

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

Alef Zagato de Araújo

**ELASTOGRAFIA EM SUSPEITA DE NEOPLASIA HEPÁTICA:
RELATO DE CASO CLÍNICO**

REALEZA

2022

Alef Zagato de Araújo

**ELASTOGRAFIA EM SUSPEITA DE NEOPLASIA HEPÁTICA:
RELATO DE CASO CLÍNICO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do grau
de bacharelado em Medicina Veterinária da
Universidade Federal da Fronteira Sul

Orientador: Prof. Dr. Gentil Ferreira Gonçalves

REALEZA

2022

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Araújo, Alef Zagato de
ELASTOGRAFIA EM SUSPEITA DE NEOPLASIA HEPÁTICA::
RELATO DE CASO CLÍNICO / Alef Zagato de Araújo. -- 2022.
35 f.:il.

Orientador: Dr Gentil Ferreira Gonçalves

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina Veterinária, Realeza, PR, 2022.

1. Elastografia hepática. I. Gonçalves, Gentil
Ferreira, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

ALEF ZAGATO DE ARAÚJO

**ELASTOGRAFIA EM SUSPEITA DE NEOPLASIA HEPÁTICA:
RELATO DE CASO CLÍNICO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado como requisito para obtenção do grau
de bacharelado em Medicina Veterinária da
Universidade Federal da Fronteira Sul

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

03/02/22.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Gentil Ferreira Gonçalves - UFFS
Orientador

Dra. Susana Regina de Mello Schlemper- UFFS
Avaliadora

Mestre Leonardo Gruchouskei- UFFS
Avaliador

Dra. Denise Maria Sousa de Mello- UFFS
Avaliadora

Dedico este trabalho à minha mãe Dulcilene Maria Zagato, e aos meus padrinhos, Doriani T. Zagato Antunes da Silva e Antônio Antunes da Silva, por nunca desistirem de mim e me incentivarem a tornar meu sonho realidade.

AGRADECIMENTOS:

Como ser humano, não é fácil estipular em números ou tabelas o quanto cada pessoa que cruzou o meu caminho influenciou a minha maneira de pensar e de ser. Por isso, posso dizer que não passo de um quebra-cabeça infinito e incompleto, cujas peças são fornecidas pelas mais diversas experiências trocadas e adquiridas ao longo desta jornada que chamo de vida. Gostaria de ter à disposição e de maneira imensurável, a moeda mais valiosa na vida de qualquer ser vivo que já pisou sobre a face do planeta Terra, o tempo. Porém, ainda que o tivesse, as palavras ou ainda os números não fariam jus ao sentimento vivido diante de cada momento compartilhado. E é desta maneira, singela e verdadeira, que venho agradecer a todos aqueles que um dia compartilharam a riqueza de vossas vidas comigo. Vocês vivem em mim, assim como eu vivo em vocês.

MUITO OBRIGADO!

"Aqueles que passam por nós, não vão sós.
Deixam um pouco de si, levam um pouco de
nós."

(Antoine de Saint-Exupéry, em O Pequeno Príncipe)

RESUMO:

A elastografia vem ganhando espaço no cenário nacional na área de diagnóstico por imagem em Medicina Veterinária. Essa técnica consiste na avaliação da elasticidade de um tecido orgânico através da medição da velocidade de propagação de ondas sonoras pelo tecido. Cada tecido do corpo possui uma elasticidade específica e alterações nessa elasticidade podem ser um indicador de alguma enfermidade. O objetivo deste relato de caso é apresentar o uso e o benefício da técnica de elastografia para diagnóstico de uma suspeita de neoplasia hepática em um cão de oito anos de idade, que foi trazido a um hospital veterinário universitário, apresentando aumento de volume abdominal e êmese de cor esverdeada. Foi realizada punção abdominal com a observação de líquido sanguinolento que foi coletado e enviado para análise laboratorial. O paciente foi levado para a realização de ultrassonografia e elastografia, onde foi relatado que o parênquima hepático em região do lobo hepático medial direito indicava áreas heterogêneas à compressão, demonstrando densidade diferentes com relações de tensão, sugerindo perda de resistência à compressão, indicando menor densidade tecidual, quando comparado ao regular, sendo então, interpretadas como indicativos de neoplasia hepática e esplênica. Tendo isso em mente, conclui-se que o uso da técnica de elastografia na medicina veterinária, que apesar de não ser totalmente difundida, tem se demonstrado promissora como uma importante técnica de diagnóstico por imagem, podendo ser um indicativo e/ou complemento à biópsia em alguns casos.

Palavras-chave: tumor; ultrassom; elasticidade; densidade.

ABSTRACT:

Despite being a relatively new technique and little known in Brazil, elastography has been gaining space on the national scene in the field of diagnostic imaging in Veterinary Medicine. This technique consists of evaluating the elasticity of an organic tissue by measuring the speed of propagation of sound waves through the tissue. Each tissue in the body, whether human or not, has a specific elasticity and changes in this elasticity can be an indicator of a disease. The aim of this case report is to report the use and benefit of the elastography technique for diagnosing a suspected liver neoplasm in an 8-year-old dog, which was brought to the Superintendence of the University Hospital Veterinary Unit of the Universidade Federal da Fronteira Sul, showing increased abdominal volume and greenish emesis. Abdominal puncture was performed with the observation of bloody fluid, which was sent for laboratory analysis. The patient was taken for elastography, where it was reported that the liver parenchyma in the right medial hepatic lobe region indicated heterogeneous areas to compression, demonstrating different density with tension ratios, suggesting loss of resistance to compression, indicating lower tissue density, when compared to regular, being then interpreted as indicative of hepatic and splenic neoplasia. With this in mind, it is concluded that the use of the elastography technique in veterinary medicine, which despite not being fully widespread, has shown promise as an important diagnostic imaging technique, and may be an indication and/or complement to biopsy in some cases.

Keywords: Tumor, Ultrasound, Elasticity, Density.

LISTA DE IMAGENS

Imagem 1 - Imagem fotográfica de conteúdo obtido por abdominocentese em paciente canino, macho, SRD, 8 anos, 16Kg, com sinais físicos de distensão abdominal e êmese.;;;.....	19
Tabela 1 - Resultados do exames laboratoriais do hemograma e bioquímica sérica do paciente.....	21
Imagem 2 - Ultrassonografia de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.....	22
Imagem 3 - Ultrassonografia de lobo hepático lateral esquerdo de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.....	23
Imagem 4 - Ultrassonografia de lobo hepático lateral esquerdo de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.....	23
Imagem 5 - Ultrassonografia de lobo hepático lateral direito de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.....	24
Imagem 6 - Ultrassonografia em corte sagital de fígado de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a	

abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.....25

Imagem 7 - Ultrassonografia em corte sagital de lobo hepático lateral direito de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.....25

Imagem 8 - Ultrassonografia em corte transversal de baço em paciente com abaulamento abdominal e histórico de êmese esverdeada. Baço em topografia usual, volume regular, cápsula hiperecótica, parênquima regular com ecogenicidade e ecotextura regulares em sua maior parte, área com nodulação encapsulada com ecogenicidade mista e ecotextura heterogênea, volume 7,03 x 6,6 cm.....26

Imagem 9 - Ultrassonografia em corte transversal de baço em paciente com abaulamento abdominal e histórico de êmese esverdeada. Baço em topografia usual, volume regular, cápsula hiperecótica, parênquima regular com ecogenicidade e ecotextura regulares em sua maior parte, área com nodulação encapsulada com ecogenicidade mista e ecotextura heterogênea, volume 7,03 x 6,6 cm.....26

