellule tubulari renali.<sup>3</sup> Invece, i gatti hanno una soglia renale molto più alta per la bilirubina rispetto ai cani e qualsiasi grado di bilirubinuria giustifica la ricerca di un'epatopatia, di un problema post epatico o la presenza di emolisi. I cristalli di urato di ammonio possono essere rilevati nel sedimento urinario di cani e gatti con epatopatia come conseguenza di un aumento delle concentrazioni sieriche di acido urico, con concomitante iperammoniemia.<sup>3</sup> Cristalli di urato di ammonio sono stati rilevati nel 40-70% dei cani e nel 15% dei gatti con shunt porto-sistemico.<sup>45</sup> All'esame del sedimento, si può anche riscontrare la presenza di urati amorfi e di cristalli di acido urico (Figura 5).<sup>2</sup>

Un altro test che può aiutare l'indagine clinica su un'eventuale epatopatia è la misurazione degli acidi biliari urinari. Questo parametro fornisce una valutazione della produzione cumulativa di acidi biliari sierici e della loro escrezione. I risultati vengono normalizzati esprimendoli sotto forma di rapporto acidi biliari:creatinina, al fine di tenere conto degli effetti dovuti al grado di concentrazione delle urine.<sup>2</sup>



**Figura 5** - Cristalli di acido urico in paziente con shunt port-sistemico.

## NUOVI MARKER DI EPATOPATIA

La proteina anticoagulante C è uno zimogeno proteico dipendente dalla vitamina K, sintetizzato nel fegato con un ruolo importante nella coagulazione e pertanto utile nella diagnosi di epatopatia.<sup>46</sup> Studi clinici su cani con anomalie congenite del sistema vascolare portale indicano che la proteina C è un indicatore non invasivo del flusso sanguigno portale che può consentire anche di distinguere lo shunt portosistemico dalla displasia microvascolare.<sup>3</sup>

I microRNA sono piccoli RNA non codificanti che regolano l'espressione genica post-trascrizionale.<sup>2,47,48</sup> Vari studi hanno dimostrato un possibile ruolo dei microRNA di origine terapeutica come biomarcatori non invasivi stabili e sensibili del danno epatocellulare in modelli animali e nell'uomo, in presenza di concentrazioni sieriche normali o aumentate di ALT. Molti di questi studi hanno indicato che i microRNA derivati dagli epatociti hanno una sensibilità più elevata rispetto all'ALT sierica per lesioni epatocellulari.<sup>46,49,50</sup> In particolare, un recente studio sui Labrador retriever ha identificato nel microRNA-122 un marker altamente sensibile e specifico di danno epatocellulare, rispetto all'attività dell'ALT.<sup>51</sup> Con microRNA-122 è stato possibile anche identificare pazienti con alte concentrazioni di rame epatico, ma normale attività dell'ALT.<sup>51</sup>

L'acido ialuronico è un glicosaminoglicano presente nel tessuto connettivo ed è uno dei componenti principali della matrice extracellulare. L'acido ialuronico è stato utilizzato anche come marker sierologico per distinguere i pa-

zienti con fibrosi epatica da assente a lieve, da quelli con fibrosi da moderata a grave. La sensibilità varia dal 75% all'87% e la specificità dall'80% al 100%.<sup>52</sup> Gli studi preliminari suggeriscono che l'acido ialuronico sierico può anche avere utilità per la diagnosi della fibrosi epatica canina. Uno studio su cani con epatopatia ha rilevato che i cani con cirrosi hanno concentrazioni sieriche più elevate di acido ialuronico rispetto a quelli con epatopatia non cirrotica, cani sani o cani con malattia extraepatica.<sup>53</sup> Di recente, è stato sviluppato il test FibroVet (Echosens) dal quale si ottiene un indice che combina l'età paziente, il sesso e diversi parametri biochimici in un algoritmo. Uno studio riportato come abstract di ricerca ha riportato che questo indice ha un valore predittivo negativo per la diagnosi di fibrosi moderata dal 90% al 100% e la capacità di differenziare i cani con fibrosi con un valore predittivo positivo dal 90% al 100%.<sup>54</sup>

