

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

BRENO PIMENTEL GONÇALVES DE BRITO

**PESQUISA DE SANGUE OCULTO FECAL EM CÃES PORTADORES DE
DIABETES *MELLITUS***

UBERLÂNDIA

2017

BRENO PIMENTEL GONÇALVES DE BRITO

**PESQUISA DE SANGUE OCULTO FECAL EM CÃES PORTADORES DE
*DIABETES MELLITUS***

Trabalho de Conclusão de Curso II
apresentado à Faculdade de Medicina
Veterinária da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito final à
obtenção do título de Bacharel em
Medicina Veterinária.

**Orientador (a): Prof^a Dr^a Sofia Borin
Crivellenti**

UBERLÂNDIA

2017

BRENO PIMENTEL GONÇALVES DE BRITO

**PESQUISA DE SANGUE OCULTO FECAL EM CÃES PORTADORES DE
DIABETES *MELLITUS***

Trabalho de Conclusão de Curso II
apresentado à Faculdade de Medicina
Veterinária da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito final à
obtenção do título de Bacharel em
Medicina Veterinária.

Profª Drª Sofia Borin Crivellenti

Orientadora

M. V. Mestranda Paula Barbsa Costa

M.V. Mestranda Priscila Cristina Costa

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado força, esperança e fé durante todo esse período acadêmico, que em alguns momentos pensei que fosse impossível resistir.

À minha orientadora Prof^a Sofia por ter me acolhido, pela paciência em me mostrar os erros e me fazer corrigir, pela dedicação na minha orientação.

À Universidade Federal de Uberlândia pelo suporte durante toda a graduação e pela realização dessa pesquisa.

Aos meus pais, os quais eu não teria chegado até aqui sem o apoio deles, pelo amor, pelo apoio e por sempre acreditarem na minha capacidade.

A todos os meus amigos que sempre estiverem do meu lado, principalmente nos momentos mais difíceis, nos momentos em que acreditei que estava sozinho, acreditando em mim e me dando toda a força.

A todas as pessoas que fazem parte da minha vida que me incentivaram e me motivaram a nunca desistir, o meu muito obrigado.

RESUMO

Dentre os distúrbios endócrinos, o Diabetes *Mellitus* (DM) é uma das afecções que vem ganhando grande espaço na rotina clínica veterinária. As afecções vasculares causadas pelo DM podem acarretar problemas em diversas partes do corpo, inclusive no trato gastrointestinal, ocasionando, por exemplo, perda de sangue nas fezes. Na primeira etapa da pesquisa, foi realizado um levantamento de cães diabéticos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia nos últimos 5 anos (2012-2017). Já na segunda etapa, foi realizado o agendamento para reavaliação dos animais portadores de DM e a coleta de amostras para realização dos exames propostos no projeto. Valores de hemácias, hemoglobina e hematócrito foram menores nos animais do Grupo de Cães Diabéticos (GD) se comparados aos do Grupo Controle (GC). O GD apresentou valores de creatinina sérica menores se comparados aos do GC. 54,54% dos animais do GD e 9,09% dos do GC apresentaram sangue oculto na urina. Dois animais do GD estavam parasitados por *Ancylostoma* spp. Todos os animais do GD apresentaram positividade no teste de sangue oculto fecal. Glicosúria, baixa densidade urinária e menor concentração sérica de creatinina foram correlacionados com o sangramento oculto fecal. Conclui-se que há relação entre o animal diabético e o sangramento oculto nas fezes, fazendo-se necessário maiores estudos para elucidar a causa e os mecanismos do sangramento no trato gastrointestinal desses animais.

Palavras-chave: Diabetes. Endocrinopatia. Fezes. Sangue oculto.

ABSTRACT

Among the endocrine disorders, Diabetes *Mellitus* (DM) is one of the conditions that has been gaining great space in veterinary clinical routine. Vascular disorders caused by DM can lead to problems in various parts of the body, including in the gastrointestinal tract, causing, for example, blood loss in the stool. In the first stage of the research, a survey of diabetic dogs attended at the Veterinary Hospital of the Federal University of Uberlândia during the last 5 years (2012-2017) was carried out. Already in the second stage, the scheduling was carried out to re-evaluate the animals with DM and the collection of samples for the examinations proposed in the project. Red blood cells, hemoglobin and hematocrit values were lower in the Group of Diabetic Dogs (GD) than in the Control Group (CG). GD presented lower serum creatinine values when compared to GC. 54.54% of the GD animals and 9.09% of the CG animals had hidden blood in the urine. Two GD animals were parasitized by *Ancylostoma* spp. All animals in the GD were positive in the fecal occult blood test. Glycosuria, low urinary density and lower serum creatinine concentration were correlated with occult fecal bleeding. It is concluded that there is a relationship between the diabetic animal and the bleeding occult in the faeces, and further studies are needed to elucidate the cause and mechanisms of bleeding in the gastrointestinal tract of these animals.

Key-words: Diabetes. Endocrinopathy. Feces. Hidden Blood.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 MATERIAIS E MÉTODOS	10
2.1 Animais Experimentais	10
2.2 Obtenção de Amostras Biológicas	11
2.2.1 Exames Hematológicos	11
2.2.2 Urinálise	11
2.3 Avaliação da Pressão Arterial Sistólica.....	12
2.4 Coleta e Análise de Amostras de Fezes Frescas.....	12
2.4.1 Coproparasitológico	12
2.4.2 Pesquisa de Sangue Oculto Fecal	12
2.5 Análise Estatística.....	13
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
4 CONCLUSÃO.	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

1 INTRODUÇÃO

Diabetes *Mellitus* (DM) é um distúrbio endócrino-metabólico identificado por hiperglicemia crônica e alterações no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas, que a longo-prazo, pode acarretar severos efeitos ao organismo (ALBERTI et al., 1998).