Imagem 10 - Imagem ultrassonográfica e elastográfica do lobo hepático medial direito de paciente com abaulamento abdominal e com histórico de êmese esverdeada. O contraste das cores azul e verde indicam áreas heterogêneas à compressão, demonstrando densidade diferentes com relações de tensão variando de 0,38, 0,48 e 0,54 em relação ao padrão adotado (parênquima mais rígido no entorno). Sugerindo perda de resistência à compressão, indicando menor densidade tecidual.....27

Imagem 11 - Imagem ultrassonográfica e elastográfica do lobo hepático medial direito de paciente com abaulamento abdominal e com histórico de êmese esverdeada. O contraste das cores azul e verde indicam áreas heterogêneas à compressão, demonstrando densidade diferentes com relações de tensão variando

de 0,38, 0,48 e 0,54 em relação ao padrão adotado (parênquima mais rígido no entorno). Sugerindo perda de resistência à compressão, indicando menor densidade tecidual.....27

Imagem 12 - Imagem ultrassonográfica e elastográfica do lobo hepático medial direito de paciente com abaulamento abdominal e com histórico de êmese esverdeada. O contraste das cores azul e verde indicam áreas heterogêneas à compressão, demonstrando densidade diferentes com relações de tensão variando de 0,38, 0,48 e 0,54 em relação ao padrão adotado (parênquima mais rígido no entorno). Sugerindo perda de resistência à compressão, indicando menor densidade tecidual.....28

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanina aminotransferase
BID	<i>bis in die</i> - duas vezes por dia
BPM	Batimentos por minuto
CHGM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
FA	Fosfatase alcalina
MPM	Movimentos por minuto
PPT	Proteínas plasmáticas totais
RADAR	<i>Radio Detection and Ranging</i>
RDW	Amplitude de distribuição dos eritrócitos
ROI	<i>Region of interest</i> - Região de interesse
SAMe	S-Adenosil-L-Metionina
SONAR	<i>Sound Navigation and Ranging</i>
SWE	Elastografia Shear Wave
TID	<i>ter in die</i> - três vezes ao dia
TPC	Tempo de preenchimento capilar
TE	Elastografia transitória
VGM	Volume globular médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO:	15
2 DESCRIÇÃO DO CASO CLÍNICO:	18
3 DISCUSSÃO	29
4 CONCLUSÃO:	33
REFERÊNCIAS:	35

1 INTRODUÇÃO

O som tem definição descrita como sendo o resultado da vibração das moléculas presentes nos materiais, provocando então uma onda mecânica e longitudinal. Essa onda se propaga no ambiente de maneira circuncêntrica, ou seja, em todas as direções, tanto em meios sólidos, líquidos e até mesmo gasosos (SEOANE; GARCIA; FROST, 2011).

Para que o som de fato exista, ele precisa de um ambiente para ser propagado, ou seja, precisa de moléculas que transmitam a energia mecânica de suas vibrações uma para as outras, realizando assim a propagação das chamadas ondas sonoras. A velocidade da transmissão das vibrações depende da proximidade das moléculas entre si, por exemplo, em um ambiente gasoso as moléculas estão dispersas e agitadas, já em um ambiente líquido as moléculas estão mais próximas umas das outras, razão pela qual a velocidade do som em meio líquido é maior quando comparada com um meio gasoso. Isso também é válido para meios sólidos quando comparados a ambientes líquidos e gasosos, ou seja, por ter as moléculas intimamente ligadas umas às outras o meio sólido acaba por ser um meio de propagação do som mais rápido quando comparado aos outros ambientes (WOO, 2006).

Já o eco, pertencente ao âmbito da acústica, se trata de uma reflexão do som, uma reverberação múltipla das ondas sonoras que provoca um retorno sonoro, ou seja, é o som que chega ao ouvinte pouco tempo depois da emissão do som inicial. Quando um estímulo é gerado, causa vibrações das moléculas adjacentes, que se propagarão até que toda sua energia mecânica seja completamente dispersada. Até lá, quando as ondas sonoras encontram algum tipo de obstáculo que impeça sua propagação livre pelo ambiente, seja ela uma árvore ou uma parede, por exemplo, esse obstáculo reflete essas vibrações, fazendo com que essas ondas sonoras retornem, ocasionando então o eco (SEOANE; GARCIA; FROST, 2011; BRAY, 1998).

Existem alguns animais na natureza que se utilizam desse fenômeno da física. O morcego é um excelente exemplo, pois se beneficia desta técnica acústica como um instrumento de orientação, seja para o voo, para obtenção de alimento ou

até mesmo para reconhecimento geográfico de um local. No ano de 1793, o italiano, sacerdote católico, fisiologista e biólogo Lazzaro Spallanzani realizou as primeiras observações registradas sobre os morcegos, seu sistema sonar e sua ecolocalização. Ele observou que mesmo quando impedidos de usar o sentido da visão, os morcegos eram capazes de se desviar de árvores entre outros obstáculos, bem como eram capazes de apanhar suas presas no ar. Porém, quando foram impedidos de ouvir, mesmo com a visão conservada, eles perdiam por completo a sua capacidade de orientação em voo (WOO, 2006).

A utilização das propriedades físicas das ondas sonoras já é utilizada para benefício da raça humana há algum tempo, desde a década de 1910, durante a Primeira Guerra Mundial, onde os tripulantes de submarinos utilizavam a geração de sons de baixa frequência com o mesmo princípio que os morcegos, porém, com objetivos diferentes, neste caso, o de localizar *icebergs* (SEOANE; GARCIA; FROST, 2011). Porém, o concebimento do ultrassom é considerado por muitos historiadores e cientistas em 1877, pelos irmãos Curie, ao descobrir um efeito chamado de piezoeletrico, que consiste da aplicação de uma pressão mecânica sobre uma superfície de cristais específicos, capazes de gerar um potencial elétrico entre as superfícies opostas, produzindo desta maneira uma frequência superior a 20KHz, conhecida como ultrassom. Os irmãos Curie também notaram que a aplicação do ultrassom nos cristais gerava uma conversão de energia mecânica em eletricidade e quando um pulso ultrassonográfico era aplicado a uma substância, parte desse pulso era refletido de volta a sua fonte com informações sobre o tipo de estrutura que afetou (WOO, 2006).

Santos e Amaral (2012) relata que com a continuidade dos estudos e empregabilidade da técnica das ondas sonoras para navegação, relata que houve um aprimoramento de sua utilidade durante o período da Segunda Guerra Mundial (1914-1918) com o desenvolvimento do *Sound Navigation and Ranging* (SONAR) que era utilizado não só para a navegação, mas para a detecção de distâncias pelo som. Já o *Radio Detection and Ranging* (RADAR), consistia do uso do eco das ondas de rádio para poder determinar a distância e localização de objetos no ar. E segundo Desch (1946), foi durante esse período que se desenvolveram 15 dos ultrassons para fins não-militares, que foram usados principalmente na metalurgia. E

foram esses, segundo Santos e Amaral, (2012), os precursores dos aparelhos de ultrassonografia que seriam utilizados na medicina. Na medicina, a utilização dos ultrassons deu-se para fins terapêuticos, em várias áreas, sendo utilizados para tratamentos de artrite reumatoide até mesmo para tentativas de remissão da Doença de Parkinson em neurocirurgia (HOLMES, 1955;).

Devido ao avanço e melhoramento técnico e científico dos equipamentos e das técnicas para avaliação e diagnóstico por imagem, a área de imagenologia tem crescido substancialmente nos últimos anos, não só na medicina humana como também na medicina veterinária (ZAMBIASSI; MACIEL, 2016). É inegável o benefício que o uso de diversas áreas da imagenologia, tais como: ultrassonografia, radiologia e ressonância magnética trouxeram para a população em geral, através do fornecimento de um modo de avaliação médica para a obtenção de um diagnóstico cada vez mais preciso, seguro e até mesmo indolor (HUÉRFANO et al., 2016).