## ALTRI MARKER SIERICI

Esistono anche altri marker potenziali, sviluppati prevalentemente nei ruminanti, il cui utilizzo è stato proposto nel cane e nel gatto. Tra questi, si ricordano l'arginasi, la glutammato deidrogenasi (GLDH), la lattato deidrogenasi (LDH), la succinato deidrogenasi (SDH) e l'ornitina carbamiltransferasi (OCT). Nessuno di questi enzimi ha dimostrato però un vantaggio diagnostico significativo rispetto alle transaminasi comunemente utilizzate. L'unico dato significativo è l'associazione tra aumento persistente di questi enzimi e una prognosi sfavorevole.<sup>3</sup>

### PUNTI CHIAVE

- Le epatopatie sono molto comuni e gli esami di laboratorio sono fondamentali per iniziare un'indagine diagnostica.
- La biochimica clinica rappresenta il cardine dell'indagine di laboratorio delle epatopatie.
- La diagnosi definitiva di epatopatia spesso necessita di esami di laboratorio, imaging e biopsia istologica.

## Clinical pathology of liver disease in dogs and cats

### Summary

*Many laboratory tests can be used to identify liver diseases. Anemia is the most common hematological anomaly, sometimes associated with erythrocyte morphological alterations. Biochemical tests are divided into three groups: marker of hepatocellular damage, cholestasis and hepatobiliary function tests.*

*Laboratory tests cannot usually provide a definitive diagnosis as they are not specific however they are a valuable initial screening. In order to establishing a definitive diagnosis of liver disease, imaging and liver biopsy are required.*