Sendo uma das doenças que vem aumentando em número de casos atualmente, o DM tem se tornado uma questão importante de saúde pública. Apenas em 2012, houveram aproximadamente 1.500.000 mortes de seres humanos causadas pelo Diabetes *Mellitus*, sendo este a 8ª causa de mortes no mesmo ano (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2016).

Nos cães, a incidência da doença vem aumentando anos após ano. Apenas entre os anos de 1970 e 1999, 19 em cada 10.000 cães atendidos eram diagnosticados com Diabetes *Mellitus*. Essa incidência é maior em cães com idades entre 5 e 15 anos, porém ela pode ocorrer em qualquer fase da vida do animal (GUPTILL et al., 2003).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (2000), o Diabetes *Mellitus* pode ser classificado em dois tipos: o tipo 1 (também conhecido por Diabetes *Mellitus* insulino dependente), onde o indivíduo não possui produção suficiente de insulina devido à destruição das células- β pancreáticas e tipo 2 (também conhecido por Diabetes *Mellitus* insulino resistente), onde a insulina não consegue realizar corretamente sua função. Essa mesma classificação também é usada nos cães. Há também uma forma análoga de Diabetes *Mellitus* gestacional nas cadelas durante o diestro e, também, fatores genéticos e ambientais estão envolvidos no desenvolvimento da doença, dependendo da espécie animal e do tipo da doença (RAND et al., 2004).

Os laboratórios existentes não disponibilizam de um método eficaz para determinar a causa de DM nos cães e, por isso, é estabelecido os mesmos critérios em humanos diabéticos para se descobrir a causa da doença nesses animais. Pelo menos 50% dos animais apresentam o tipo 1 da doença, já que estudos mostraram que nesses animais há a presença de anticorpos contra células- β pancreáticas. Os outros 50% são divididos em outros tipos de Diabetes *Mellitus*, como destruição pancreática por algum processo patológico, resistência à insulina (tipo 2), ou induzido pelo diestro ou pela gestação (HOENIG; DAWE, 1992).

Assim como nos humanos, o DM é um problema cada vez mais comum nos cães, configurando-se um dos problemas mais comuns na clínica de doenças endócrinas em pequenos animais (NELSON, 2000). Nos cães diabéticos, a glicemia estará acima de 130 mg/dL em animais em jejum alimentar, geralmente estando entre 180 e 220 mg/dL ao diagnóstico. Os

sinais clínicos só começam a aparecer após o limiar de reabsorção de glicose nos túbulos renais ter sido excedido, levando à clínica de poliúria e polidipsia compensatória, polifagia e perda de peso. Se não controlado, o animal pode, também, desenvolver cetoacidose. Em resumo, os critérios para diagnóstico do DM em cães são os achados simultâneos de glicosúria e consistente hiperglicemia de jejum, associados aos sinais clínicos compatíveis com a doença (NELSON, 2015).

A longo prazo, os danos secundários causados pelo DM acarretam disfunção e falha de vários órgãos como olhos, rins, coração e vasos sanguíneos. Humanos diabéticos possuem uma chance maior de terem problemas vasculares quando comparados com não diabéticos. Dentre os problemas vasculares descrevem-se micro e/ou macroangiopatias, sendo aterosclerose, hipertensão arterial sistêmica, doença arterial periférica e doença vascular cerebral as mais comumente descritas (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2007). Vale ressaltar que, assim como nos humanos, os cães também podem apresentar alterações vasculares decorrentes do DM como a hipertensão arterial e a aterosclerose, embora em menor intensidade e frequência (HERRING; PANCIERA; WERRE, 2014; HESS et al., 2003).

As lesões microvasculares causadas pelo DM são mediadas principalmente pela hiperglicemia, a qual desempenha um importante papel na patogênese dessas lesões (THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP, 1993). Esse tipo de lesão é o que ocorre nas retinopatias e nefropatias diabéticas tão comuns em humanos diabéticos (PORTA; BANDELLO, 2002; KIKKAWA; KOVA; HANEDA, 2003). No trato gastrointestinal, as microangiopatias são caracterizadas por um espessamento considerável dos vasos sanguíneos do intestino delgado, especialmente na lâmina própria e submucosa do duodeno. Autores descrevem que tais lesões microvasculares no intestino podem estar envolvidas na patogênese de problemas gastrointestinais (DE LAS CASAS; FINLEY, 1999), como a perda de sangue nas fezes.

Há uma expressiva relação entre humanos diabéticos e sangramento oculto nas fezes, mas o mecanismo dessa perda ainda não foi bem elucidado (NAKAJIMA; SUWA, 2016). Sabe-se que pessoas com DM são mais propensas à esofagite erosiva, úlceras gástricas e duodenais (TSENG et al., 2012), o que sugere uma explicação para a perda de sangue nas fezes. Aventa-se ainda que, assim como ocorrem no cérebro, (WOERDEMAN et al., 2014) as micro-hemorragias também possam ocorrer no intestino de portadores de Diabetes *Mellitus* (NAKAJIMA; SUWA, 2016).

Em medicina veterinária a pesquisa de sangue oculto nas fezes é pouco explorada,

limitando-se na maioria das vezes à pacientes com anemia decorrente de doenças do trato gastrointestinal, ou animais que estejam recebendo medicações potencialmente promotoras de hemorragias gastrointestinais (GILSON; PARKER; TWEDT, 1990).

