

**POLIANA CLAUS SILVA**

**Concentração sanguínea de lactato em cães diabéticos**



**São Paulo  
2013**

**POLIANA CLAUS SILVA**

**Concentração sanguínea de lactato em cães diabéticos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção de título de Mestre em Ciências

**Departamento:**

Clínica Médica

**Área de concentração:**

Clínica Veterinária

**Orientadora:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Denise Saretta Schwartz

**São Paulo**

**2013**

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2829  
FMVZ

Silva, Poliana Claus  
Concentração sanguínea de lactato em cães diabéticos / Poliana Claus Silva. -- 2013.  
70 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2013.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Denise Saretta Schwartz.

1. Cães. 2. Diabetes mellitus. 3. Cetoacidose diabética. 4. Lactato. I. Título.

# BIOÉTICA



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

*Comissão de Ética no uso de animais*

## CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Concentração sanguínea de lactato em cães diabéticos", protocolado sob o nº 2542/2012, utilizando 100 (cem) cães, sob a responsabilidade do(a) Profa. Dra. Denise Saretta Schwartz, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 15/2/2012.

We certify that the Research "Blood lactate concentration in diabetic dogs", protocol number 2542/2012, utilizing 100 (one hundred) dogs, under the responsibility Profa. Dra. Denise Saretta Schwartz, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 2/15/2012.

São Paulo, 16 de fevereiro de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni  
Presidente

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: SILVA, Poliana Claus

Título: **Concentração sanguínea de lactato em cães diabéticos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção de título de Mestre em Ciências

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, que mesmo tendo partido tão cedo, foi fundamental para eu me tornar a pessoa que sou hoje. Onde quer que ela esteja sei que sempre estará ao meu lado, direcionando meus passos e olhando por mim, para que eu consiga realizar meus sonhos e objetivos.

Ao meu pai e minha irmã, por acreditarem e confiarem em mim, me incentivando sempre e ajudando nas minhas escolhas.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu pai e irmã, pela paciência, compreensão, ajuda e carinho durante a realização desse trabalho e em todos os momentos da minha vida. Muito obrigada por serem meu porto seguro, por me fazerem sempre ter a certeza que nunca estarei sozinha.

A minha grande amiga- irmã, Ana Laura, por fazer parte e facilitar tanto a minha vida. Obrigada pelos desabafos, compreensão e carinho.

Ao meu noivo Juliano, pelo companheirismo, paciência e dedicação. Obrigada por estar sempre ao meu lado.

As minhas avós, pelo amor e carinho e também por sempre incentivar e serem orgulhosas da carreira escolhida por mim.

À professora Denise Saretta Schwartz, excelente profissional e amiga, pelos conhecimentos transmitidos, por sua alegria e simpatia, fazendo com que qualquer trabalho realizado ao seu lado seja prazeroso e satisfatório. Obrigada por me acolher como sua orientada e estar sempre presente. Obrigada por me tranquilizar nos momentos de desespero e me transmitir segurança. "..... *But the absence of the light is a necessary part. Just know, you're never alone*". Professora, você é ÚNICA.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro a esse projeto.

As minhas amigas e exemplos profissionais Khadine K. Khanayama e Denise Maria Nunes Simões agradeço pelo auxílio no projeto, pelos ensinamentos de endocrinologia, pela paciência, compreensão, amizade, confiança e motivação.

As veterinárias contratadas da clínica médica, por todas as explicações, ensinamentos, indicações, amizade e carinho.

Aos meus amigos, que me apoiam e compreendem minha ausência.

A Tatiana Pavan, por me acolher em sua casa, pela amizade, “sessões fala que eu te escuto”, pelas risadas e palhaçadas. Tati, você é muito divertida!

Aos amigos André Gimenes e Jacqueline Ribeiro de Castro pela dedicação, competência, compreensão e apoio. Obrigada pelo carinho, amizade e pelos desabafos. Trabalhar em equipe é excelente, principalmente quando é dinâmica e existe muita afinidade.

Aos meus amigos da pós-graduação que fizeram com que esses anos se tornassem prazerosos.

À todos os enfermeiros, principalmente ao Toninho (“Totonho”), por me ajudarem e fazerem com que os dias ficassem mais alegres e divertidos.

Ao pessoal do laboratório: Clara, Creide, Samantha, Maria Helena, Maú, Cláudia, Carmem, Marli e Dinha por toda ajuda na execução dos exames.

Aos residentes e estagiários do HOVET/USP por toda ajuda e indicação dos casos.

Aos cães e a todos os proprietários que participaram do projeto.

À pós-graduação, por permitir esta formação profissional.

Às funcionárias do Departamento de clínica Adelaide, Cida, Silvana, Carol pelo auxílio e paciência.