## BIBLIOGRAFIA

- Campbell J, Chapman P, Klag A. The Prevalence, Magnitude, and Reversibility of Elevated Liver Enzyme Activities in Hyperthyroid Cats Presenting for Iodine-131 Treatment. *Frontiers in Veterinary Science*. Feb 16;9:830287, 2022.
- Hall EJ, German AJ. Valutazione di laboratorio delle malattie epatiche. In: Villiers E, Risti J BSAVA Manual of canine and feline clinical pathology, 3rd edition Milano: Edra; 2017: 266-294.
- Lawrence YA, Steiner JM. Laboratory Evaluation of the Liver. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, vol. 47, no. 3, Elsevier; 539-553, 2017.
- Christopher MM, Lee SE. Red cell morphologic alterations in cats with hepatic disease. *Journal of Veterinary Clinical Pathology* 23(1):7-12; 1994.
- Goldstein RE, Lin RC, Langston CE, *et al*. Influence of infecting serogroup on clinical features of leptospirosis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*; 20(3):489-94; 2006.
- Ozer J, Ratner M, Shaw M, *et al*. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*; 245(3):194-205; 2008.
- Paltrinieri S, Bertazzolo W, Giordano A. Patologie epatiche e alterazioni del metabolismo lipidico. In: Paltrinieri S, Bertazzolo W, Giordano A. Patologia clinica del cane e del gatto, approccio pratico alla diagnostica di laboratorio. Elsevier, 2010. Parte 1, Cap. 5, pag 80-96.
- Lemasters JJ, Gores GJ, Nieminen AL, *et al*. Multiparameter digitized video microscopy of toxic and hypoxic injury in single cells. *Environmental Health Perspectives*; 84:83-94, 1990.
- Solter PF. Clinical pathology approaches to hepatic injury. *Toxicologic Pathology*; 33(1):9-16, 2005.
- Fieten H, Leegwater PAJ, Watson AL and Rothuizen J (2012). Hepatic copper concentration and blood parameters in subclinical Labrador Retrievers and association with diet. *Proceedings of the 22nd ECVIM Congress, Maastricht*.
- Stockham SL, Scott MA. Enzymes. In: Thrall MA, editor. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd edition. Ames (IA): Iowa State Press; 2002. Chapter 12. Pag. 639-75.
- Comazzi S, Pieralisi C, Bertazzolo W. Haematological and biochemical abnormalities in canine blood: frequency and associations in 1022 samples. *Journal of Small Animal Practice*; 45(7):343-9, 2004.
- Lindblom P, Rafter I, Copley C, *et al*. Isoforms of alanine aminotransferases in human tissues and serum-differential tissue expression using novel antibodies. *Archives of Biochemistry and Biophysics*; 466(1):66-77, 2007.
- Yang RZ, Blaileanu G, Hansen BC, *et al*. cDNA cloning, genomic structure, chromosomal mapping, and functional expression of a novel human alanine aminotransferase. *Genomics*; 79(3):445-50, 2002.
- Ennulat D, Walker D, Clemon F, *et al*. Effects of hepatic drug-metabolizing enzyme induction on clinical pathology parameters in animals and man. *Toxicologic Pathology*; 38(5):810-28, 2010.
- Chapman SE, Hostutler RA. A laboratory diagnostic approach to hepatobiliary disease in small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*; 43(6): 1209-25, 2013.
- Lidbury JA, Steiner JM. Liver-diagnostic evaluation. In: Washabau RJ, Day MJ, editors. *Canine and feline gastroenterology*. St Louis (MO): Elsevier; 2013. Chapter 61, pag 863-75.
- Willard MD, Twedt DC. Gastrointestinal, pancreatic and hepatic disorders. In: Willard MD, Tvedten H. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. Elsevier, 2012. Fifth edition. Chapter 9, pag 191-225.
- Kutzler MA, Solter PF, Hoffman WE, *et al*. Characterization and localization of alkaline phosphatase in canine seminal plasma and gonadal tissues. *Theriogenology*; 60(2):299-306, 2003.
- Sanecki RK, Hoffmann WE, Dorner JL, *et al*. Purification and comparison of corticosteroid-induced and intestinal isoenzymes of alkaline phosphatase in dogs. *American Journal of Veterinary Research*; 51(12):1964-8, 1990.
- Solter PF, Hoffmann WE. Solubilization of liver alkaline phosphatase isoenzyme during cholestasis in dogs. *American Journal of Veterinary Research*; 60(8):1010-5, 1999.
- Penn R, Worthington DJ. Is serum gamma-glutamyltransferase a misleading test? *British Medical Journal (Clinical Research Edition)* 286(6364):531-5, 1983.
- Chapman SE, Hostutler RA. A laboratory diagnostic approach to hepatobiliary disease in small animals. *Clinics in Laboratory Medicine*; 35(3):503-19, 2015.
- Iyanagi T, Emi Y, Ikushiro S. Biochemical and molecular aspects of genetic disorders of bilirubin metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta*; 1407(3):173-84, 1998.
- Cocker S, Richter K. Diagnostic evaluation of the Liver (Hepatobiliary disease). In: Ettinger SJ, Feldman EC and Côté E. *Textbook of veterinary internal medicine*, eighth edition. Elsevier, 2017, vol.2, pag 1611-162.
- Gautam A, Seligson H, Gordon ER, *et al*. Irreversible binding of conjugated bilirubin to albumin in cholestatic rats. *Journal of Clinical Investigation*; 73(3):873-7, 1984.
- Souba WW, Smith RJ, Wilmore DW. Glutamine metabolism by the intestinal tract. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*; 9(5):608-17, 1985.
- Summerskill WH, Wolpert E. Ammonia metabolism in the gut. *The American Journal of Clinical Nutrition*; 23(5):633-9, 1970.
- Center SA, ManWarren T, Slater MR, *et al*. Evaluation of twelve-hour preprandial and two-hour postprandial serum bile acids concentrations for diagnosis of hepatobiliary disease in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 199(2):217-26, 1991.
- Gerritzen-Bruning MJ, van den Ingh TS, Rothuizen J. Diagnostic value of fasting plasma ammonia and bile acid concentrations in the identification of portosystemic shunting in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*; 20(1):13-9, 2006.
- Ruland K, Fischer A, Hartmann K. Sensitivity and specificity of fasting ammonia and serum bile acids in the diagnosis of portosystemic shunts in dogs and cats. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*; 39(1):57-64, 2010.
- Battersby IA, Giger U, Hall EJ. Hyperammonaemic encephalopathy secondary to selective cobalamin deficiency in a juvenile Border collie. *Journal of Small Animal Practice*; 46(7):339-44, 2005.
- Morris JG, Rogers QR. Ammonia intoxication in the near-adult cat as a result of a dietary deficiency of arginine. *Science*; 199(4327):431-2, 1978.
- Gow AG. Hepatic Encephalopathy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. May;47(3):585-599, 2017.
- Lidbury JA, Cook AK, Steiner JM. Hepatic encephalopathy in dogs and cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care (San Antonio)*, 2016.
- Rothuizen J, van den Ingh TS. Arterial and venous ammonia concentrations in the diagnosis of canine hepato-encephalopathy. *Research in Veterinary Science*; 33(1):17-21, 1982.
- Friedrichs KR, Harr KE, Freeman KP, *et al*. ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Journal Veterinary Clinical Pathology*; 41(4):441-53, 2012.
- Dirksen K, Fieten H. Canine Copper-Associated Hepatitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. May;47(3):631-644, 2017.
- Badyalak SF, Dodds WJ, Van Vleet JF. Plasma coagulation factor abnormalities in dogs with naturally occurring hepatic disease. *American Journal of Veterinary Research*; 44(12):2336-40, 1983.
- Center SA, Warner K, Corbett J, *et al*. Proteins invoked by vitamin K absence and clotting times in clinically ill cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*;14(3):292-7, 2000.
- Lisciandro SC, Hohenhaus A, Brooks M. Coagulation abnormalities in 22 cats with naturally occurring liver disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*; 12(2):71-5, 1998.
- Mount ME, Kim BU, Kass PH. Use of a test for proteins induced by vitamin K absence or antagonism in diagnosis of anticoagulant poisoning in dogs: 325 cases (1987-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 222(2):194-8, 2003.
- Prins M, Schellens CJ, van Leeuwen MW, *et al*. Coagulation disorders in dogs with hepatic disease. *The Veterinary Journal*; 185(2):163-8, 2010.