O teste de triagem para presença de sangue oculto fecal utilizando o reagente químico benzidina baseia-se na atividade da peroxidase do sangue que decompõe o peróxido de hidrogênio, liberando oxigênio que por sua vez oxida a benzidina, alterando sua estrutura e desencadeando o aparecimento da coloração azul da solução (FERREIRA NETO; VIANA; MAGALHÃES, 1981). Importante e recente trabalho em cães portadores de doença renal crônica comprovou tanto a presença de sangue oculto fecal nesta doença quanto à eficácia e a exequibilidade do teste utilizando fezes frescas de cães colhidas ambulatoriamente (CRIVELLENTI et al., 2017).

Dados os artigos na medicina humana em que as hemorragias gastroentéricas são possíveis complicações do Diabetes *Mellitus*, este estudo pretende primordialmente identificar se o mesmo pode ocorrer nos caninos diabéticos. Além disso, os resultados aqui obtidos poderão gerar futuras pesquisas na área de terapêutica desta importante doença endócrina, incluindo a avaliação da efetividade de inibidores de secreção gástrica ou protetores de mucosa em pacientes caninos diabéticos.

Assim, considerando as evidências de sangramento gastrointestinal em humanos diabéticos elucidadas anteriormente e diante da hipótese de que o mesmo possa ocorrer em cães, este trabalho teve por objetivo principal investigar a presença de sangue oculto nas fezes de cães portadores de Diabetes *Mellitus*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (Protocolo nº 039/17).

Inicialmente, foi realizada uma revisão bibliográfica acerca do Diabetes *Mellitus* e lesões vasculares secundárias, para embasar e sustentar as discussões propostas pela pesquisa.

2.1 Animais Experimentais

O projeto de pesquisa foi realizado em 2 etapas, como se seguem:

Fase 1 – Levantamento do número de cães diabéticos em atendimento no HV-UFU

A primeira fase do projeto constou do levantamento de caninos portadores de Diabetes *Mellitus* atendidos nos últimos 5 anos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (HV-UFU). Para tal, os pesquisadores consultaram o Acervo de Registros do HV-UFU para obtenção de dados relativos ao animal (raça, idade, sexo) e ao responsável pelo animal (nome, endereço e telefone para contato). Os animais que por ventura foram diagnosticados com Diabetes *Mellitus*, prospectivamente ao período avaliado no acervo, também foram incluídos no experimento.

Fase 2 – Agendamento da reavaliação dos animais/coleta das amostras

Foram avaliados pontualmente 22 cães adultos, atendidos junto ao Setor de Clínica Médica de Pequenos Animais e ao Serviço de Endocrinologia do HV-UFU, Campus Umuarama, distribuídos em dois grupos experimentais:

Grupo Controle (GC) - constituído de 11 cães adultos, sadios, de qualquer gênero e raça e com peso superior a 1 kg, cujo bom estado de saúde foi aquilatado com base em exames clínicos gerais e laboratoriais de rotina;

Grupo de Cães Diabéticos (GD) - composto por 11 cães portadores de diabetes mellitus insulino dependente (tipo 1), de qualquer gênero, raça e idade, com peso superior a 1 kg e sem histórico ou alterações clínicas e clínico-patológicas de outras doenças.

Os pesquisadores entraram em contato com os responsáveis pelos cães diabéticos, e após esclarecimento do mesmo sobre a pesquisa, realizaram o agendamento da reavaliação do animal pelo Serviço de Endocrinologia do HV-UFU. Os responsáveis pelos animais foram devidamente esclarecidos pela equipe de pesquisa sobre todos os procedimentos que foram

realizados, e somente após a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido pelos mesmos, os animais foram incluídos na pesquisa.

Foram excluídos cães que apresentaram sangramento macroscópico nas fezes (melena ou hematoquezia). Do mesmo modo, foram excluídos pacientes diagnosticados com injúria renal aguda (IRA), que apresentaram vômitos frequentes ou profusos ou que tenham utilizado fármacos potencialmente causadores de sangramento gastrointestinal (p.ex. corticoides e antiinflamatórios não esteroidais) nos últimos 30 dias. Além disso, foram ainda excluídos cães portadores de outras doenças crônicas, como cardiopatias, enfermidades oncológicas ou outras endocrinopatias.

2.2 Obtenção de amostras biológicas

2.2.1 Exames hematológicos

Amostras de 5 mL de sangue total foram coletadas dos animais por venopunção jugular, safena ou cefálica (volume não extrapola a quantidade de máxima de 10% do volume sanguíneo circulante recomendada/cão – 7,9-9,0 ml para cães acima de 1 kg para coleta única de amostra). A primeira alíquota do sangue total (0,1-0,3 mL) foi utilizada para mensuração da glicemia em jejum em glicosímetro (OneTouch Ultra, Johnson&Johnson) e o restante (4,9-4,7 ml) foi envasado em tubo com e sem anticoagulante. As amostras recolhidas nos tubos com EDTA foram utilizadas para realização do hemograma e do diferencial de leucócitos em esfregaços de sangue no Laboratório de Patologia Clínica do HV- UFU. Após coagulação do sangue transferido para os tubos secos, a amostra foi centrifugada para separação do soro, o qual depois de separado foi transferido em subaliquotas de 1-2 ml para microtubos e armazenados para posteriores análises bioquímicas séricas pertinentes a avaliação geral dos pacientes e acompanhamento dos animais diabéticos (creatinina e ureia) e confirmação da sanidade dos animais do grupo controle.

2.2.2 Urinálise

As amostras de 10-20 ml de urina obtidas por meio de cistocentese guiada por ultrassom foram encaminhadas e processadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFU para realização dos exames físico, químico e de sedimentoscopia das urinas.

2.3 Avaliação de Pressão Arterial Sistólica (PAS)

Foi obtida a média de cinco aferições da pressão arterial sistólica por método indireto, utilizando-se de manguito inflável aplicado ao redor do membro torácico direito, entre o cotovelo e o punho, para oclusão do fluxo sanguíneo das artérias superficiais do carpo utilizando aparelho ultrassônico com Doppler vascular.