À bibliotecária Elza, pela compreensão, disposição e auxílio com a dissertação.

À todos os não citados, que de alguma forma, contribuíram para minha formação..... muito obrigada

A Deus, que foi força maior nos momentos de dificuldade.

## RESUMO

SILVA, P. C. **Concentração sanguínea de lactato em cães diabéticos.** [Blood lactate concentration in diabetic dogs]. 2013. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Em humanos, pacientes com diabetes mellitus (DM) podem apresentar aumento da concentração sérica de lactato quando comparados a indivíduos não-diabéticos. Considerando que existem poucas informações quanto aos valores de lactato em cães diabéticos, o objetivo principal desse trabalho foi determinar a concentração do lactato em cães com DM não tratados (ao diagnóstico), cães com DM em tratamento e cães em cetoacidose diabética (CAD), em comparação com cães hígidos. Foram incluídos 86 cães, sendo 25 do grupo controle e 61 diabéticos (14 ao diagnóstico, 24 em tratamento e 23 em cetoacidose diabética), sendo a maioria proveniente da rotina de atendimento do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP, e alguns obtidos em Hospital Veterinário privado. Todos os exames foram processados com os mesmos equipamentos. Os cães diabéticos foram selecionados com base em testes de glicemia, exame de urina e hemogasometria. Somente nos animais do grupo em CAD, foram admitidos pacientes com comorbidades graves, uma vez que estas podem ser responsáveis pela descompensação e que nestes animais indica-se a monitoração da concentração de lactato. Foram excluídos animais em sepse/ choque séptico ou choque cardiogênico, considerando que estas condições causam alteração do lactato. Não houve diferença estatística significativa entre os quatro grupos, quando se excluiu CAD, e nem mesmo quando observados pares de grupos isolados ( $P > 0,05$ ). A existência de correlação positiva do lactato com a concentração de glicose referida por outros autores aumenta a possibilidade da acidose láctica na CAD não ser somente causada pela hipoperfusão como também pela alteração do metabolismo da glicose, merecendo maior investigação a respeito do seu papel na fisiopatologia do DM e nas suas complicações.

Palavras-chave: Cães. Diabetes mellitus. Cetoacidose diabética. Lactato.

## ABSTRACT

SILVA, P. C. **Blood lactate concentration in diabetic dogs.** [Concentração sanguínea de lactato em cães diabéticos]. 2013. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

In humans, diabetes mellitus (DM) patients may present increased lactate levels compared to non-diabetics. Considering that there is little information regarding lactate levels in diabetic dogs, the main goal of this study was the determination of lactate concentration in diabetic dogs at diagnosis, under treatment and in ketoacidosis (DKA), compared to healthy dogs. Eighty six dogs were included: 25 controls and 61 diabetics (14 at diagnosis, 24 under treatment, and 23 in DKA), most patients from the Veterinary Teaching Hospital, School of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, and a few from a private Veterinary Hospital. All the laboratory analyses were performed with the same equipments. The diabetic dogs were selected based on glycemia levels, urinalysis and blood gas analysis. Only the DKA patients were allowed to have comorbidities, since these may be the cause of decompensation. Patients with sepsis/ septic shock or cardiogenic shock were excluded, as these conditions may lead to lactate changes. There was no difference in lactate levels among groups when compared all together, when excluding DKA group or even when compared as isolated pairs ( $P>0.05$ ). The existence of a positive correlation between lactate concentration and glycemia referred by other authors, suggests that lactic acidosis seen in DKA may not be only due to poor perfusion, but also due to changes in glucose metabolism, therefore lactate levels deserves further investigation regarding its role in DM pathophysiology and complications.

Keywords: Dogs. Diabetes mellitus. Diabetic ketoacidosis. Lactate.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Glicólise, ciclo de Kreb`s e fosforilação oxidativa.....	21
Figura 2 -	Via de formação do D- lactato.....	27