Dentre as técnicas utilizadas para a avaliação e diagnóstico, uma em especial vem ganhando destaque ao longo dos anos, a chamada elastografia. Foi apresentada pela primeira vez em literatura médica no ano de 2003, e conseguiu proporcionar uma avaliação morfológica do parênquima do fígado, informando sobre a elasticidade dos tecidos e dessa maneira, informar sobre a fase da doença. A técnica da elastografia consiste em avaliar a rigidez de tecidos através da medição de sua densidade, ao emitir estímulos ultra sonoros que serão captados e calculada então a velocidade com que essas ondas ultra sonoras atravessam o tecido, e após identificada a velocidade da propagação será possível definir se o tecido está mais rígido ou mais mole. Existem diversos tipos de técnicas de elastografia, podendo variar de acordo com o tipo, fonte, tempo de deformação, modalidade da imagem e volume avaliado, porém, as que se encontram nas clínicas veterinárias do país são a elastografia transitória (TE) e as técnicas de cisalhamento ou Shear Wave (SWE) que são incorporadas em aparelhos de ultrassons tradicionais, método este pioneiro na inclusão de um *software* acoplado ao aparelho de ultrassom tradicional para a realização da elastografia. A imagem é projetada na tela, ou seja, possibilita a visualização do órgão e a escolha de uma região de interesse (ROI) para a obtenção da velocidade das ondas de cisalhamento. A ROI é mostrada então em uma caixa

de tamanho 10 x 6 mm, e são emitidos através do transdutor pulsos acústicos de curta duração na ROI escolhida pelo operador.

Neste relato de caso foi usado a técnica de compressão no tecido, que demonstra a rigidez tecidual, descrita como a mudança do comprimento da lesão durante a compressão dividida pelo comprimento antes da compressão. Nesta técnica, conforme descrita por Junior et al (2020), aplica-se uma força manual contínua e uniforme de compressão e descompressão com o transdutor em uma área de interesse, e será monitorada a deformação tecidual. As ondas feitas pré e pós- compressão são então comparadas e as variações de deformação são exibidas em um elastograma, que é um mapa de cor sobreposto ao modo B, onde áreas de baixa compressão denotam um tecido rígido e áreas compressíveis de tecidos macias. São feitas então uma escala de cores previamente produzidas que representarão a rigidez ou maciez do tecido.

2 DESCRIÇÃO DO CASO CLÍNICO

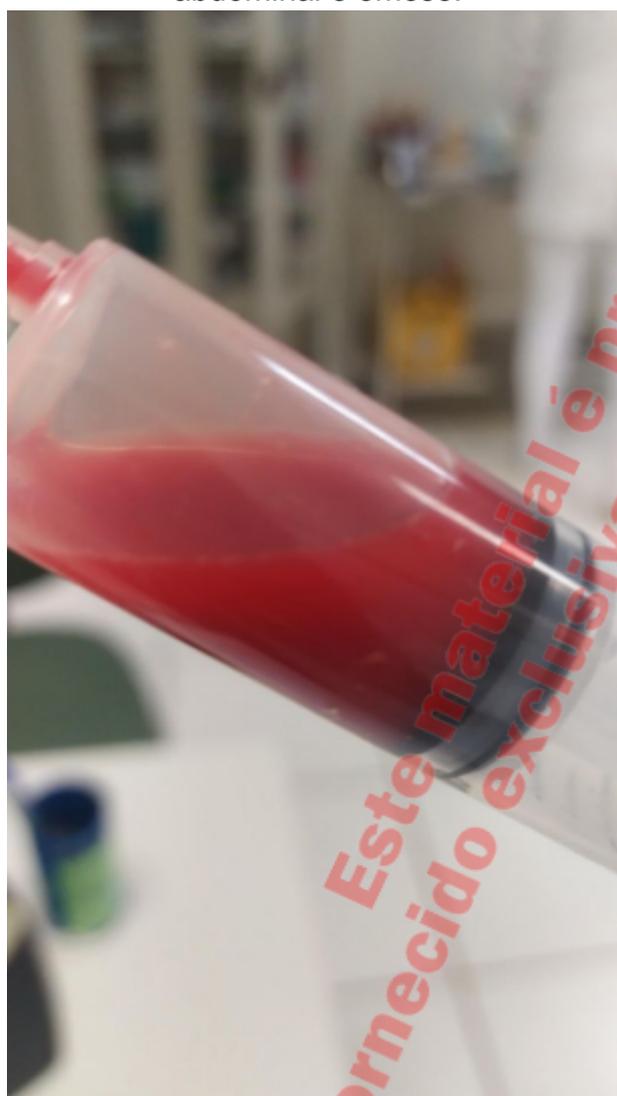
Foi apresentado para atendimento em um hospital veterinário Universitário um paciente canino, SRD, macho, não castrado, com 8 anos de idade, pesando 16 quilos. Foi relatado pelo tutor que o paciente vinha apresentando aumento de volume abdominal por cerca de 12 dias, e que durante nos últimos 4 dias vomitava várias vezes ao dia, sendo o vômito de cor esverdeada, essas informações constituíram a queixa principal do tutor.

Na anamnese o tutor relatou que o paciente se apresentava mais ofegante ultimamente e quando latia o som era rouco, vinha demonstrando redução do apetite, e apesar de comer pouco, regurgitava quando comia. O responsável pelo paciente alegou que o mesmo estaria com as vacinas em dia e sua última vermifugação teria sido há cerca de 6 meses, e que sua alimentação era constituída ora de carne crua, ora de carne assada, bem como ração ou ainda comida caseira. O proprietário ainda alegou estar medicando o paciente por conta própria com Cefalexina 17 mg/Kg BID.

Ao exame físico, o paciente apresentou temperatura corporal de 38,7°C, frequência cardíaca de 180 bpm com auscultação normofonética, frequência

respiratória de 44 mpm, TPC de 2 segundos, e uma hidratação de cerca de 95%. Suas mucosas mostraram-se hipocoradas, e não foram encontrados linfonodos reativos, seu escore corporal foi avaliado em 5 (em uma escala de 1-9), e foram encontrados ectoparasitas pelo seu corpo (*Ctenocephalides spp*). Seu abdome estava abaulado e o paciente demonstrava incômodo à palpação, com isso, foi realizada abdominocentese que obteve líquido sanguinolento (Imagem 1), foi feita uma coleta de sangue para a realização do hemograma e exame bioquímico (albumina, ALT/TGP, creatinina, fosfatase alcalina (FA) e ureia) e foi fornecida uma dose injetável de maropitant 0,5 mg/Kg e agendado um retorno para o dia seguinte para acompanhamento e continuação dos exames.

Imagem 1: Imagem fotográfica de conteúdo obtido por abdominocentese em paciente canino, macho, SRD, 8 anos, 16Kg, com sinais físicos de distensão abdominal e êmese.



Fonte: Adaptada da ficha do paciente (2021).