2.4 Coleta e Análise de Amostras de Fezes Frescas

2.4.1 Coproparasitológico

Para essa avaliação foram realizadas duas técnicas de exame parasitológico de fezes, sendo a técnica de Willis-Mollay (flutuação em solução salina saturada) para detecção de ovos de *Ancylostoma* spp., *Toxocara* spp., *Ascaris* spp., entre outros e a técnica de Faust (flutuação em solução de sulfato de zinco), indicado para observação de oocistos de protozoários como *Isospora* spp., *Eimeria* spp. e *Giardia* spp.

2.4.2 Pesquisa de Sangue Oculto Fecal

O exame de sangue oculto fecal foi realizado em amostras frescas de fezes dos animais utilizando o teste da benzidina e a leitura foi realizada de forma cega, evitando qualquer tipo de influência de manipulação.

Foram coletadas três amostras de fezes, de diferentes pontos do bolo fecal de cada animal (defecação espontânea), distribuídas em um disco de papel e acrescidas de 50 µL de uma solução preparada a partir de 1 ml de ácido acético a 50% e 10 mg de benzidina. A homogeneização foi feita com auxílio de espátula de madeira, sendo acrescentadas 3 gotas de água oxigenada à cada amostra, cuja formação de halo de cor azulada em qualquer amostra será considerada reação positiva para presença de sangue nas fezes.

O ensaio foi repetido por três vezes na mesma amostra, utilizando o mesmo método de confecção. A classificação utilizada está de acordo de acordo com Narita et al., (2005) *apud* Crivellenti et al. (2017) e a leitura dos resultados foi executada 30 segundos após a aplicação dos reagentes. A interpretação indica que em caso de nenhuma mudança de coloração observada na superfície manchada, a amostra é considerada negativa. Ao contrário, se a mancha na superfície se tornar azul, o teste será considerado positivo.

A presença e a intensidade de sangue oculto fecal foi, então, classificada em 0 quando o sangue oculto nas fezes for ausente, 1 para fraco positivo, 2 para moderadamente positivo e 3 para forte positivo (NARITA et al., 2005 *apud* CRIVELLENTI et al., 2017).

2.5 Análise Estatística

O software estatístico comercialmente disponível Graphpad Prism foi utilizado para análise estatística. A distribuição normal de dados foi testada usando o teste de Kolmogorov-Smirnov. A maioria dos dados foi submetida a uma análise de variação unidirecional, seguida do teste *post hoc* de Tukey, uma vez que a distribuição normal foi estabelecida. Leucócitos totais e a contagem de plaquetas foram os únicos dados anormalmente distribuído, e as comparações estatísticas foram realizadas usando Kruskal-Wallis como teste não paramétrico, seguido do teste *post hoc* de Dunns. A correlação de classificação de Spearman foi utilizada para analisar a relação entre o grau de sangue fecal oculto e outras variáveis. As diferenças foram consideradas significativas em $P < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Grupo Controle (GC) foi composto de 11 cães saudáveis, sendo estes 10 sem raça definida e um Cocker Spaniel e, destes, sendo três fêmeas e oito machos, com idade média de $8,45 \pm 1,75$ anos. O Grupo de Cães Diabéticos (GD) foi diagnosticado através da observação simultânea de hiperglicemia ($327,7 \pm 147,9$ mg/dL; mín=133 mg/dL, máx=594 mg/dL) e glicosúria. Foi composto também por 11 animais, sendo estes, quatro cães da raça Poodle, um Schnnauzer, dois Cocker Spaniel e quatro cães sem raça definida, sendo seis machos e cinco fêmeas, com idade de $8,36 \pm 2,83$ anos. Não foi verificado diferença estatística entre as idades dos animais dos grupos estudados ($P=0,9289$).

Os resultados aqui obtidos corroboram com os estudos já realizados com DM no que diz respeito aos dados epidemiológicos. De acordo com Guptill et al. (2003), raças como Schnnauzer, Bichon Frisé, Poodle, Samoieda, Cairn Terrier e cães sem raça definida têm um risco maior de desenvolver DM em algum momento de sua vida. Por outro lado, algumas raças são menos predispostas a desenvolver a doença como Boxer, Golden Retriever e Pastor Alemão. Com relação ao sexo do animal, vários estudos mostraram que as fêmeas têm uma maior predisposição em desenvolver DM (MARMOR et al., 1982; DAVISON; HERRTAGE; CATCHPOLE, 2004; GUPTILL et al., 2003).

As variáveis analisadas no hemograma (hemácias, hemoglobina, hematócrito, VCM, CHCM, plaquetas e leucócitos) estão apresentadas na Tabela 1. Apesar dos valores de hemácias, hematócrito e hemoglobina estarem dentro do intervalo de normalidade (considerado para a espécie canina) observou-se que os animais do GD possuem valores dessas variáveis significativamente reduzidos quando comparados aos dos animais pertencentes ao GC. Já com relação a contagem plaquetária, os animais do GD mostraram possuir contagens significativamente mais elevadas em relação aos cães do GC.

Tabela 01. Valores médios, desvio padrão e/ou mínimo e máximo das variáveis hematológicas dos animais do Grupo Controle (GC) e do Grupo de Cães Diabéticos (GD).