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Intervalo interquartílico (caixas), mediana (traços horizontais) e variação (traços verticais) dos valores de glicemia nos grupos de animais estudados (controle, ao diagnóstico, em tratamento e em CAD). CAD: cetoacidose diabética, São Paulo- fev 2011- mar 2013.....	40
Gráfico 2 - Box plot (mediana, $P_{25}$ e $P_{75}$ e outliers) da concentração do lactato nos diferentes grupos.....	49
Gráfico 3 - Concordância (Bland-Altman) entre os métodos i-STAT e análise laboratorial para medida do lactato mmol/L).....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estatística descritiva e comparação entre os grupos para o gênero, idade e peso da amostra populacional estudada.....	39
Tabela 2 - Estatística descritiva para glicemia e frutossamina de cada grupo e valores de P para comparação entre grupos.....	41
Tabela 3 - Estatística descritiva para frutossamina em cada grupo.....	42
Tabela 4 - Distribuição de animais no grupo em tratamento segundo o controle glicêmico avaliado pela concentração de frutossamina sérica e valor de P do teste de associação com o estado de compensação avaliada clinicamente.....	43
Tabela 5 - Modelos propostos com base nos valores de sensibilidade e especificidade obtidos a partir da curva ROC para determinação de pontos de corte para o $\beta$ -OHB, e respectivos valores preditivo positivo e negativo, e probabilidade pós-teste.....	44
Tabela 6 - Distribuição dos casos quanto ao diagnóstico de CAD e associação com positividade ou não em relação aos pontos de corte propostos à partir da curva ROC, considerando diferentes graus de maximização da sensibilidade e especificidade e ponto de corte proposto na literatura.....	46
Tabela 7 - Estatística descritiva da concentração de lactato para cada grupo e valores de P para comparação entre grupos.....	48
Tabela 8- Valores de P das comparações entre pares de grupos isolados para a concentração de lactato.....	48
Tabela 9 - Correlação de Spearman entre lactato e medidas de glicemia, frutossamina, $\beta$ -OHB, $svO_2$ e Hb.....	49

## LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A -	Características dos cães incluídos no grupo controle.....	64
Apêndice B -	Características dos cães incluídos no grupo ao diagnóstico.....	65
Apêndice C -	Características dos cães incluídos no grupo em tratamento.....	66
Apêndice D -	Características dos cães incluídos no grupo em CAD.....	67
Apêndice E -	Valores da determinação do lactato, glicemia, frutosemina sérica e $\beta$ -OHB dos cães incluídos no estudo.....	68
Apêndice F -	Comparação entre os valores de lactato obtidos aparelho portátil (I-Stat) e laboratório.....	70

## LISTA DE ABREVIATURAS

[HCO <sub>3</sub> ]:	concentração plasmática do bicarbonato;
(Ca <sup>2+</sup> ):	cálcio ionizável plasmático;
(Cl <sup>-</sup> ):	cloro plasmático;
(K <sup>+</sup> ):	potássio plasmático;
(Na <sup>+</sup> ):	sódio plasmático;
AA:	acetoacetato;
AG:	<i>anion gap</i> ;
AGL:	ácidos graxos livres;
ALT:	alanino transaminase
ATP:	adenosina trifosfato;
BE:	déficit de base;
CAD:	cetoacidose diabética;
CHCM	concentração de hemoglobina corpuscular média
DM:	diabetes <i>mellitus</i> ;
DP:	desvio padrão;
FA:	fosfatase alcalina;
F:	fêmea;
FC:	fêmea castrada;
FMVZ:	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia;
HAC:	hiperadrenocorticismo;
Hb:	hemoglobina;
HCM	hemoglobina corpuscular média;
M:	macho;
MC:	macho castrado;
Máx:	valores máximos;
Med:	mediana;
MG:	metilglioxal;
Min:	valores mínimos;
n:	estatística de frequência absoluta;
NAD <sup>+</sup> :	nicotinamida adenina dinucleotídeo;
pCO <sub>2</sub> :	pressão parcial de dióxido de carbono;
PD:	polidipsia;

Per:	percentis;
PF:	polifagia;
PP:	perda de peso;
PU:	poliúria;
r:	coeficiente de correlação;
RP:	resíduo padronizado;
svO <sub>2</sub>	saturação sanguínea venosa de oxigênio;
SPSS :	<i>Statistical Package for the Social Science</i> ;
TCO <sub>2</sub> :	dióxido de carbono total;
USP:	Universidade de São Paulo;
VCM	volume corpuscular médio;
VPN:	valor preditivo negativo;
VPP:	valor preditivo positivo;
β-OHB:	β-hidroxibutirato sérico.

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\leq$	menor ou igual
$\geq$	maior ou igual
%	porcentagem
®	marca registrada