Após a coleta sanguínea do paciente, a amostra foi encaminhada para o laboratório da própria universidade para a realização do hemograma e testes bioquímicos de albumina, ALT/TGP, creatinina, FA e ureia. O resultado dos exames supracitados está exposto na Tabela 1:

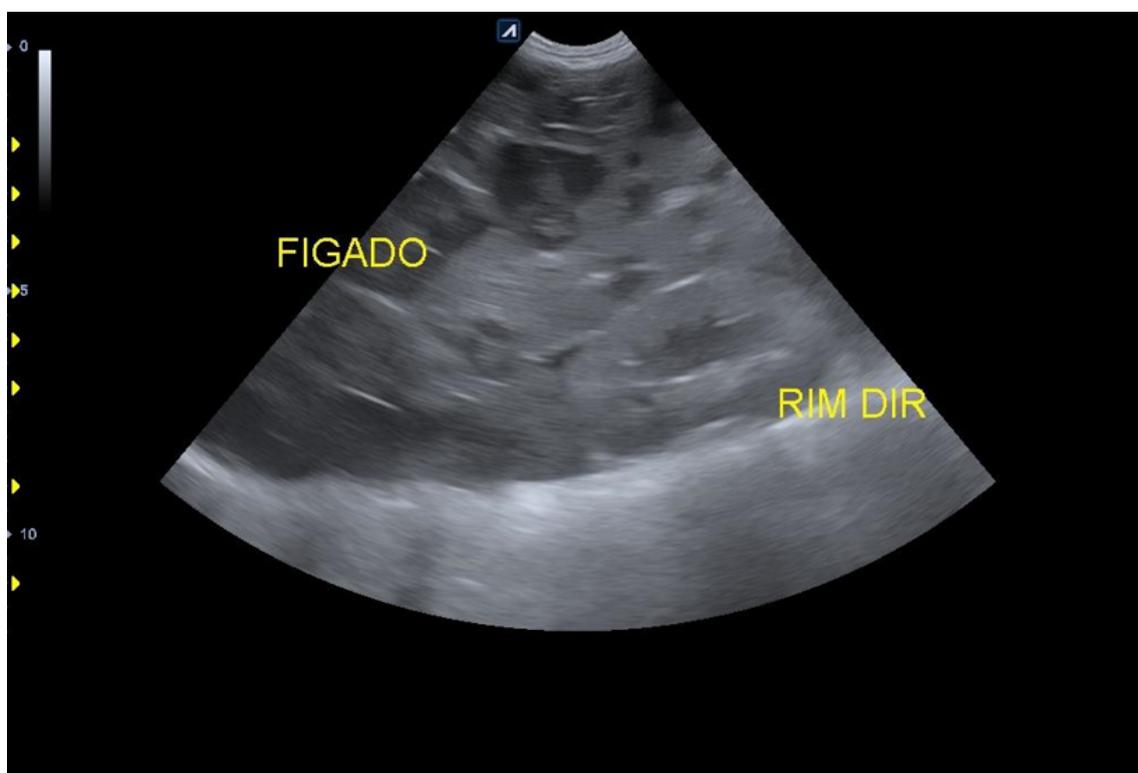
Tabela 1 - Resultados do exames laboratoriais do hemograma e bioquímica sérica do paciente.

Hemograma	Resultados	Valores de Referência
Hemácias	3,52 / μ L	5,5 a 8,5 x 1.000.000
Hemoglobina	8,5 g/dL	12,0 a 18,0
Hematócrito	25 %	37 a 55
V.G.M	69,60 fL	60 a 77
C.H.G.M	34,53 g/dL	32 a 36
R.D.W	14,1 %	10 a 15
P.P.T	6,0 g/dL	6,0 a 8,0
Plaquetas	490.000 / μ L	200.000 a 500.000
Leucócitos	16.200 / μ L	6.000 a 17.000
Mielócitos	0 %	0 a 0
Metamielócitos	0 %	0 a 0
Bastonetes	7%	0 a 3
Segmentados	74 %	60 a 77
Eosinófilos	0 %	2 a 10
Monócitos	6 %	3 a 10
Linfócitos	20 %	12 a 30
Albumina	2,42 g/dL	2,6 a 4,0
ALT/TGP - Alanina Aminotransferase	502 U/L	10 a 88
Creatinina	1,0 mg/dL	0,5 a 1,5
FA - Fosfatase Alcalina	3.510 U/L	20 a 150
Ureia	97 mg/dL	15 a 65

Fonte: Adaptado pelo autor (2022).

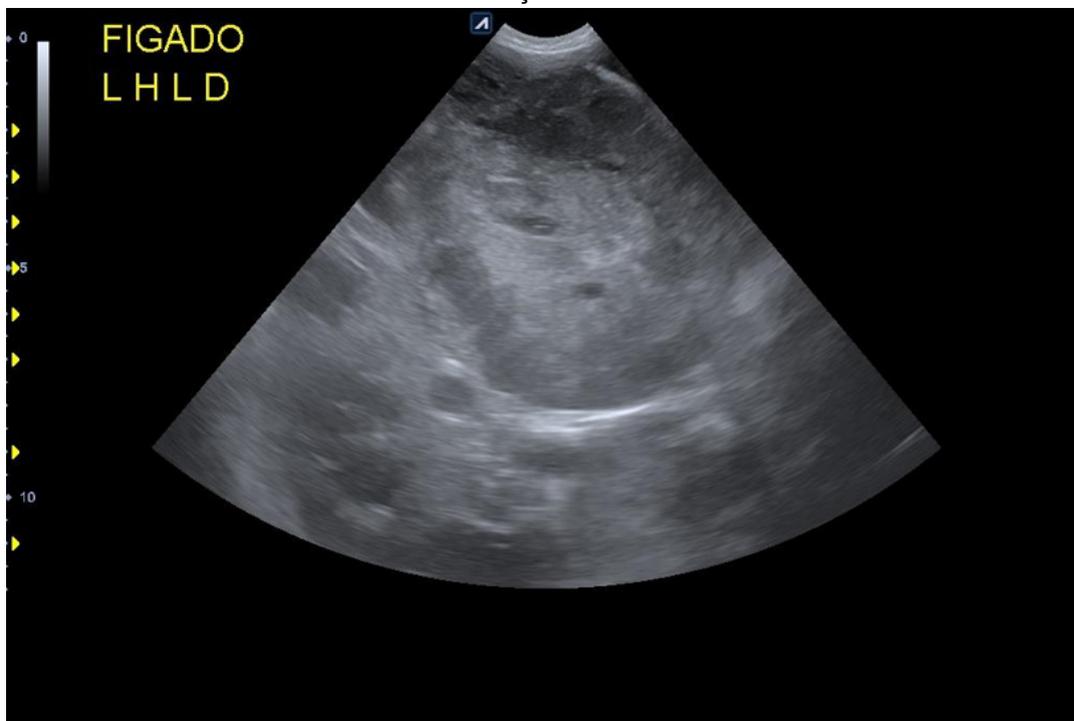
O tutor retornou no dia seguinte relatando que o paciente estava mais disposto, que havia se alimentado, bebido água e não havia defecado, porém, não sabia dizer se o mesmo havia urinado. O paciente voltou apresentando os membros pélvicos edemaciados. Foi solicitado a realização de exames ultrassonográficos abdominais simples (Imagens de 2 a 9), utilizou-se também a técnica da elastografia (Imagens 10 a 12) .

Imagem 2: Ultrassonografia de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.



Fonte: Imagens sediv/SUHVU/UFFS/2021

Imagem 3: Ultrassonografia de lobo hepático lateral direito de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.



Fonte: Imagens sediv/SUHVU/UFFS/2021

Imagem 4: Ultrassonografia de lobo hepático lateral esquerdo de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.



Fonte: Imagens Sediv/SUHVU/UFFS/2021

Imagem 5: Ultrassonografia de lobo hepático lateral direito de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.