44. Toulza O, Center SA, Brooks MB, *et al.* Evaluation of plasma protein C activity for detection of hepatobiliary disease and portosystemic shunting in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 229(11):1761-71, 2006.
45. Campbell J, Chapman P, Klag A. The Prevalence, Magnitude and Reversibility of Elevated Liver Enzyme Activities in Hyperthyroid Cats Presenting for Iodine-131 Treatment. *Frontiers in Veterinary Science*, 2022.
46. Van der Meer AJ, Farid WR, Sonneveld MJ, *et al.* Sensitive detection of hepatocellular injury in chronic hepatitis C patients with circulating hepatocyte-derived microRNA-122. *Journal of Viral Hepatitis*; 20(3):158-66, 2013.
47. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*; 136(2):215-33, 2009.
48. El-Sebaey AM, Abramov PN. Hepatocyte-derived canine familial microRNAs as serum biomarkers of hepatic steatosis or fibrosis as implicated in the pathogenesis of canine cholecystolithiasis. *Journal Veterinary Clinical Pathology. Suppl* 1:37-46, 2022.
49. Laterza OF, Lim L, Garrett-Engle PW, *et al.* Plasma microRNAs as sensitive and specific biomarkers of tissue injury. *Clinical Chemistry*; 55(11):1977-83, 2009.
50. Wang K, Zhang S, Marzolf B, *et al.* Circulating microRNAs, potential biomarkers for drug-induced liver injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences*; 106(11):4402-7, 2009.
51. Dirksen K, Verzijl T, van den Ingh TS, *et al.* Hepatocyte-derived microRNAs as sensitive serum biomarkers of hepatocellular injury in Labrador retrievers. *The Veterinary Journal*; 211:75-81, 2016.
52. Plebani M, Basso D. Non-invasive assessment of chronic liver and gastric diseases. *Clinica Chimica Acta*; 381(1):39-49, 2007.
53. Kanemoto H, Ohno K, Nakashima K, *et al.* Characterization of canine focal liver lesions with contrast-enhanced ultrasound using a novel contrast agent-sonazoid. *Veterinary Radiology and Ultrasound*; 50(2):188-94, 2009.
54. Lecoindre A, Lecoindre P, Chevallier M, *et al.* A new combination of blood parameters for accurate non-invasive diagnosis of liver fibrosis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*; 29:1197, 2016.

## COMPRAVENDITA DI ATTREZZATURE PROFESSIONALI VETERINARIE

**VET-EXCHANGE** è il servizio telematico, libero e gratuito riservato ai soli medici veterinari. Questo servizio ha l'unico scopo di consentire un più facile contatto tra soggetti interessati alla compravendita di attrezzature professionali veterinarie. **Non è consentito l'accesso alle aziende del settore.**

Il portale registra più di 20.000 visite mensili, con una media di 200 annunci al mese.

Per inserire la propria offerta o richiesta è necessaria la registrazione al servizio tramite un modulo on-line. Al ter-

mine della registrazione il sistema fornirà all'utente un codice che, insieme alla password, consentirà di accedere all'area riservata per modificare/integrare/cancellare la propria scheda prodotti e la scheda dati personale.

Le inserzioni permangono in rete per 90 giorni; alla scadenza di questo periodo vengono rimosse automaticamente.

Registrazione e condizioni d'uso dettagliate al sito:

**<http://www.vetexchange.it/>**



**VET-EXCHANGE**  
IL MERCATO ITALIANO DELLE ATTREZZATURE  
PROFESSIONALI VETERINARIE  
Servizio on-line dell'A.N.M.V.I.