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>21</b>
<b>3</b>	<b>HIPÓTESE</b> .....	<b>30</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>31</b>
	4.1 OBJETIVO PRICIPAL.....	31
	4.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	31
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
	5.1 ANIMAIS.....	32
	5.2 EXAME CLÍNICO.....	33
	5.3 HEMOGRAMA.....	33
	5.4 BIOQUÍMICA SÉRICA.....	34
	5.5 HEMOGASOMETRIA VENOSA E ELETRÓLITOS.....	34
	5.6 EXAME DE URINA E UROCULTURA.....	35
<b>6</b>	<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>36</b>
<b>7</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>
	7.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA E EXAMES LABORATORIAIS.....	38
	7.2 CARACTERISTICA DA AMOSTRA EM RELAÇÃO AO LACTATO.....	48
<b>8</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>51</b>
<b>9</b>	<b>LIMITAÇÕES DO ESTUDO</b> .....	<b>57</b>
<b>10</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>58</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>59</b>
	<b>APÊNDICES</b> .....	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A mensuração do lactato consiste numa abordagem alternativa para determinar se os tecidos estão recebendo perfusão e conseqüentemente, oxigênio suficiente. A oxigenação inadequada está diretamente correlacionada com doença e morte (HUGHES et al., 1999; NEMEC et al., 2003; THORNELOE; BÉDARD; BOYSEN, 2007; TAS et al., 2008; ZACHER et al., 2010). Algumas doenças levam à acidose láctica não por causarem hipoperfusão, mas por diminuírem a remoção do lactato da circulação, como, por exemplo, doenças hepáticas agudas fulminantes, sepse, insuficiência renal, neoplasia e diabetes *mellitus* (DM) (HUGHES et al., 1999; PHYPERS; PIERCE, 2006; ALLEN; HOLM, 2008; ZACHER et al., 2010), bem como por disfunção mitocondrial ou do metabolismo de carboidrato (ALLEN; HOLM, 2008).

A cetoacidose diabética (CAD) está entre as causas de acidose metabólica com alto *anion gap* (AG) que não se consegue explicar completamente, mesmo considerando o beta hidroxibutirato ( $\beta$ -OHB), porém, alguns trabalhos mostram que alguns ânions não medidos, incluindo o D-lactato contribuem para esse aumento (LU et al., 2011).

Em humanos foi determinado que a concentração de lactato em pacientes com DM com discreta intolerância à glicose (glicose > 175 mg/dL) e DM com importante intolerância à glicose (glicose > 250 mg/dL) foi significativamente maior do que o controle durante as 24 horas, além disso a concentração de lactato nos pacientes com importante intolerância à glicose foi maior que naqueles com intolerância discreta (REAVEN et al., 1988). Em outros estudos, pacientes com DM tipo I estáveis (não complicados), o lactato é consistentemente mais elevado que em indivíduos normais e na CAD, no entanto, 10 a 15% dos pacientes apresentam a concentração de lactato ainda mais elevada (> 5 mmol/L). Esse fato é causado, presumivelmente, devido à hipotensão, alteração hepática e hipoperfusão nos tecidos, bem como pela adrenalina e cortisol, onde ambos são responsáveis pelo aumento na concentração de lactato no sangue (BECKER, 2001).

A acidose láctica tem sido relatada em pacientes humanos diabéticos sem terapia específica, porém não se sabe a razão (BECKER, 2001) e pode ocorrer em cães com CAD contribuindo para a acidose metabólica (ALLEN; HOLM, 2008). Em

medicina humana a determinação do lactato sanguíneo é utilizada para avaliar estados de acidose láctica (HUGHES et al., 1999; NEMEC et al., 2003; PHYPERS; PIERCE, 2006; ALLEN; HOLM, 2008; SHEIKH-ALI et al., 2008). Há na literatura pouca referência quanto à concentração de lactato em cães diabéticos, desta forma, é importante a determinação de sua concentração nas diferentes apresentações do DM, com finalidade de interpretação de resultados em situações que podem estar relacionadas à alterações na concentração de lactato.

Considerando estes achados, as perguntas a serem respondidas com este estudo são:

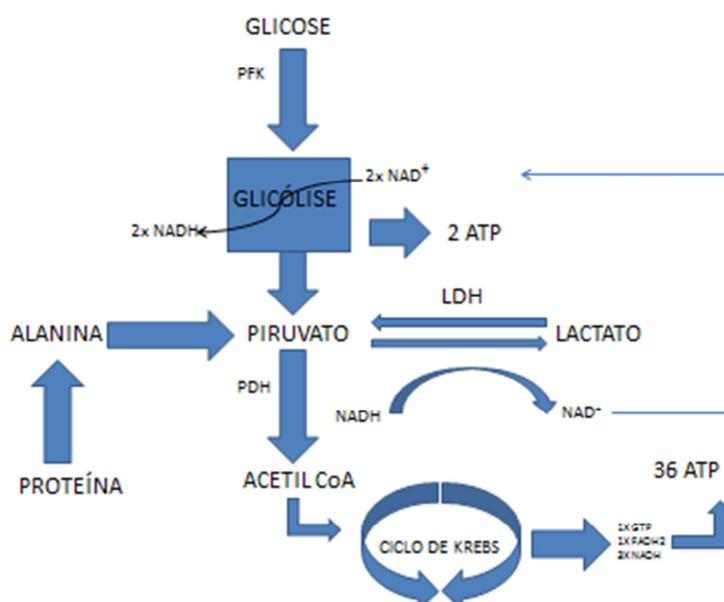
1. cães diabéticos não tratados e em tratamento possuem concentração de lactato maior que de cães hípidos?
2. A concentração de lactato é diferente comparada a cães em CAD?