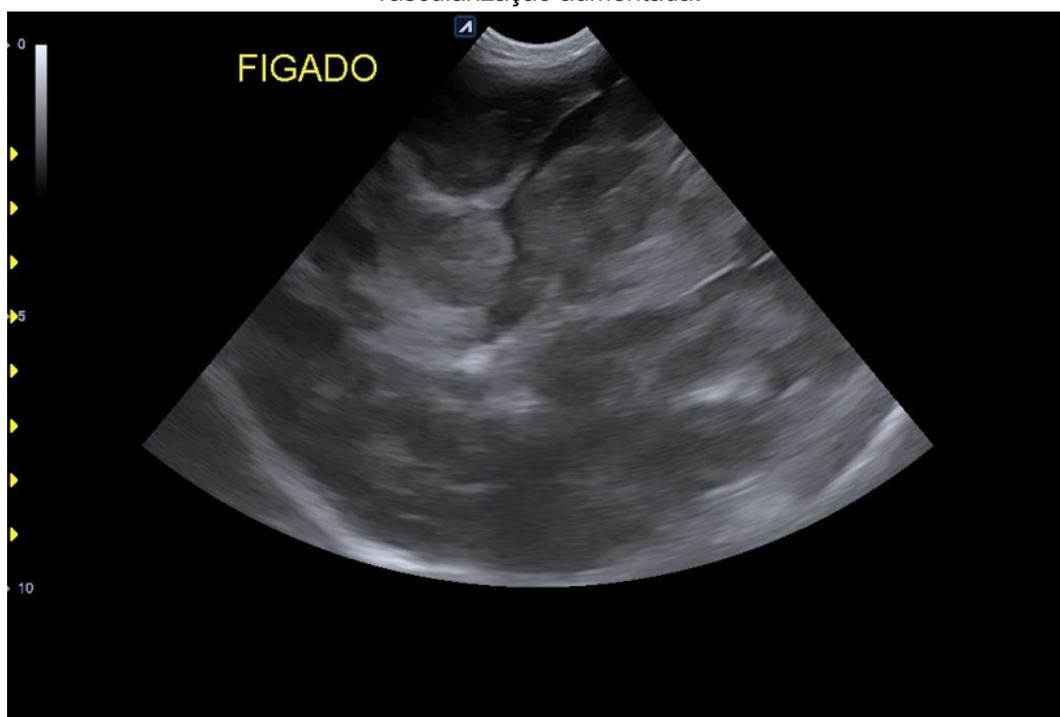
Fonte: Imagens Sediv/SUHVU/UFS/2021

Imagem 6: Ultrassonografia em corte sagital de fígado de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.



Fonte: Imagens Sediv/SUHVU/UFFS/2021

Imagem 7: Ultrassonografia em corte sagital de lobo hepático lateral direito de paciente com abaulamento abdominal, com histórico de êmese esverdeada. Ao realizar a abdominocentese foi observado líquido sanguinolento. Fígado em topografia usual, volume aumentado, parênquima com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea irregular em todo o parênquima e vascularização aumentada.



Fonte: Imagens Sediv/SUHVU/UFFS/2021

Imagem 8: Ultrassonografia em corte transversal de baço em paciente com abaulamento abdominal e histórico de êmese esverdeada. Baço em topografia usual, volume regular, cápsula hiperecótica, parênquima regular com ecogenicidade e ecotextura regulares em sua maior parte, área com nodulação encapsulada com ecogenicidade mista e ecotextura heterogênea, volume 7,03 x 6,6 cm.



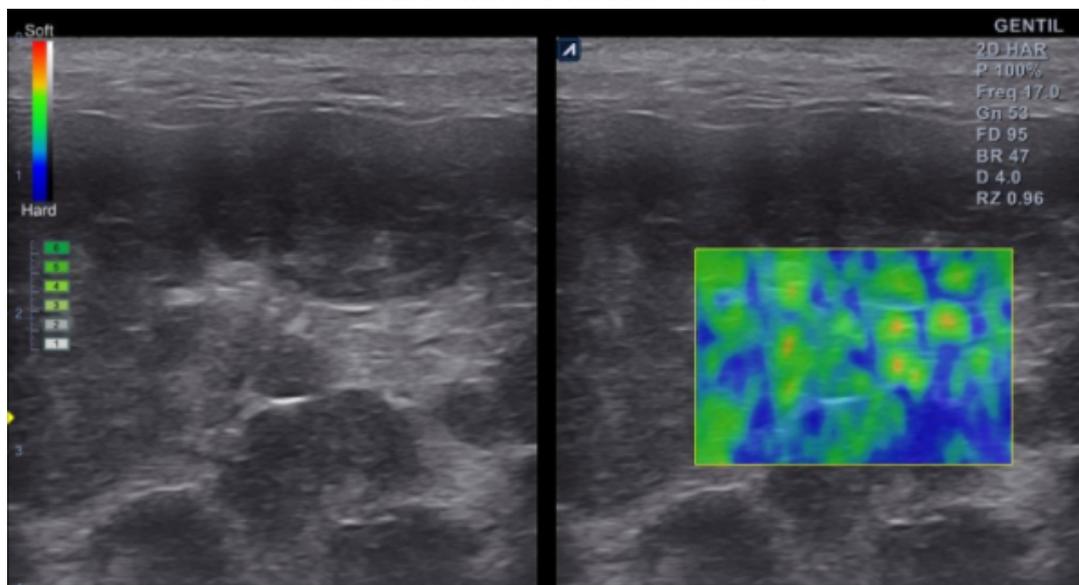
Fonte: Imagens Sediv/SUHVU/UFFS/2021

Imagem 9: Ultrassonografia em corte transversal de baço em paciente com abaulamento abdominal e histórico de êmese esverdeada. Baço em topografia usual, volume regular, cápsula hiperecótica, parênquima regular com ecogenicidade e ecotextura regulares em sua maior parte, área com nodulação encapsulada com ecogenicidade mista e ecotextura heterogênea, volume 7,03 x 6,6 cm.



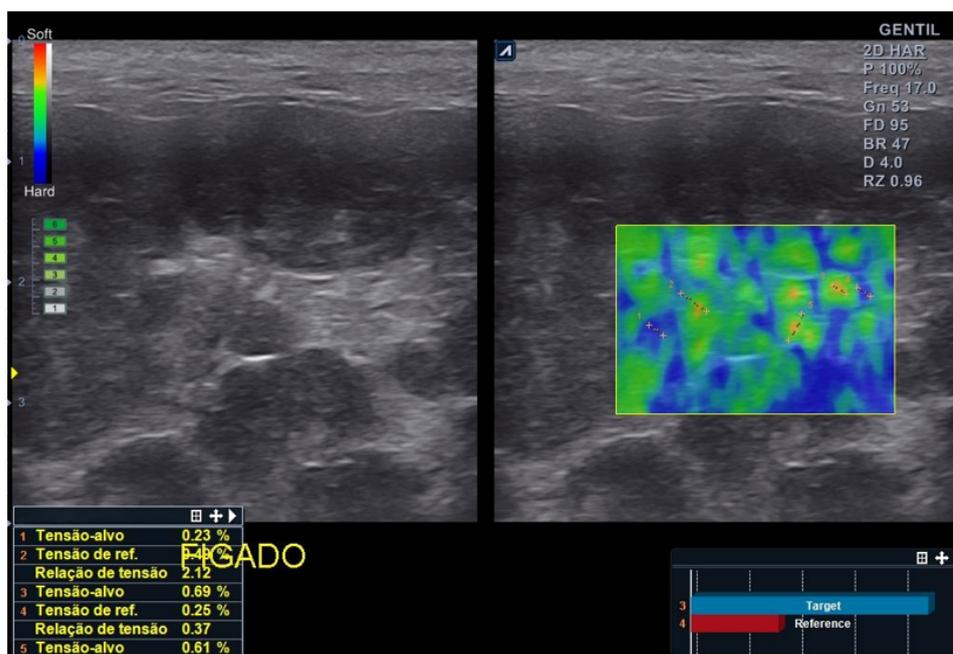
Fonte: Imagens Sediv/SUHVU/UFFS/2021

Imagem 10: Imagem ultrassonográfica e elastográfica do lobo hepático medial direito de paciente com abaulamento abdominal e com histórico de êmese esverdeada. O contraste das cores azul e verde indicam áreas heterogêneas à compressão, demonstrando densidade diferentes com relações de tensão variando de 0,38, 0,48 e 0,54 em relação ao padrão adotado (parênquima mais rígido no entorno). Sugerindo perda de resistência à compressão, indicando menor densidade tecidual.



