

● Diagnóstico de Diabetes mellitus na espécie canina e avaliação a longo prazo da terapia insulínica através das concentrações séricas de hemoglobina glicosilada

● *Diagnosis of Diabetes mellitus in dogs and management of long term insulin therapy with glycosilated hemoglobin level evaluation*

* Av. João Ramalho, 162
Santo André - SP
CEP 09030-320
Fone: (0xx11) 9195-6177
E-mail: bibi_s@uol.com.br

*Viviani de Marco¹ - CRMV SP n°10.146

Ricardo Coutinho do Amaral² - CRMV SP n°1.405

Márcia Marques Jericó³ - CRMV SP n°3.972

Ricardo Duarte Silva⁴ - CRMV SP n°7.964

Denise Maria Simões⁵ - CRMV SP n°6.035

¹ Pós-Graduação nível mestrado, Clínica Médica - FMVZ-USP

² Professor Doutor - Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP

³ Pós-Graduação nível doutorado, Clínica Médica - FMVZ-USP

⁴ Pós-Graduação nível mestrado, Clínica Médica - FMVZ-USP

⁵ Médica Veterinária do HOVET - FMVZ-USP

Apoio: FAPESP

RESUMO

Estudaram-se 24 cães adultos, com diferentes faixas etárias, com e sem raça definida. O objetivo foi avaliar a eficácia da determinação da hemoglobina glicosilada no diagnóstico e futuro monitoramento dos cães diabéticos sob insulino-terapia. Os animais foram divididos em um grupo controle (constituído de 12 animais saudáveis com níveis glicêmicos em jejum entre 80-120 mg/dl), e um grupo de diabéticos (constituído de 12 animais com níveis glicêmicos em jejum acima de 220 mg/dl e com glicosúria). Determinamos as concentrações de hemoglobina glicosilada em todos os animais. Esses valores foram reavaliados nos animais diabéticos 3 meses após o início da terapia insulínica. Os resultados mostraram valores normais em 100% do grupo controle, porém níveis elevados em todos cães diabéticos não tratados. Após 3 meses de tratamento, 58,34% dos cães diabéticos mostraram valores de hemoglobina glicosilada satisfatórios, além de um bom quadro clínico.

Unitermos: Diabetes mellitus, cães, hemoglobina glicosilada, terapia insulínica

Introdução

Segundo Arduíno et al.¹, a primeira referência sobre Diabetes mellitus data de 1500 A.C. em um documento egípcio "papiro de Ebers" onde se descrevia uma

doença que se caracterizava pela emissão frequente e abundante de urina.

Diabetes mellitus caracteriza-se pelo decréscimo de uso periférico de glicose causado por uma deficiência de insulina relativa ou absoluta, com conseqüente hiper-

glicemia e glicosúria persistente⁵. A insulina é um hormônio polipeptídico hipoglicemiante com 51 aminoácidos, produzido pelas células beta nas ilhotas de Langerhans do pâncreas endócrino^{6, 22}. Esta doença metabólica é mais freqüente em cães entre 5 e 12 anos de idade, sendo duas vezes mais comum em fêmeas e iniciando-se, geralmente, após o estro¹⁶.

Cães e gatos com Diabetes mellitus podem ser categorizados nos tipos insulina-dependentes (DMID) e não insulina-dependentes (DMNID), de modo similar ao que é descrito em humanos. A DMID, forma clínica mais reconhecida nos cães, caracteriza-se por hipoinsulinemia após uma injeção estimulante de glicose, havendo necessidade de injeções de insulina para o controle glicêmico e tendência à cetoacidose. A lesão pancreática mais comum é a redução do número e tamanho das ilhotas e degeneração hidrópica das células beta. A DMNID, mais freqüente em gatos, caracteriza-se por hiperglicemia, resistência à insulina e concentrações normais ou basalmente aumentadas de insulina, e de lenta resposta insulínica aos testes de tolerância à glicose intravenosa inicialmente, com resposta exagerada na segunda hora do teste¹⁷.