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A glicólise é o primeiro passo do metabolismo da glicose e é um processo anaeróbico que ocorre no citoplasma das células e resulta na produção de piruvato. Todas as células são capazes de realizar glicólise, com maior proporção no cérebro, coração e músculo esquelético. O metabolismo da glicose em piruvato é responsável pela redução da enzima  $\text{NAD}^+$  (nicotinamida adenina dinucleotídeo) em  $\text{NADH}$  e a produção de duas moléculas de ATP (adenosina trifosfato), a principal fonte de energia usada como combustível pelos processos celulares (BILLAT et al., 2003; ALLEN; HOLM, 2008).

Em condições aeróbias, o piruvato se difunde para as mitocôndrias das células, entra no ciclo de Krebs resultando em 36 moléculas de ATP e oxidação da  $\text{NADH}$  em  $\text{NAD}^+$ . Nas células que não apresentam mitocôndria, como as hemácias, o piruvato é convertido em lactato, e essa conversão permite a oxidação da  $\text{NADH}$  em  $\text{NAD}^+$  permitindo a continuação da glicólise (BILLAT et al., 2003; NEMEC et al., 2003; PHYPERS; PIERCE, 2006; ALLEN; HOLM, 2008) (Figura 1).

Figura 1- Glicólise, ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa



Fonte: Modificado de PHYPERS; PIERCE, 2006.

Legenda: PFK: fosfofrutoquinase, PDH: piruvato dehidrogenase, LDH: lactato dehidrogenase

O lactato produzido é transportado para outros tecidos que são capazes de utilizá-lo para produção de energia. No rim, coração e fígado o lactato é convertido em piruvato e então transportado para a mitocôndria para produção de ATP. No fígado e rim, o lactato pode ser convertido em glicose via gliconeogênese. Essa glicose pode ser estocada na forma de glicogênio ou utilizada por outras células e tecidos (PHYPER; PIERCE, 2006; ALLEN; HOLM, 2008).

A produção de ácido láctico aumenta à medida que a perfusão e oxigenação tecidual diminuem. O ácido láctico difunde-se imediatamente para o fluido extracelular e se dissocia em íon hidrogênio e lactato (EVANS; DUNCAN, 2003). Contudo, mesmo tecidos bem oxigenados podem em certas condições, gerar lactato através da glicólise aeróbica (BILLAT et al., 2003; LAMB et al., 2006; PHYPER; PIERCE, 2006; ALLEN; HOLM, 2008).

A mensuração do lactato consiste numa abordagem alternativa para determinar se os tecidos estão recebendo perfusão e conseqüentemente, oxigênio suficiente. A oxigenação inadequada está diretamente correlacionada com doença e morte (HUGHES et al., 1999; NEMEC et al., 2003; BOYSEN, 2007; THORNELOE et al., 2007; TAS et al., 2008; ZACHER et al., 2010).

Em condições normais o músculo esquelético, cérebro, coração, pele, intestino e as hemácias produzem lactato e existe um equilíbrio entre a produção e o consumo. Fígado e rim são responsáveis pela remoção e metabolização do lactato produzido. O aumento na sua concentração ocorre quando existe um desequilíbrio entre a produção e o consumo, seja por excesso de produção, insuficiente utilização ou ambos (BILLAT et al., 2003; LAMB et al., 2006; PHYPER; PIERCE, 2006; ALLEN; HOLM, 2008; ZACHER et al., 2010; ).

O valor de referência utilizado para avaliar a concentração do lactato plasmático de cães adultos e hípidos apresenta intervalo de 0.3- 2.5 mmol/L, não apresentando diferença no estudo realizado com filhotes a partir de 70 dias (ALLEN; HOLM, 2008).

Em medicina humana a determinação do lactato sanguíneo é utilizada para avaliar estados de acidose láctica. Hiperlactatemia é definida como um aumento da concentração plasmática de lactato acima do normal, porém com pH corporal normal. Já a acidose láctica é definida como a elevação da concentração plasmática de lactato, normalmente 5 mmol/L ou mais, que resulta na diminuição do pH arterial

abaixo de 7.35 (HUGHES et al., 1999; NEMEC et al., 2003; PHYPERS; PIERCE, 2006; ALLEN; HOLM, 2008; SHEIKH-ALI et al., 2008).