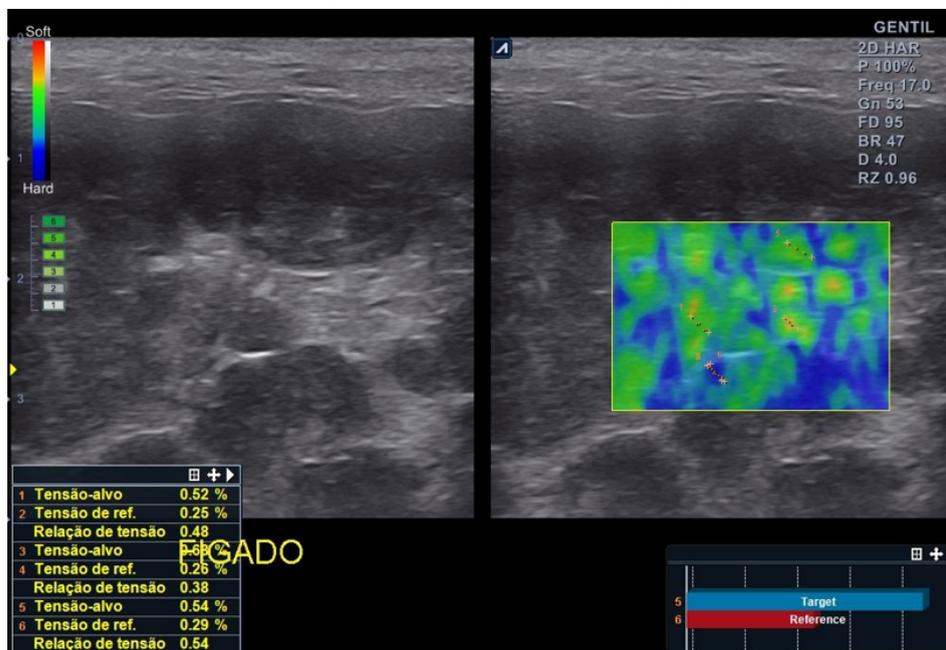
Fonte: Imagens Sediv/SUHVU/UFFS/2021

Imagem 11: Imagem ultrassonográfica e elastográfica do lobo hepático medial direito de paciente com abaulamento abdominal e com histórico de êmese esverdeada. O contraste das cores azul e verde indicam áreas heterogêneas à compressão, demonstrando densidade diferentes com relações de tensão variando de 0,38, 0,48 e 0,54 em relação ao padrão adotado (parênquima mais rígido no entorno). Sugerindo perda de resistência à compressão, indicando menor densidade tecidual.



Fonte: Imagens Sediv/SUHVU/UFFS/2021

Imagem 12: Imagem ultrassonográfica e elastográfica do lobo hepático medial direito de paciente com abaulamento abdominal e com histórico de êmese esverdeada. O contraste das cores azul e verde indicam áreas heterogêneas à compressão, demonstrando densidade diferentes com relações de tensão variando de 0,38, 0,48 e 0,54 em relação ao padrão adotado (parênquima mais rígido no entorno). Sugerindo perda de resistência à compressão, indicando menor densidade tecidual.



Fonte: Imagens Sediv/SUHVU/UFFS/2021

O fígado estava com topografia usual, porém, com volume aumentado, o parênquima hepático aparecia com granulação grosseira por todo o órgão, ecogenicidade heterogênea e irregular por todo o parênquima e com vascularização aumentada. Com foco no baço (Imagens 8 e 9), sua topografia também estava em sua forma usual, com sua cápsula hiperecótica e parênquima regular com ecogenicidade e ecotextura regular pela sua maior parte, porém, apresentou área com nodulação encapsulada de ecogenicidade mista e ecotextura heterogênea com volume de 7,03 x 6,6 cm.

Já os exames de elastografia hepática são demonstrados por meio das Imagens 10 a 12, nas quais se observa as representações coloridas que demonstram a variação de densidade no tecido hepático diante de diferentes tensões. Onde a cor vermelha representa uma densidade leve, ou seja, um tecido menos denso, evoluindo para cores mais frias, sendo o azul a cor representativa de um tecido mais denso. Nas Imagens 11 e 12 é demonstrada uma relação entre as cores que apontam a diferença entre as tensões feitas no parênquima hepático. Na elastografia do parênquima hepático em região de lobo hepático medial direito são

observadas áreas heterogêneas à compressão, demonstrando densidades diferentes com relações de tensão variando desde 0,38, 0,48 até 0,54 em relação ao padrão adotado (parênquima mais rígido no entorno). Isto sugere perda de resistência à compressão, indicando menor densidade tecidual, quando comparado ao regular.

Portanto, partindo da visualização das imagens ultrassonográficas, bem como dos resultados das diferentes tensões teciduais visualizadas através dos exames elastográficos, foi estipulado o diagnóstico presuntivo de neoplasia esplênica e hepática para o paciente. Após a realização dos exames ultrassonográficos foi prescrito o tratamento dos sinais clínicos apresentados. A receita era composta de: Piroxicam 0.2mg/Kg (via oral, 1 cápsula a cada 2 dias por 30 dias), Complexo B 2mg/Kg (via oral, 1 comprimido, BID, por 30 dias), Tramadol 6 mg/Kg (via oral, 1/2 comprimido, BID, por 7 dias), Silimarina 12 mg/Kg (via oral, 5 ml, TID, por 30 dias), Furosemida 2,5 mg/Kg (via oral, 1 comprimido, BID, por 20 dias), SAMe 15 mg/Kg [S-Adenosil, L-Metionina(via oral, 1 cápsula, BID, por 30 dias)]. Na receita ainda foi orientado ao tutor que fornecesse ração *premium* ao animal e que não adicionasse sódio na mesma. O tutor disse que iria providenciar tudo e continuar o tratamento em casa, sendo então agendado em retorno para uma consulta oncológica, porém, o paciente não retornou, dando impossibilidade à continuidade do tratamento.

3 DISCUSSÃO

Os valores de hemácias, hemoglobina, hematócrito e albumina do paciente se demonstraram bem abaixo dos valores de referência adotados por Kaneko, Harvey e Bruss (2008), e em contrapartida, os valores de ALT e FA se demonstraram muito acima dos valores estabelecidos como aceitáveis pelos mesmos autores. Segundo Kwo (2017), a ALT, é uma enzima envolvida na transferência de grupos amino e é um importante marcador de lesão hepática, sua elevação sugere lesão hepatocelular. Já Watson e Bunch (2009), alegaram que a FA, se trata de uma enzima de indução ligada às membranas, e que quando rompidas essas membranas elas são liberadas para a corrente sanguínea, sendo capaz de fornecer importantes informações quanto ao perfil hepático. Segundo Gonzales e Silva (2006), por conta

da maior parte da FA sérica ser de origem hepática, ela é um marcador muito importante na avaliação de saúde do fígado.