	GC	GD	p	Valores de Referência^f
Hemácias (x10 ⁶ /mm ³)	7,24±0,61*	6,37±1,19*	0,0470	5,5-8
Hemoglobina (g%)	16,14±1,87**	14,48±2,16**	0,0755	12-18
Hematócrito (%)	50,25±4,19**	44,64±8,26**	0,0609	37-55
CHCM (g%)	32,04±1,29	32,70±2,16	0,3975	30-36
VCM (u ³)	69,48±2,62**	71,68±3,07**	0,0921	60-77
Leucócitos totais (mm ³)	8736±2644 (6000-13700)	10130±3631 (5500-18500)	0,2785	6000-17000
Plaquetas (x10 ³ /mm ³)	26,3±8,67 (16,1-42,6)	35,92±14,34 (2,53-75,1)	0,0414	20,0-50,0

Legenda: * p<0,05; ** p<0,1; ■ Laboratório de Patologia Clínica do HV-UFU.

Os valores de ureia e creatinina séricos obtidos dos animais do GC e do GD estão apresentados na tabela 2. Nota-se que, apesar de estarem dentro dos valores de referência para a espécie canina, os valores de creatinina dos cães diabéticos apresentaram-se significativamente inferiores aos do GC.

Tabela 02. Valores médios, desvio padrão e/ou mínimo e máximo das variáveis bioquímicas séricas dos animais do Grupo Controle (GC) e do Grupo de Cães Diabéticos (GD).

	GC	GD	p	Valores de Referência
Creatinina (mg/dL)	1,04±0,11	0,85±0,09	0,0015	0,5-1,5
Ureia (mg/dL)	38,05±20,6 (17,50-92,02)	39,10±15,08 (18,20-68,10)	0,9117	15-40

Dentre os parâmetros analisados na urinálise observou-se não haver diferença significativa entre as densidades urinárias dos grupos estudados. Fisiopatologicamente, cães diabéticos apresentariam densidade urinária hipostenúrica ($<1,008$), uma vez que nesses animais a hiperglicemia leva à extrapolação do limiar renal de absorção de glicose (12 a 14 mmol/L) (MOONEY; PETERSON, 2015), ocorrendo uma diurese osmótica. Contudo, por ser uma molécula de alto peso molecular (180,1559 g/mol), a presença de grande quantidade de glicose na urina eleva a densidade urinária, o que faz com que a urina dos animais diabéticos não seja tão menos densa se comparada a dos animais saudáveis. Geralmente, a cada 2% de glicose aumentada na urina ou 4+ (usando o parâmetro de classificação em cruzes para classificar glicose presente na urina), a densidade urinária aumentará em torno de 0,008 a 0,010, se for medida pelo método da refratometria (NELSON, 2015).

Quanto a proteinúria, observou-se que os animais do GD apresentaram frequência relativamente elevada de proteínas urinárias (+/n=3; ++/n=3), diferindo significativamente dos animais do GC, onde nenhum grau de proteinúria foi observado ($P=0,0313$). Essa avaliação baseou-se na identificação de proteínas pela fita de urinálise, embora o método confirmatório para proteinúria é o exame de UP/C (razão proteína/creatinina urinária). A proteinúria ocorre pela nefropatia causada pelo DM, um dano que vem sendo eventualmente reportado em cães diabéticos, embora não seja comumente estudada nessa espécie. A patogênese envolvida no dano renal tem a ver com lesões microvasculares das arteríolas e capilares, ocasionando principalmente aumento da membrana basal do capilar, e a glicose possui um papel fundamental nesse processo. Os sinais de nefropatia vão progredindo com o tempo, indo desde albuminúria até à uma insuficiência renal crônica, podendo levar o paciente à azotemia e à uremia. Histopatologicamente, o rim pode apresentar glomerulonefropatia membranosa, espessamento da membrana basal glomerular e tubular, aumento no material de matriz mesangial, glomeruloesclerose, depósitos subendoteliais e fibrose glomerular (NELSON, 2015).

Apenas um cão do GD apresentou cetonúria ($P=0,9999$). Os corpos cetônicos são encontrados no sangue, fisiologicamente, durante jejum e após exercícios prolongados. Já, na sua condição patológica, a causa mais comum é a sua ocorrência nos indivíduos portadores de DM. Há 3 tipos de cetonas produzidas pelo fígado no animal: β -hidroxibutirato, acetoacetato e acetona. Quando o corpo do animal está com concentrações baixas de carboidratos, o acetoacetato se acumula devido ao metabolismo de ácidos graxos, já o β -hidroxibutirato é derivado do acetoacetato pelo processo de redução que essa substância sofre na mitocôndria, sendo o último corpo cetônico produzido na cetogênese. Altas quantidades de corpos cetônicos

são filtrados pelos rins, mas se a quantidade for mais alta que o limiar de reabsorção renal, eles são excretados na urina. Já a acetona é extremamente volátil, sendo eliminada pelos pulmões através da respiração, caracterizando o aroma doce exalado pela boca em indivíduos com cetoacidose diabética. A detecção de corpos cetônicos na urina é realizada pela fita de urinálise, o qual detecta especificamente o acetoacetato. Nessa fita, o acetoacetato reage na presença de álcali com nitroprussiato, gerando uma cor roxa na fita. Contudo, os testes de tira não detectam o β -hidroxibutirato. Essa análise da fita não é fidedigna para diagnosticar cetoacidose nos animais diabéticos, pois os corpos cetônicos podem ser detectados na urina muito tempo após as concentrações séricas de cetonas terem voltado para níveis normais. A proporção sérica de β -hidroxibutirato e acetoacetato no sangue de um animal com cetoacidose diabética é de 3:1 ou maior. Com a melhora do animal devido à administração de insulina, tem a redução sérica de corpos cetônicos e a coincidente conversão de β -hidroxibutirato em acetoacetato, o que faz com que os níveis dessa substância aumentem no sangue do animal, mesmo a concentração dos outros corpos cetônicos estarem caindo. Com isso, o teste da tira com nitroprussiato não detecta uma melhora no paciente, levando à um diagnóstico errôneo. Logo, devido ao teste da tira de nitroprussiato ser incapaz de detectar β -hidroxibutirato, é recomendável fazer o teste sanguíneo para detecção de corpos cetônicos e para um diagnóstico confiável de cetoacidose diabética (LAFFEL, 1999; GOODMAN; RUDERMAN, 1974; MILES et al., 1980; FERY; BALASSE, 1985).