A etiologia da Diabetes mellitus em cães é indubitavelmente multifatorial²⁵, e dentre os fatores predisponentes, cita-se: hereditariedade, destruição pancreática por pancreatite, infecção viral ou destruição imune, estro, prenhez, obesidade, hipersecreção ou exposição prolongada aos hormônios diabetogênicos (glucagon, GH, glicocorticóides, epinefrina), administração exógena de glicocorticóides ou progestágenos e estresse crônico¹⁵. NELSON¹⁶ afirma que na presença de hormônios hiperglicemiantes (diabetogênicos), uma maior quantidade de insulina é secretada para manter a euglicemia, resultando em hiperinsulinemia. Com o antagonismo periférico prolongado à insulina, as células beta degeneram-se e a secreção torna-se inadequada, levando à hipoinsulinemia e hiperglicemia.

Os sintomas clínicos da Diabetes mellitus compreendem poliúria e polidipsia compensatória, quando a glicemia atinge 180-220 mg/dl, excedendo o limiar renal²³; polifagia, devido à não penetração de glicose no centro da saciedade; emagrecimento, pela diminuição da utilização de glicose, aminoácidos e ácidos graxos pelos tecidos periféricos, como fígado, músculo e adipócitos, devido a uma deficiência relativa ou absoluta de insulina e também pela perda calórica representada pela glicosúria¹⁷; e formação bilateral de catarata que está relacionada à duração da hiperglicemia¹⁶.

Uma complicação da Diabetes mellitus é a cetoacidose diabética, onde ocorre uma maior mobilização de

estoques calóricos endógenos, particularmente de gordura, elevando os níveis de ácidos graxos livres na circulação. Esse acúmulo de compostos cetônicos, confere ao animal um quadro de acidose metabólica, caracterizado por anorexia, desidratação, emese, diarreia, fraqueza e, até mesmo, coma²⁵. O tratamento, neste caso, envolve a identificação dos fatores precipitantes, a restauração dos eletrólitos e do balanço ácido-básico e a redução da glicose sangüínea¹².

O diagnóstico da Diabetes mellitus deve se basear na hiperglicemia (usualmente acima de 200 mg/dl) e glicosúria persistentes¹⁹. Outros achados laboratoriais freqüentes são hipercolesterolemia, aumento de fosfatase alcalina (FA) e alanino aminotransferase (ALT), hiperbilirrubinemia, cetonemia e azotemia na cetoacidose diabética^{4, 19}.

A maioria dos cães diabéticos necessita de aplicações subcutâneas diárias de insulina¹⁵, associadas a uma terapia dietética com alto teor de fibras e carboidratos, que ajuda a minimizar a hiperglicemia pós-prandial¹⁸.

O monitoramento a longo prazo do cão diabético é de suma importância, uma vez que a regulação da insulino-terapia torna-se, muitas vezes, difícil e frustrante. Ele pode ser obtido através da avaliação de sintomas clínicos persistentes ou recidivantes, níveis de glicose sangüínea, glicosúria e mensuração de frutamina e hemoglobina glicosilada¹⁴.

A glicosilação protéica é um fenômeno amplo que acomete todos os sistemas biológicos, notadamente as proteínas estruturais e séricas. A concentração de hemoglobina glicosilada está diretamente relacionada aos níveis glicêmicos, aos quais o animal foi submetido, por um período prévio de três meses⁸. Isto porque, durante a vida do eritrócito circulante (120 dias), uma fração da hemoglobina (HbA1c) torna-se irreversivelmente ligada à glicose, pois as hemáceas são insulina independentes^{17,9}. A HbA1c é a maior fração da hemoglobina e consiste de duas cadeias alfa e duas cadeias beta. A glicosilação ocorre por meio de uma reação não-enzimática, onde a glicose se combina com o resíduo valina na cadeia beta da fração HbA1c, formando o composto aldimina, o qual passará por alguns reajustes subseqüentes para manter a ligação estável¹¹. Além disso, a ligação irreversível da glicose à hemoglobina promove uma diminuição da liberação de oxigênio aos tecidos, conferindo um estado de hipóxia tecidual. O significado clínico deste fenômeno não está bem estabelecido, visto que o animal é capaz de compensar tal situação com aumento do fluxo sangüíneo via microcirculação. Os eritrócitos também sofrem danos oxidativos, pois a glicosilação da hemoglobina é uma im-

portante fonte de radicais oxigenados por causar uma auto-oxidação⁶.