O paciente apresentava um aumento de volume abdominal com líquido sanguinolento, e segundo Schinoni (2008) isso pode ser explicado, pois o fígado por produzir moléculas fibrinolíticas e várias citocinas que participam nos processos de homeostase, é tido como principal órgão regulador da hemostasia. Conner (2017), tratando da hipoalbuminemia, disse que além da função básica nutricional da albumina, ela exerce uma importante função na manutenção do volume plasmático. Carlos e De Sousa Freitas (2007) relataram que a quebra do equilíbrio homeostático, por qualquer motivo que seja, pode acarretar um extravasamento do plasma sanguíneo, ocorrendo um acúmulo do líquido na cavidade abdominal.

O paciente trazido neste relato de caso apresentou alguns dos sinais clínicos descritos na literatura por Schinoni (2008), como por exemplo, distensão abdominal, que somados com os resultados dos exames laboratoriais, relatados pelos autores Watson e Bunch (2009) e Gonzales e Silva (2006), sobre os níveis séricos de ALT-TGP, albumina e FA (expostos na Tabela 1), direcionaram o profissional veterinário a uma suspeita de acometimento hepático, buscando auxílio em exames de imagem como ultrassom e elastografia.

Nos exames de ultrassonografia abdominal do paciente, as Imagens demonstraram fígado com volume aumentado, o parênquima hepático apresentava granulação grosseira por todo o órgão, acompanhado de uma ecogenicidade heterogênea irregular por todo o parênquima, com vascularização aumentada, conforme demonstrado nas Imagens 2 a 7. Enquanto Hammer e Sikkema (1995) afirmaram que o carcinoma hepatocelular é a neoplasia maligna hepática primária mais comum em cães nos EUA, e podem aparecer como lesões hipoecóicas multifocais, cavitação focal ou ainda como ecogenicidade mista difusa por todo o parênquima hepático, Johnson (2000) revalidou ao citar que não só o carcinoma hepatocelular mas também o colangiocarcinoma podem aparecer nos exames ultrassonográficos sob a forma de massas solitárias, lesões multifocais nodulares, ou infiltração difusa em grandes porções do parênquima. Figueira et al., (2008) relatou em seu estudo na área sul do Brasil, mais especificamente, região central do Rio Grande do Sul que a neoplasia primária mais encontrada em cães que foram feitas

necropsias era a colangiocarcinoma, Flores et al., (2013) ainda afirma que na região central do RS, essa neoplasia se apresenta em 8,5% dos casos de câncer em cães. E quando comparada com carcinomas hepatocelulares apresenta uma proporção de 80% para 20%, ou seja, quatro vezes maior. Entretanto, segundo Froes (2004), em uma imagem ultrassonográfica característica de um fígado acometido por colangiocarcinoma hepático seria possível a visualização de áreas cavitárias complexas com septações internas, ou ainda, lesões em aspecto 'alvo'. Contudo, o mesmo autor salientou que não é possível caracterizar o tipo histológico de uma neoplasia hepática somente pelo exame ultrassonográfico, fazendo da realização de uma biópsia hepática um exame imprescindível para a obtenção do diagnóstico definitivo. De acordo com Hammer e Sikkema (1995), as lesões são descritas baseadas na sua distribuição e ecogenicidade, podendo a distribuição ser focal, multifocal ou difusa. As lesões focais ou multifocais podem ser hiperecóticas, hipoecóticas, mistas (hiperecóticas e hipoecóticas) ou lesões "alvo", que são áreas hiperecóticas circundadas por regiões hipoecóticas. Lesões neoplásicas hepáticas difusas em sua maioria aparecem como uma alteração hipoecoica geral. Portanto, conforme demonstrado nas Imagens 2 a 7, o fígado estava com volume aumentado, seu parênquima apresentava granulação grosseira por todo o órgão, acompanhado de uma ecogenicidade heterogênea irregular, podendo ser compatível com uma lesão do tipo difusa.

Já as Imagens ultrassonográficas obtidas do baço do paciente mostraram o órgão em topografia usual, volume regular, cápsula hiperecótica, parênquima regular com ecogenicidade e ecotextura regulares em sua maior parte, porém, foi encontrada uma área com nodulação encapsulada com ecogenicidade mista e ecotextura heterogênea, conforme exposto nas Imagens 8 e 9. Segundo um estudo realizado por Froes (2004) feito com 114 cães, 12 foram diagnosticados com alterações ultrassonográficas relacionadas a tumores hepáticos, sendo que 11 foram diagnosticados como neoplasias malignas, e cerca de 50% diagnosticados como colangiocarcinoma. Em todos os animais com esse diagnóstico foram observados líquido livre abdominal e nódulos hipoecóticos no baço.

Nas Imagens de elastografia do paciente (Imagens 10 a 12), foi observado que o parênquima hepático em região de lobo hepático medial direito apresentava

áreas heterogêneas a compressão, demonstrando diferentes densidades com relações de tensão variando de 0,38; 0,48 e 0,54 em relação ao padrão adotado (parênquima mais rígido no entorno), sugerindo perda de resistência a compressão, indicando menor densidade tecidual, quando comparado ao regular. Segundo Silva et al (2019), a esteatose hepática que acontece pelo acúmulo de lipídios nos hepatócitos, pode evoluir com fibrose hepática, cirrose e carcinoma hepatocelular, sendo que essas alteram a rigidez tecidual, sendo visualizada pela alteração de cor na elastografia e demonstrada pelas relações de tensões. As diferenças das tensões captadas pela elastografia ao examinar o paciente podem ser equiparadas com os achados por Silva et al (2019), onde um paciente com esteatose leve com sinais de hepatopatia apresentou contornos irregulares e um parênquima com ecogenicidade heterogênea. Os autores também salientaram a comparação entre as tensões das diferentes densidades de um mesmo tecido hepático, onde o paciente demonstrou maior rigidez do parênquima hepático, com os tons de verde (nesse caso, cor atribuída para representar maior rigidez tecidual) predominante nas Imagens. Podendo ser atribuída às mesmas comparações com as Imagens 10 a 12 do paciente do presente relato, onde os tons de azul (representando maior rigidez tecidual) estão quase que em maior proporção com o tecido circundante.

Em relação à terapia medicamentosa receitada ao paciente, foi levada em consideração a apresentação dos sinais clínicos de incômodo à palpação, causados pelo aumento de volume abdominal. O fármaco de escolha foi o piroxicam, e segundo segundo Mostafa, Al-Dosseri e Al-Badr (2020), O piroxicam é amplamente utilizado ao redor do mundo em distúrbios musculoesqueléticos e articulares, como espondilite anquilosante, osteoartrite, artrite reumatóide, incluindo artrite idiopática juvenil, em distúrbios dos tecidos moles, na gota aguda e na dor pós-operatória, além de ter um início de ação rápido devido sua alta solubilidade. Foi receitado, o Tramadol, e sua eficácia é elucidada na avaliação do fármaco realizado por Lee, McTavish e Sorkin (1993), ao citar que a administração por via oral atinge o plasma sanguíneo entre 15 a 45 minutos, exercendo um potente efeito analgésico combinado com seu período razoável de duração por cerca de 3 a 6 horas. Diante de todos os resultados obtidos, sejam através das Imagens ultrassonográficas ou dos testes de hemograma e bioquímico, que direcionaram o profissional veterinário à