Como era esperado, a glicosúria, marco necessário para confirmação do diagnóstico de DM, esteve presente em todos os animais do GD (++++/n=3; +++/n=7; +/-n=1) e ausente em todos os cães do GC (P=0,0010). A glicosúria ocorre porque o limiar de reabsorção renal de glicose é excedido devida à grande concentração sérica de glicose originada na ausência de insulina, a qual ultrapassa 180 a 220 mg/dL, criando assim uma condição de diurese osmótica e acarretando o quadro clássico de poliúria com polidipsia compensatória dos cães portadores de DM (NELSON, 2015).

A realização da aferição da pressão arterial sistólica (PAS) nos animais, por método indireto, mostrou que os animais diabéticos apresentaram PAS significativamente superior aos cães controles (151,4±20,56 e 132,3±8,17, respectivamente) (P=0,0108). O aumento da pressão arterial sistêmica em animais portadores de DM já é correlacionado com a doença. Em humanos, a hipertensão está intimamente relacionada à nefropatia causada pelo DM, a qual leva à proteinúria e consequente ativação do Sistema Renina Angiotensina Aldosterona, resultando em vasoconstrição e retenção de água e sódio, provocando aumento de volume sanguíneo e,

consequentemente, aumento da pressão arterial sistêmica. Apesar da doença renal crônica ser comum em cães e gatos, e alterações glomerulares em gatos diabéticos serem descritas em pequenos estudos *post mortem* semelhantes às encontradas em humanos com nefropatia diabética, essa ainda não é claramente confirmada e reconhecida na medicina veterinária (BLOOM; RAND, 2013). Dois importantes trabalhos investigativos da nefropatia em cães diabéticos foram realizados nos últimos 10 anos (MAZZI et al., 2008; HERRING et al., 2014). Embora presente em ambos os trabalhos, infelizmente nenhum deles conseguiu comprovar a origem e os fatores relacionados à ocorrência e à perseverança da proteinúria em cães com DM, sugerindo a realização de estudos longitudinais que avaliassem mais profundamente a correlação entre proteinúria e hipertensão (MAZZI et al. 2008) e proteinúria com a duração da doença (HERRING; PANCIERA; WERRE, 2014) em cães.

Sangue oculto na urina foi registrado tanto no GC quanto no GD. No GC, apenas um cão apresentou sangue oculto na urina (+/n=1), enquanto a frequência de apresentação foi maior no GD (+/n=1; ++/n=1; +++/n=1; ++++/n=3) (P=0,065). Essa pesquisa de sangue oculto na urina é realizada por meio do teste da fita, e é necessário ser diferenciado entre hemoglobinúria, hematúria ou mioglobulinúria. Mioglobulinúria ocorre devido ao aumento excessivo da permeabilidade da célula muscular (necrose muscular, rabdomiólise), que pode ser devido à exercícios intensos ou picada de animais peçonhentos, por exemplo. Caracteriza-se por uma urina extremamente escura, com cor de “coca-cola”, seguida de dores intensas e fraqueza na musculatura, podendo causar insuficiência renal aguda (PINTO; AGAPEJEV, 1983). Hematúria é caracterizada pela presença de hemácias intactas na urina, podendo ser microscópica ou macroscópica. Há comprovação de que, muitas vezes, a proteinúria acompanha hematúria em pacientes com doença glomerular (FAIRLEY; BIRCH, 1982). Já a hemoglobinúria é a presença do pigmento hemoglobina na urina, geralmente causado por hemólise intravascular (anemia hemolítica imunomediada, coagulação intravascular disseminada, síndrome da veia cava inferior, torção esplênica, etc) (DIBARTOLA; WESTROPP, 2015). Neste estudo, os mesmos animais que apresentaram sangue oculto na urina, apresentaram maior quantidade de hemácias na sedimentoscopia, o que permite inferir se tratar de hematúria. Vale ressaltar que a presença das hemácias nas amostras urinárias destes animais ainda deve ser diferenciada entre hematúria verdadeira e iatrogênica. Neste quesito crê-se que a mesma pode ter sido ocasionada, provavelmente, pelo procedimento de cistocentese realizadas nos animais do GD (DIBARTOLA; WESTROPP, 2015), já que a urina dos animais do GC foi obtida por micção espontânea, não apresentaram hematúria significativa (+/n=1).

Faz-se necessário informar que dois animais do GD que apresentaram sangue oculto fecal também apresentaram presença de *Ancylostoma* spp. nas fezes, obtido a partir do exame coproparasitológico. De acordo com Taylor, Coop e Wall (2010), a infestação pelo gênero *Ancylostoma* spp., nos cães, não causa sangramento intestinal considerável, o que se acreditava por ser um parasita hematófago e, por conta disso, na mucosa intestinal onde estava fixado, permanece a presença de pontos hemorrágicos. Portanto, possivelmente a presença dos parasitas nos dois animais não interferiram no resultado do teste de sangue oculto fecal.

A pesquisa de sangue oculto fecal, realizada por meio do teste da benzidina, foi negativa para os animais controle e positiva para todos os animais portadores de Diabetes *Mellitus*, dos quais 18,2% resultaram em fraco positivos (n=2), 36,4% moderadamente positivos (n=4) e 45,4% forte positivos (n=5) (P=0,001). A Figura 1 traz exemplos das diferentes graduações de sangramento oculto apresentada pelos animais diabéticos.