Acredita-se que algumas doenças levam à acidose láctica não por causarem hipoperfusão, mas por diminuírem a remoção do lactato da circulação, como exemplo doenças hepáticas agudas fulminantes, sepse, insuficiência renal, neoplasia e DM (HUGHES et al., 1999; PHYPERS; PIERCE, 2006; ALLEN; HOLM, 2008; ZACHER et al., 2010), bem como por disfunção mitocondrial ou do metabolismo de carboidrato (ALLEN; HOLM, 2008).

O DM é uma das endocrinopatias mais comuns na clínica de pequenos animais (HESS et al., 2000; BENNETT, 2002) e resulta na deficiência absoluta ou relativa de insulina, decorrente da secreção insulínica deficiente pelas células beta, o que por sua vez provoca uma utilização tissular reduzida da glicose, dos aminoácidos e dos ácidos graxos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 1997).

O resultado final consiste em perda da função da célula beta, hipoinsulinemia, dificuldade no transporte de glicose da circulação para a maioria das células, aumento da gliconeogênese (síntese de glicogênio a partir de produtos do metabolismo das proteínas e gorduras) e glicogenólise (degradação de glicogênio para formação de glicose) hepática. Dessa maneira, a hiperglicemia é resultante da menor utilização de glicose pelos tecidos periféricos (tecido adiposo e muscular) e aumento da gliconeogênese e da glicogenólise hepática (FELDMAN; NELSON, 2004).

O limiar de reabsorção tubular renal de glicose é excedido com o aumento da concentração plasmática de glicose, resultando em glicosúria persistente e conseqüentemente diurese osmótica, responsável pelo aparecimento das manifestações clínicas do DM: poliúria (PU) e polidipsia (PD) compensatória (BRUYETTE, 1997; FELDMAN; NELSON, 2004).

Sendo a insulina um hormônio anabólico, sua deficiência leva ao aumento do catabolismo de proteína, resultando na perda de peso (PP) e atrofia muscular (MACINTIRE, 1995).

A perda da função das células beta é irreversível o que torna imperativa a terapia com insulina durante toda a vida, para a manutenção do controle glicêmico e do estado diabético (GRECO, 1997; FELDMAN; NELSON, 2004; BARONE et al., 2007).

Uma das complicações mais graves e mais frequentes do DM em pequenos animais é a cetoacidose diabética, sendo caracterizada por alterações metabólicas incluindo hiperglicemia, acidose metabólica, cetonemia, desidratação e perda de eletrólitos (MANCITIRE, 1993; HESS et al., 2000; CONNALLY, 2002; HUME et al., 2006; BOYSEN, 2008; MACIEL, 2009).

A deficiência absoluta ou relativa de insulina, combinada a um excesso de hormônios hiperglicemiantes (catecolaminas, glucagon, cortisol e hormônio do crescimento) resulta na CAD (MANCITIRE, 1993; MANCITIRE, 1995; BRUYETTE, 1997; CONNALLY, 2002; HUME et al., 2006; BOYSEN, 2008). A deficiência de insulina, que é o evento desencadeador da cetogênese, pode ser absoluta, quando as concentrações plasmáticas são baixas ou não detectáveis, por exemplo, nos animais diabéticos não diagnosticados ou com insulina inadequada. Entretanto a deficiência relativa pode ocorrer em animais recebendo a dose adequada de insulina, mas com fatores que levam à resistência à insulina, como processos infecciosos, diestro e hiperadrenocorticism (HAC) (NICHOLS, 1995; NICHOLS, 1997; FELDMAN; NELSON, 2004; HUME et al., 2006).

A mortalidade decorrente da CAD em cães é de aproximadamente 30% a 40% (MANCITIRE, 1995; FELDMAN; NELSON, 2004).

As alterações no metabolismo dos lipídeos são responsáveis pelas principais desordens presentes na CAD. Na deficiência de insulina ocorre aumento da lipólise (quebra de triglicérides em ácidos graxos e glicerol) (MANCITIRE, 1995; GRECO, 1997). No fígado, os ácidos graxos livres (AGL), podem ser incorporados na forma de triglicérides e utilizados no ciclo de Krebs ou convertidos em corpos cetônicos. Na falta de insulina ocorre uma utilização maior dos ácidos graxos e formação de corpos cetônicos (acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato e acetona). Os AGL produzidos pela lipólise são utilizados nos tecidos periféricos como substrato de energia (BARONE, 2007).

Em pH fisiológico, os ácidos acetoacético e  $\beta$ -hidroxibutírico se dissociam, e os íons hidrogênio resultantes são tamponados, principalmente pelo bicarbonato plasmático. Entretanto, na CAD, a carga de íons hidrogênio gerada durante a produção exacerbada de corpos cetônicos excede a capacidade de tamponamento do sangue e resulta em cetose e acidose metabólica (BRUYETTE, 1997; CONNALLY, 2002; BARONE, 2007).