A mensuração dos níveis de hemoglobina glicosilada é bastante utilizada em humanos diabéticos para indicar o grau de controle glicêmico a longo prazo²⁵. Um estudo comparativo realizado por MAHAFFEY & CORNELIUS (1982), identificou concentrações de hemoglobina glicosilada (fração HbA1c) em cães diabéticos significativamente maiores àquelas encontradas em cães normais e em cães hospitalizados não diabéticos. Estes resultados sugeriram que a mensuração da fração HbA1c pode ser valiosa para uma eficiente monitorização do tratamento insulínico imposto ao cão diabético²⁶.

Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo a avaliação da terapia insulínica a longo prazo imposta ao cão diabético, através da mensuração de hemoglobina glicosilada.

Material e Método

Cães sadios e cães portadores de Diabetes mellitus, atendidos no Serviço de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), que foram divididos em dois grupos, a saber:

• **Grupo 1 (Controle)** - Constituído por doze animais da espécie canina, sem raça definida, clinicamente saudáveis sem qualquer indício de Diabetes mellitus, com níveis glicêmicos entre 80 - 120 mg/dl¹⁵, oriundos do canil da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Este grupo apresentava idade mínima de 1,3 anos e máxima de 4,1 (média de 2,7 anos), sendo quatro fêmeas e 6 machos.

• **Grupo 2** - Constituído por doze animais da espécie canina com quadro sintomatológico compatível com Diabetes mellitus, ou seja níveis glicêmicos acima de 200 mg/dl e glicosúria em jejum¹⁵, de modo que 83,34% dos

animais tinham idade superior a 7 anos. A faixa etária foi de 3 a 13 anos. Quatro cães apresentavam raça definida (dois poodles, um pastor alemão e um beagle) e eram do sexo feminino na sua totalidade (100%).

Não houve restrição sexual, etária ou racial para a escolha dos animais dos grupos 1 e 2, os quais foram submetidos aos seguintes exames laboratoriais: glicemia - método de enzima glicose oxidase², utilizando-se o analisador RA-100 (Technicon Bayer); urinálise (Combur 8-Test Merk) e determinação da porcentagem de hemoglobina glicosilada através do Kit para hemoglobina glicosilada Labtest número de catálogo 17³. Foram coletados de cada animal, 6 ml de sangue, dos quais 2 ml foram destinados à determinação de hemoglobina glicosilada (em tubos Vacutainer BD com fluoreto e EDTA) e 4 ml centrifugados para a obtenção de soro e destinados à mensuração da glicemia. Todos os exames mencionados anteriormente (glicemia, urinálise e concentração de hemoglobina glicosilada) foram efetuados nos cães diabéticos antes do início do tratamento. A glicemia e a urinálise foram determinadas novamente, sempre que necessário, durante o retorno dos mesmos ao Hospital Veterinário. A mensuração da hemoglobina glicosilada foi repetida em um prazo mínimo de 3 meses após o início da terapia insulínica imposta aos cães diabéticos (grupo II), para possibilitar a avaliação da eficácia do tratamento. No que diz respeito aos animais sadios, os exames indicados fo-

Tabela 1 - Grupo I - controle

Exames Animais	Glicemia (mg/dl)	Hb glicosilada (%) t1	Glicosúria	Cetonúria
1	118	6,59	negativo	negativo
2	102	5,14	negativo	negativo
3	118	5,30	negativo	negativo
4	89	5,76	negativo	negativo
5	91	7,06	negativo	negativo
6	100	5,9	negativo	negativo
7	96	6,20	negativo	negativo
8	88	5,02	negativo	negativo
9	85	5,7	negativo	negativo
10	92	5,6	negativo	negativo
11	104	6,16	negativo	negativo
12	102	5,8	negativo	negativo
Média	98,75	5,85		
Desvio padrão	10,88	0,58		

Tabela 2 - Grupo II - Animais diabéticos do tratamento

Exames Animais	Glicemia (mg/dl)	Hb glicosilada (%) t ₁	Glicosúria	Cetonúria
1	522	11,10	++++	++++
2	400	7,69	++++	-
3	260	7,69	+++	-
4	700	8,51	+++	-
5	500	8,72	+++	-
6	472	11,39	++++	++ (+)
7	380	10,2	+++	-
8	404	9,79	++++	++
9	382	7,97	++++	++
10	375	10,09	++++	-
11	384	8,03	+++	-
12	356	9,23	+++	-
Média	427,91	9,20		
Desvio padrão	110,31	1,30		

ram realizados uma única vez. Todas as determinações laboratoriais foram realizadas no Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP.