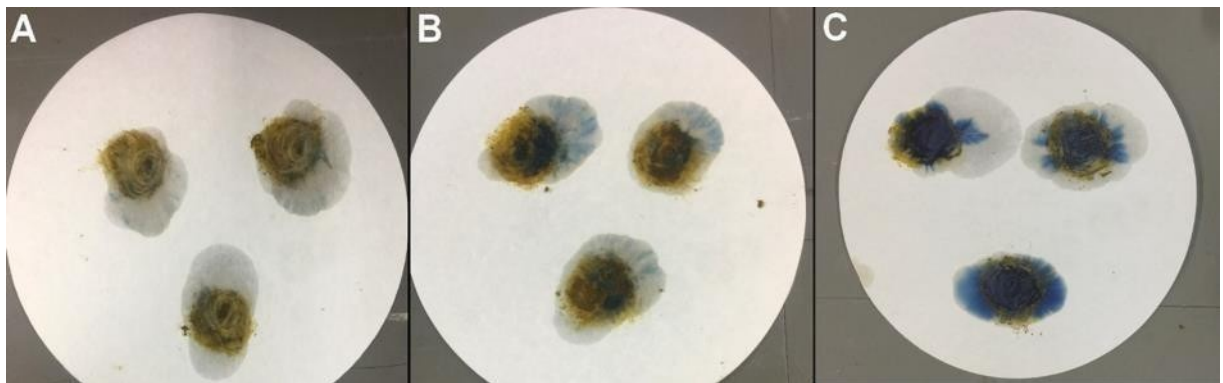


Figura 01. Escore utilizado nesse estudo para graduar a presença de sangue oculto fecal em cães diabéticos. (A) Grau 1 (fracamente positivo). (B) Grau 2 (moderado positivo). (C) Grau 3 (fortemente positivo).

Finalmente, os resultados obtidos da correlação entre a presença de sangue oculto fecal e as variáveis analisadas neste estudo reforçam a probabilidade do sangramento intestinal estar realmente relacionado à presença de Diabetes *Mellitus*. Observou-se que quanto maior a intensidade da glicosúria, menor densidade urinária e menor concentração sérica de creatinina, maior foi a detecção de sangue oculto nas fezes dos animais portadores de DM ($r=0,78$, $p<0,0001$; $r= -0,82$, $p<0,0001$; $r= -0,53$, $p=0,0247$, respectivamente).

Segundo The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (1993), a hiperglicemia tem um papel importante na patogênese das lesões microvasculares em humanos, sendo essa glicose em níveis séricos acima dos valores de referência que medeia essa patogenia.

As lesões microvasculares no intestino delgado são identificadas por um espessamento significativo dos vasos sanguíneos, principalmente na lâmina própria e submucosa do duodeno, podendo isso estar envolvido na patogênese de disfunções gastrointestinais (DE LAS CASAS; FINLEY, 1999), o que poderia justificar perdas discretas de sangue nas fezes. De acordo com Tseng et al. (2012), pacientes diabéticos têm maior propensão à esofagite erosiva, úlceras gástricas e duodenais, reforçando ainda mais a ideia de que tendem a ter um sangramento oculto nas fezes em decorrências dessas lesões no trato gastrointestinal.

Assim, este trabalho, de forma pioneira, evidencia que provavelmente o DM acarreta lesões microvasculares no trato gastrointestinal e propicia lesões nas mucosas desses órgãos desse trato também em animais diabéticos, assim como ocorrem nos humanos (NAKAJIMA; SUWA, 2016).

4 CONCLUSÃO

Este estudo evidencia uma forte associação entre animais portadores de DM e a presença de sangramento oculto nas fezes, possivelmente decorrente de microangiopatias acarretadas pela doença endócrina. A inclusão do teste de sangue oculto fecal nos exames de triagem para pacientes diabéticos ao diagnóstico e durante o tratamento da doença pode ser útil, junto com outras ferramentas, para avaliar o estado geral e a resposta ao tratamento instituído ao animal. Maiores estudos são necessários para explicar a origem exata do sangramento oculto nas fezes e qual o mecanismo desse sangramento no trato gastrointestinal de cães diabéticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTI, K. G. M. M.; ZIMMET, P. Z.; CONSULTATION, W. H. O. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus - Provisional report of a WHO consultation. **Diabetic Medicine**, v. 15, n. 7, p. 539–553, 1998.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 30, n. SUPPL. 1, 2007.

BLOOM; RAND. Diabetes and the kidney in human and veterinary medicine. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 43, p 351-365, Março 2013.

CRIVELLENTI, L. Z.; et al. Occult gastrointestinal bleeding is a common finding in dogs with chronic kidney disease. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 0, p. 1–6, 2017.

DAVISON, L. J.; HERRTAGE, M. E.; CATCHPOLE, B. Study of 253 dogs in the United Kingdom with diabetes mellitus. **Veterinary Record**, v. 156, p 467-471, 2004.

DE LAS CASAS, L. E.; FINLEY, J. L. Diabetic microangiopathy in the small bowel. **Histopathology Oxford**, v. 35, n. 3, p. 267–270, 1999.

DIBARTOLA, S. P.; WESTROPP, J. L. Manifestações Clínicas das Doenças do Trato Urinário. In: NELSON, R.W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5ª. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. cap. 41, p.629-637.

FAIRLEY, K. F.; BIRCH, D. F. Hematuria: A simple method for identifying glomerular bleeding. **Kidney International**, v. 21, p. 105–108, 1982. Elsevier Masson SAS.

FERREIRA NETO, J. M.; VIANA, E. S.; MAGALHÃES, L. M. **Patologia Clínica Veterinária**. 2 ed. Belo Horizonte: GráficaRabelo Ltda. 1981. p. 64, 1981.