suspeita de hepatopatia, foi receitado ao paciente Silimarina. Segundo Zix, Mukhtar e Agarwal (1997) ao estudar os efeitos *in vitro*, *in vivo*, e ensaios clínicos da Silimarina relataram um potencial efeito antineoplásico, por possuir efeitos inibitórios dos processos de proliferação celular, angiogênese, inflamação, metabolismo de células neoplásicas e estímulo à apoptose. Além disso, Siegel et al. (2014) relataram uma melhora dos níveis séricos de citocinas em pacientes portadores de hepatocarcinoma celular avançado. Já a eleição de Furosemida pelo profissional veterinário, se deu por conta da presença de líquido livre na cavidade abdominal, bem como membros pélvicos edemaciados. Silva (2002), ao citar que a furosemida é um potente diurético que atua no segmento espesso da alça de Henle, sendo um dos mais usados em uso clínico e na terapêutica hipertensiva, edemas de origem cardíaca, hepática e renal, abraça a decisão do médico veterinário em questão. Entrementes, a prescrição de S-Adenosil, L-Metionina (SAME) foi feita com o intuito de auxiliar no tratamento do fígado do paciente, bem como estimular a sua recuperação através da melhora de seu humor, já que o paciente por estar sem comer se mostrava deprimido, fraco e ofegante. A Purifarma® (2022), alega que a SAME por ser uma molécula produzida naturalmente no fígado é uma doador de grupos metila, estando envolvida em reações bioquímicas neurológicas, além de exercer papel valioso nos processos de metilação, tais como os que ocorrem com hormônios e neurotransmissores cerebrais e atua na manutenção das membranas celulares. É indicada para o tratamento antiartrítico, colestase, distúrbios hepáticos, enxaqueca, fibromialgia e até mesmo como antidepressivo.

Infelizmente, o tutor e paciente não retornaram para dar continuidade ao tratamento, bem como avaliar a eficácia da terapia, impossibilitando um diagnóstico definitivo por outros modos, além dos exames de sangue, bioquímico e exames por imagem ultrassonográfica e elastográficos.

4 CONCLUSÃO:

A elastografia apesar de ser uma modalidade de diagnóstico por imagem relativamente nova, e carecer de estudos sobre sua atuação na medicina veterinária, seu uso, apesar de sucinto, já é uma realidade nas clínicas veterinárias do país,

demonstrando sua utilidade e eficácia em detectar alterações na rigidez tecidual. Seu diferencial em comparação ao considerado método padrão ouro, que é a biópsia, se dá por ser uma técnica não invasiva, indolor, de custo relativamente baixo, de fácil realização, de curto tempo e por conseguir avaliar desta maneira um volume do parênquima hepático cerca de 100 vezes maior quando comparado com a biópsia. Ainda sim, é válido lembrar que a elastografia hepática não substitui a biópsia, e sim orienta e complementa a sua aplicação. O uso da elastografia no paciente relatado nesse estudo direcionou o médico veterinário na suspeita clínica do paciente, bem como orientou em sua terapia de tratamento, porém, o não retorno do paciente pelo tutor impossibilitou a continuidade do acompanhamento médico, não podendo ser fechado um diagnóstico definitivo.

REFERÊNCIAS:

BRAY, J.P. et al. Ultrasonographic examination of the pharynx and larynx of the normal dog. **Veterinary Radiology and Ultrasound**. v.39, n.6 , p.566-571, 1998.

CARLOS, M. M. L.; DE SOUSA FREITAS, P. D. F. Estudo da cascata de coagulação sanguínea e seus valores de referência. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 1, n. 2, p. 49-55, 2007.

CONNER, B. J. Treating Hypoalbuminemia. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 47, n. 2, p. 451-459, 2017.

DESCH, C. H.; SPROULE, D. O.; DAWSON, W. J. The detection of cracks in steel by means of supersonic waves. **Journal of the Iron and Steel Institute**, v. 153, n. 1, p. P319-P321, 1946.

Elastografia hepática : guia prático [livro eletrônico] / Dimas Carnaúba Junior ... [et al.]. -- 1. ed. -- São Paulo : CRT DST/Aids, 2020. 1 Mb ; PDF

FIGHERA, R. A. et al. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, p. 223-230, 2008.

FLORES, M. M. et al. Caracterização do gênero, da raça e da idade de uma população de 7.780 cães da Região Central do Rio Grande do Sul submetidos à necropsia ao longo de cinco décadas (1964-2013). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 973-980, 2018.

FROES, Tilde Rodrigues. **Utilização da ultra-sonografia em cães com suspeitas de neoplasias do sistema digestório (fígado, intestinos e pâncreas)**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2004.

GONZALEZ, F. H. D & SILVAS. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2ª ed., Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.2006

HAMMER, A. S.; SIKKEMA, D. A. Hepatic neoplasia in the dog and cat. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 25, n. 2, p. 419-435, 1995.

HOLMES, J. H. et al. The ultrasonic visualization of soft tissue structures in the human body. **Transactions of the American Clinical and Climatological Association**, v. 66, p. 208, 1955.

HUÉRFANO, Y. et al. Imagenología médica: Fundamentos y alcance. **Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica**, v. 35, n. 3, p. 71-76, 2016.

JOHNSON, S.E Chronic hepatic disorders. In: ETTINGER, S, J,; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine diseases of the dog and the cat**. 5 ed. Philadelphia: E.B Saunders, 2000. p.1298-1325.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Eds.) Clinical biochemistry of domestic animals. 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008.

KWO, P. Y.; COHEN, S. M.; LIM, J. K. ACG clinical guideline: evaluation of abnormal liver chemistries. **Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG**, v. 112, n. 1, p. 18-35, 2017.

LEE, C. R.; MCTAVISH, D.; SORKIN, E. M. Tramadol. **Drugs**, v. 46, n. 2, p. 313-340, 1993.

MOSTAFA, G. A. E.; AL-DOSSERI, A. S.; AL-BADR, A. A. Piroxicam. In: **Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**. Academic Press, 2020. p. 199-474.

SAMe (S- Adenosil L-Metionina). Bula do medicamento. Purifarma®. Disponível em: [SAMe.pdf \(purifarma.com.br\)](http://Purifarma.com.br). Acesso em 26 jan. 2022.

SANTOS, C. O. H.; AMARAL, W. N. A história da ultrassonografia no Brasil. **Brasil: Sociedade Brasileira de Ultrassonografia (SBUS)**. Goiânia: Comunicação, 2012.

SCHINONI, M. I. Fisiologia hepática. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 76, n. 2, 2008.

SIEGEL, A.B. et al. A phase I dose-finding study of silybin phosphatidylcholine (Milk thistle) in patients with advanced hepatocellular carcinoma. **Integrative Cancer Therapies.**, v.13, n.1, p.46-53, 2014.

SILVA, L. C. M. et al. Análise da elastografia por ultrassonografia em pacientes com esteatose hepática. **Radiologia Brasileira**, v. 53, p. 47-55, 2019.

SILVA, P. Farmacologia. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2002. 1314p.

SEOANE M. P. R, GARCIA D. A. A. FROES T. R. A história da ultrassonografia veterinária em pequenos animais. **Archives of Veterinary Science**, v.16, n.1, p.54-61, 2011.

WATSON, P. J.; BUNCH, S. E. Testes Diagnósticos para o Sistema Hepatobiliar. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Medicina interna de pequenos animais. 3.ed.Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.p.13-47.

WOO, J. **History of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology, Part 1**. Last revised March, 2006. Disponível em: [Obstetric Ultrasound History Web \(ob-ultrasound.net\)](http://ObstetricUltrasoundHistoryWeb(ob-ultrasound.net)). Acesso em 10 jan. 2022.

ZAMBIASI, C. Z.; MACIEL, E. SERVIÇO DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEM EM VETERINÁRIA 2016. **Salão de Extensão (17.: 2016: Porto Alegre, RS). Caderno de resumos. Porto Alegre: UFRGS/PROEXT, 2016.**, 2016.

ZI , X.; MUKHTAR, H.; AGARWAL, R. Novel cancer chemopreventive effects of a flavonoid antioxidant silymarin: inhibition of mRNA expression of an endogenous tumor promoter TNF alpha. **Biochem Biophys Res Commun.**,v.239, p.334-339, 1997.