Resultados e Discussão

De acordo com a Tabela 1, todos os animais do grupo controle assumiram valores normais para as provas laboratoriais testadas, sendo a média dos níveis glicêmicos de 98,75 mg/dl e de 5,85% para as determinações de concentração de hemoglobina glicosilada.

Os valores demonstrados na Tabela 2, permitem-nos a confirmação de que 100% dos animais diabéticos atendidos em nossa rotina apresentaram valores glicêmicos acima de 200 mg/dl¹⁹, estando a média em torno de 427,91 mg/dl e o desvio padrão em 110,31 mg/dl. Todos os animais diabéticos apresentaram glicosúria, enquanto que somente 33,33% apresentaram cetonúria. Esta cetonúria é apenas um reflexo do processo de catabolismo de gordura secundário à não disposição de glicose como fonte energética, uma vez que esses animais não se mostravam anoréticos, desidratados, com diarreia ou episódios eméticos, negando, portanto, um quadro de acidose metabólica¹⁷, ou melhor dizendo, de cetoacidose diabética. A hemoglobina glicosilada, que reflete a glicemia correspondente a um período de 90 dias aproximadamente¹⁷, mostrou-se

acima dos valores de referência na totalidade dos casos de Diabetes mellitus, com uma média de 9,20% e um desvio padrão de 1,30%, sendo os valores de referência para o método utilizado (bulário do kit Labtest®) de 5 a 8%.

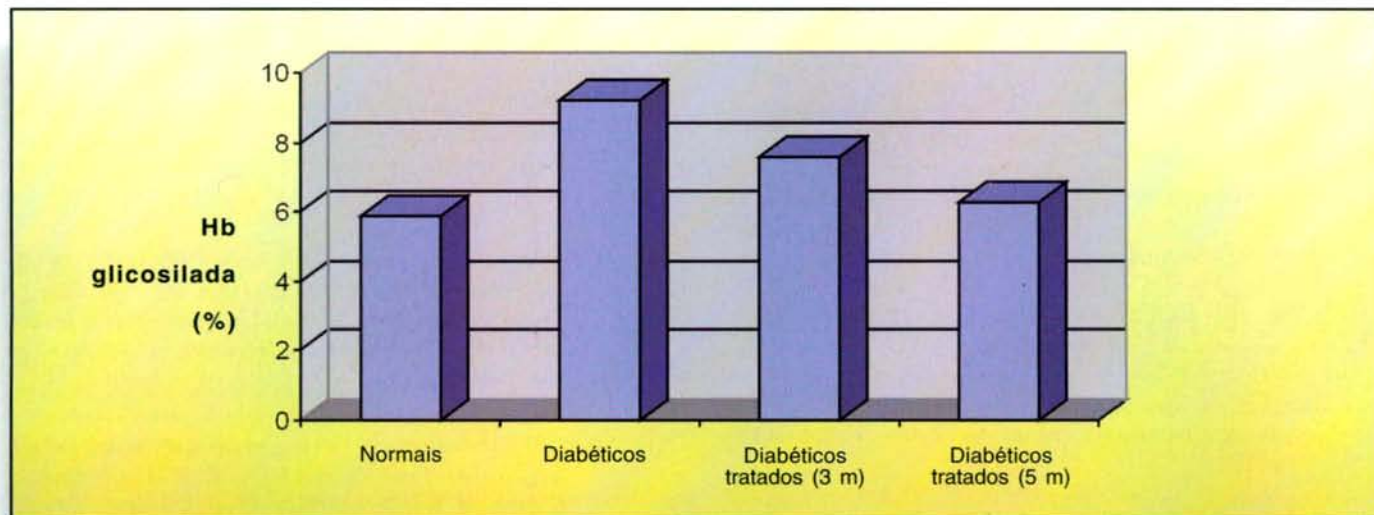
Decorrido o prazo proposto de 90 dias para a reavaliação do controle glicêmico dos animais diabéticos estudados, a partir da insulino-terapia instituída e do controle doméstico (alimentar e atividades físicas), determinaram-se novamente os níveis de hemoglobina glicosilada nos doze animais do grupo inicial, que variaram de 5,04 a 10,21% (Tabela 3).