FERY, F., BALASSE, E. O. Ketone body production and disposal in diabetic ketosis: a comparison with fasting ketosis. **American Diabetes Association**, v. 34, p. 326-332, 1985.

GILSON, S. D.; PARKER, B. B.; TWEDT, D. C. Evaluation of two commercial test kits for detection of occult blood in feces of dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v.51, p.1385-1387, 1990.

GOODMAN, M. N.; BERGER, N. M.; RUDERMAN, N. B. Glucose metabolism in rat skeletal muscle at rest: effect of starvation, diabetes, ketone bodies, and free fatty acids. **American Diabetes Association**, v. 23, p. 881–888, 1974.

GUPTILL, L.; et al. Time Trends and Risk Factors for Diabetes Mellitus in Dogs: Analysis of Veterinary. **Medical Data Base Records (1970 – 1999)**, v. 233, n. 2, p. 240–247, 2003.

HEALTH, T. N.; SUR-, N. E.; THIRD, T.; HEALTH, N. Prevalence of High Blood Pressure and Elevated Serum Creatinine Level in the United States. **JAMA Internal Medicine**, v. 161, 2001.

HERRING, I. P.; PANCIERA, D. L.; WERRE, S. R. Longitudinal prevalence of hypertension, proteinuria, and retinopathy in dogs with spontaneous diabetes mellitus. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 2, p. 488–495, 2014.

HESS, R. S.; KASS, P. H.; VAN WINKLE, T. J. Association between diabetes mellitus, hypothyroidism or hyperadrenocorticism, and atherosclerosis in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 4, p. 489–494, 2003.

HOENIG, M.; DAWE, D. L. A qualitative assay for beta cell antibodies. Preliminary results in dogs with diabetes mellitus. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 32, p. 195–203, 1992.

KIKKAWA, R.; KOYA, D.; HANEDA, M. Progression of diabetic nephropathy. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 41, p. S19–S21, 2003.

LAFFEL, L. Ketone bodies: A review of physiology, pathophysiology and application of monitoring to diabetes. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 15, n. 6, p. 412–426, 1999.

MARMOR, M.; WILLEBERG, P.; GLICKMAN, L. T.; PRIESTER, W. A.; CYPESS, R. H.; HURVITZ, A. I. Epizootiologic patterns of diabetes mellitus in dogs. **American Journal of Veterinary Research** v. 43, p. 465-470, 1982.

MAZZI, A. et al. Ratio of urinary protein to creatinine and albumin to creatinine in dogs with diabetes mellitus and hyperadrenocorticism. **Veterinary research communications**, v. 32, n. 1, p. 299-301, 2008.

MILES, J. M.; RIZZA, R. A.; HAYMOND, M. W.; GERICH, J. E. Effects of acute insulin deficiency on glucose and ketone body turnover in man: evidence for the primacy of overproduction of glucose and ketone bodies in the genesis of diabetic ketoacidosis. **American Diabetes Association**, v. 29, p. 926-930, 1980.

MOONEY, C. T.; PETERSON, M. E. **Manual de Endocrinologia em Cães e Gatos: Diabetes Melito em Cães**. 4ª. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2015, cap. 12, p. 141-159.

NAKAJIMA, K.; SUWA, K. Association between positive fecal occult blood test and diabetes in a population undergoing health screening. **Clinical biochemistry**, 2016. Elsevier B.V.

NARITA, T.; TOMIZAWA, N.; SATO, R.; GORYO, M.; HARA, S. Effects of long-term oral administration of ketoprofen in clinically healthy beagle dogs. **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, v. 67, p. 847– 853, 2005.

THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**, v. 329, p. 977–986, 1993.

NELSON, R. W. Canine Diabetes Mellitus. In: FELDMAN, Edward C. et al. **Canine & Feline Endocrinology**. 4^a. ed. St. Louis: Elsevier, 2015. cap. 6, p. 213-259.

NELSON, R. W. Diabetes mellitus. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E.C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 5th ed. Vol. 2. Philadelphia: WB Saunders, 2000. p.1438– 1460.

NELSON, R. W. Distúrbios do Pâncreas Endócrino: Diabetes melito em cães. In: NELSON, R.W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5^a. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. cap. 52, p. 780-797.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Global report on diabetes**. Genebra: WHO Press; 2016. Disponível em <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257_eng.pdf?ua=1> Acesso em 16 jan 2017.

PINTO, O. E.; AGAPEJEV, S. Rabdomiolise e mioglobinuria. **Arq. Neuro-psiquiatria**, v. 41, p. 280–286, 1983.

PORTA, M.; BANDELLO, F. Diabetic retinopathy: aclinical update. **Diabetologia**, v. 45, p. 1617–1634, 2002.

RAND, J. S.; FLEEMAN, L. M.; FARROW, H. A.; APPLETON, D. J. WALTHAM. Canine and Feline Diabetes Mellitus: Nature or Nurture? **Journal of Nutrition**, v. 1, n. 10, p. 2072– 2080, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diagnóstico e Classificação do Diabetes Mellitus e tratamento do Diabetes Mellitus tipo 2. **Biblioteca Virtual em Saúde**, v. 1, n. 1, p. 1–71, 2000.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**: Parasitas de cães e gatos. 3^a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 308-310 p.

TSENG, P. H.; et al. Association of diabetes and HbA1c levels with gastrointestinal manifestations. **Diabetes care**, v. 35, n. 5, p. 1053–60, 2012.

WOERDEMAN, J.; et al. Proliferative retinopathy in type 1 diabetes is associated with cerebral microbleeds, which is part of generalized microangiopathy. **Diabetes Care**, v. 37, n. 4, p. 1165–1168, 2014.