As manifestações clínicas da CAD em cães incluem: poliúria, polidipsia, perda de peso, letargia, depressão, anorexia, êmese, desidratação, dor abdominal, taquipnéia e hálito cetônico (DUARTE et al., 2002; BARONE, 2007; BOYSEN, 2008).

A cetonemia gerada contribui para o agravamento do quadro clínico do paciente, pois os corpos cetônicos estimulam os centros quimiorreceptores nervosos, piorando o quadro de dor abdominal, êmese, anorexia e náusea (BRUYETTE, 1997; DUARTE et al., 2002).

A glicosúria, a eliminação de ânions cetônicos e eletrólitos pela urina, decorrente da hiperglicemia e cetose, determinam o desenvolvimento da diurese osmótica (MACINTIRE, 1995; GRECO, 1997; FELDMAN; NELSON, 2004).

A perda de água pela urina, somada às perdas adicionais de líquidos por êmese e hiperventilação contribuem para o desenvolvimento da desidratação, reduzindo a taxa de filtração glomerular e favorecendo o acúmulo de corpos cetônicos e glicose no sangue. A hipovolemia grave associada à acidose metabólica e doenças concorrentes, contribui para o desenvolvimento de insuficiência renal aguda e choque durante a progressão da CAD (GRECO, 1997; FELDMAN; NELSON, 2004; BARONE, 2007).

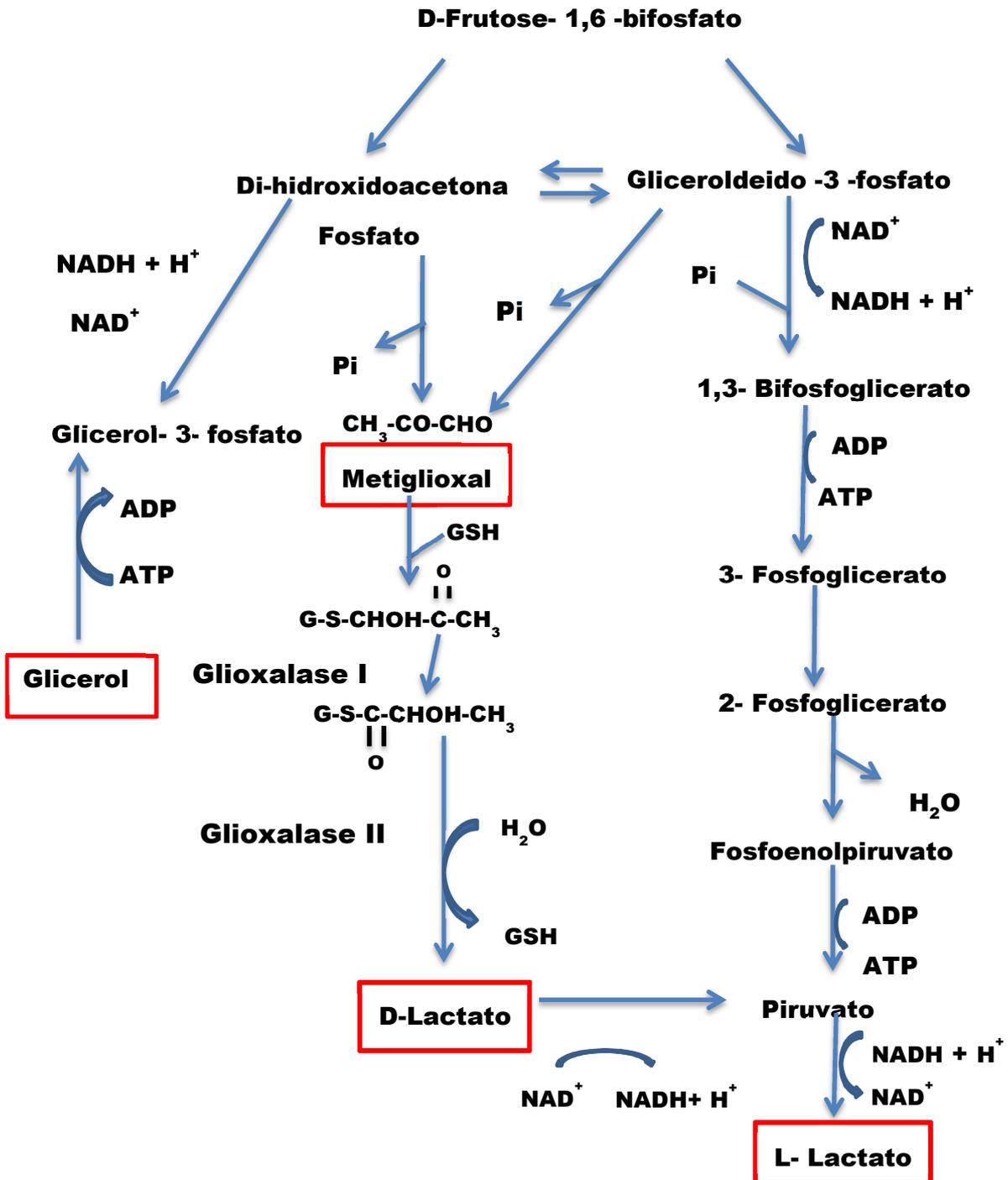
Em situações de estresse e em resposta a várias doenças, ocorre um aumento na produção dos hormônios contrarreguladores, e embora essa resposta seja benéfica, na CAD a ação desses hormônios que são antagonistas da insulina piora a hiperglicemia e cetonemia, provocando acidose, perda de fluidos e hipotensão, o que perpetua a alteração metabólica (MANCITIRE, 1995; BARONE, 2007).