Os resultados obtidos evidenciaram persistência dos níveis elevados de hemoglobina glicosilada em 41,67% dos animais. Ressalte-se que nesses doze animais controlados, os dados de anamnese e exame físico apontavam para uma boa terapia insulínica e bom controle doméstico. Entretanto os ní-

Tabela 3 - Determinação de hemoglobina glicosilada dos animais diabéticos após 3 e 5 meses de tratamento insulínico

Hemoglobina Glicosilada (%)	Diabéticos após três meses de tratamento	Diabéticos após cinco meses de tratamento
1	10,21	8,0
2	7,65	6,5
3	7,10	6,0
4	8,32	7,2
5	8,0	6,4
6	9,23	7,8
7	8,60	5,8
8	7,65	5,5
9	5,04	5,0
10	5,70	5,2
11	5,37	5,4
12	8,41	6,8
Média	7,60	6,34
Desvio Padrão	1,57	0,90

Figura 1 - Comparação das concentrações de hemoglobina glicosilada de animais normais, diabéticos não tratados, diabéticos tratados há 3 meses e diabéticos tratados há 5 meses



veis ainda elevados de HbA1c em cinco desses animais (41,67%) na ocasião de sua colheita (3 meses após a instituição da insulina) evidenciaram a inadequação de seu quadro metabólico. Porém, cinco meses após a insulino-terapia e, portanto, com melhor controle clínico, os mesmos animais apresentaram níveis de HbA1c dentro dos valores de referência propostos pelo método utilizado neste trabalho³ (kit Labtest), os quais são de 5 a 8%.

Finalmente, a análise estatística através da qual poderemos avaliar a confiabilidade do método de hemoglobina glicosilada para determinar o grau de controle da Diabetes mellitus insulino-dependente (como já atestado nos cães estudados) pela terapia insulínica convencional, foi realizada através do teste não paramétrico *Mann-Whitney Test* na totalidade dos casos atendidos. Constatou-se, assim, que para um $p < 0,0001$ a diferença entre os valores de hemoglobina glicosilada de cães normais e de cães diabéticos é extremamente significativa.

Segue-se na Figura 1, a representação gráfica das comparações entre as médias obtidas dos animais normais e dos animais diabéticos em relação às determinações de hemoglobina glicosilada:

Conclusões

O método de hemoglobina glicosilada se presta à identificação de animais diabéticos, cujos níveis glicêmicos encontram-se elevados por um período aproximado de 90 (noventa) dias e também à monitorização clínica e laboratorial de cães com Diabetes mellitus, os quais foram submetidos à terapia insulínica há pelo menos três meses. Porém, torna-se necessária a extensão desse período para 5 (cinco) meses em determinadas situações onde temos melhora do quadro clínico e persistentes valores elevados de hemoglobina glicosilada, obtendo-se, neste caso, um resultado falso positivo.

SUMMARY

Twenty-four dogs, of different ages and breed (mongrels or not) were studied. The objective of the study was to evaluate the efficacy of determining glycosilated hemoglobin for the diagnosis and future monitoring of diabetic dogs. Animals were divided in a control group (12 healthy animals presenting glycemia levels ranging from 80 to 120 mg/dl, during fasting), and a diabetic group (12 animals presenting glycosuria and glycemia levels up to 220 mg/dl during fasting). Glycosilated hemoglobin concentration was determined for all the animals in the beginning of the study and again after three months of insulin therapy. In the beginning of the trial, normal values for 100% of the control group. For the not treated diabetic group high levels were found. After 3 months of insulin therapy, 58,34% of diabetic animals presented satisfactory levels of glycosilated hemoglobin and good metabolic and clinical characteristics.

Uniterms: Diabetes mellitus, dogs, glycosilated hemoglobin, therapy, insulin.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ARDUÍNO, F. et.al. **Diabetes mellitus e suas complicações**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1962, p.1-6.
- 2 - BORHAM, D; TRINDER, P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxydase system, **The Analyst**. v. 97, p. 142-5, 1972.
- 3 - BUNN, H. F. et.al. Biochemical Biophysical Research Communication. v.67, p.106-9, 1975.
- 4 - BUSH, B. M. Sistema endócrino. In: THOMPSON, D. J. **Medicina e terapêutica canina**. São Paulo: Manole, 1989, p. 260-2.
- 5 - CORNELIUS, L. M. Update on mangement of Diabetes mellitus in dogs and cats. **Modern Veterinary Practice**. v. 66, n. 4, p. 251, 1984.
- 6 - CHRISTOPHER, M. M. Hematologic complications of diabetes mellitus. In: GRECO, D. S.; PETERSON, M. E. **The Veterinary Clinics of North America (Small Animal Practice)**. v.25, n.3,p.626-9,1995.
- 7 - DELACK, J. B.; STOGDALE, L. Glycosylated Hemoglobin Measurement in Dogs and Cats: Implications for its Utility in diabetic monitoring, **Canadian Veterinary Journal**. v.24, p.308, 1983.
- 8 - DICKSON, W. M. Sistema endócrino. In: DUKES, M. J. S. **Fisiologia dos animais domésticos**. 10. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984, p. 674-5.
- 9 - FELDMAN, E. L.; NELSON, R. W. Diabetes mellitus. In: FELDMAN, E. L; NELSON, R. W. **Canine and feline endocrinology and reproduction**.2. ed., Philadelphia : WB Saunders, 1996, p.365-7.
- 10 - HASEGAWA, S.; SAKO, T.; TAKEMURA, N.; KOYAMA, H.; MOTOYOSHI, S. Glycated haemoglobin fractions in normal and diabetic dogs measured by high performance liquid chromatography. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 53, p. 65-8, 1991.
- 11 - IHLE, S. L.; NELSON, R. W. Insulin resistance and diabetes mellitus, **Veterinaria Cremona**. v. 7, n. 2, p. 199, 1993.
- 12 - JENSEN, A. L. Glycated blood proteins in canine diabetes mellitus, **Veterinary Record**. n.137, p.404-5, 1995.
- 13 - MACINTIRE, D. K. Emergency therapy of diabetic crises: insulin overdose, diabetic ketoacidosis, and hyperosmolar coma, **The Veterinary Clinics of North America (Small Animal Practice)**. v.25, n.3, p.639-41, 1995.
- 14 - MAHAFFEY, E. A.; CORNELIUS, L. M. Glycosylated hemoglobin in diabetic and nondiabetic dogs, **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.180, n.6, 1982.
- 15 - MATTHEEUWS, D.; ROTTIERS, R.; KANEKO, J. J.; VERMEULEN, A. Diabetes mellitus in dogs: relationship of obesity to glucose tolerance and insulin response, **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, n. 1, p. 103, 1984.
- 16 - MILLER, E. Long-term monitoring of the diabetic dog and cat. In: GRECO, D.S.; PETERSON, M. E. **The Veterinary Clinics of North America (Small Animal Practice)**. v.25, n.3,p.571-84,1995.
- 17 - NELSON, R. W. Diseases of endocrine pancreas. In: MORGAN, R.V. **Handbook of small animal practice**, London: Churchill Livingstone, 1988, p. 528-9.
- 18 - NELSON, R. W. Disorders of glucose metabolism in the dog. **Veterinary Medicine**. v. 80, n. 1, p. 27-33, 1985.
- 19 - NELSON, R. W. Distúrbios do pâncreas endócrino. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de medicina interna veterinária**. 3.ed., São Paulo: Manole, 1982, v. 3, p. 1752-74.
- 20 - NELSON, R. W.; LEWIS, L. D. Nutritional management of Diabetes mellitus, **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery Small Animal**. v. 5, n. 3, p. 179-85, 1990.
- 21 - NICHOLS, R. Recognising and treating canine and feline Diabetes mellitus, **Veterinary Medicine**. v. 87, n. 3, p. 211, 1992.
- 22 - PENTTILA, I. M.; JOKELA, H. A.; VITALA, A. J.; HEIKKINEN, E.; NUMMI, S.; PYSTYNERN, P.; SAASTAMOINEN, J. Activities of aspartato and alanino aminotransferase and alkaline phosphatase in sera of healthy subjects, **Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation**. v. 35, p. 275-384, 1975.
- 23 - REIMERS, T. **American Journal of Veterinary Research**. v. 43, p. 1274, 1982.
- 24 - SIEDEL, J. **Clinical Chemistry**. v. 29, p. 1075, 1983.
- 25 - SIEGEL, E. T. **Endocrine diseases of the dog**. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1977, p. 113-20.
- 26 - WOLFSHEIMER, K. J. Insulin therapy in dogs and cats, **Canine Practice**. v. 16, n. 6, p. 6, 1991.