Nessa condição, o aumento da diferença aniônica é presumivelmente devido a uma concentração excessiva de corpos cetônicos no sangue (acetona, acetoacetato, e  $\beta$ -hidroxibutirato). A dosagem de cetonas utilizada na rotina clínica representa principalmente a quantidade de ácido acetoacético e acetona através da reação com o nitroprussiato, enquanto que a mensuração do principal corpo cetônico presente na CAD, o  $\beta$ -OHB, é normalmente perdida (SHEIKH-ALI et al., 2008). No entanto, os dados laboratoriais e clínicos demonstraram que as concentrações de corpos cetônicos, mesmo incluindo  $\beta$ -hidroxibutirato, não pode explicar totalmente o aumento da diferença aniônica, indicando fontes adicionais de produção do *anion gap* (LU et al., 2011). Estudos recentes têm mostrado que certos

ânions não mensurados, incluindo ácido D-láctico, estão aumentados e podem contribuir para o aumento do AG na acidose metabólica (FORNI et al., 2005).

O lactato é um ácido hidroxicarboxílico e que existe no organismo como dois estereoisômeros, L-lactato e de D-lactato, sendo que o L-lactato representa a maior proporção, e pode contribuir para a acidose metabólica. Em condições fisiológicas o D-lactato também está presente no corpo humano, mas apenas em concentrações baixas, o que representa 1-5% de L-lactato. O L-lactato é formado no corpo a partir do ácido pirúvico na glicólise anaeróbica, ao passo que D-lactato é um produto do metabolismo do metilglioxal (MG) através da via glioxalase (Figura 2).

Figura 2 - Via de formação do D- lactato



Fonte: Modificado de Kondoh et al. (1992).

A MG é um metabólito da glicose endógena que normalmente é produzido apenas em pequenas quantidades a partir do metabolismo basal de lipídios, carboidratos e proteínas. No entanto, em distúrbios hiperglicêmicos, como DM, a produção de MG pode ser acentuadamente aumentada e está associado com o desenvolvimento das complicações da DM. Conseqüentemente as concentrações de D-lactato no sangue também devem ser significativamente aumentada em desordens hiperglicêmicas (LU et al., 2011; TSUTSUI et al., 2012).

Altas concentrações de D-lactato podem induzir uma grave acidose metabólica, a acidose láctica, e está associada com sintomas neurológicos e encefalopatia. O aumento das concentrações sanguíneas de D-lactato é observado em pacientes com diabetes, e em particular na CAD, em ambos os animais e seres humanos (KONDOH et al., 1992). A concentração de D-lactato em pacientes diabéticos é duas vezes a concentração de D-lactato em pacientes saudáveis (LU et al., 2011).

O lactato é utilizado como indicador de prognóstico na admissão e monitoração de pacientes criticamente doentes. Em humanos, observou-se concentração de lactato mais elevada em indivíduos obesos com DM tipo 2 em comparação com indivíduos não-obesos, e intermediária em indivíduos obesos com tolerância normal à glicose (CHEN et al., 1993). Em outro estudo foi observado que a diminuição da atividade da insulina em pacientes diabéticos, com importante intolerância à glicose, pode ter sido responsável pelo aumento da concentração sérica de lactato, ácidos graxos livres e aumento da produção de glicose hepática (REAVEN et al., 1988).

Estudos mostram que nos humanos com DM tipo I estáveis (não complicados), o lactato é consistentemente mais elevado (1 a 2 mmol/L) que em indivíduos normais (0,4- 1,0 mmol/L) e na CAD, no entanto, 10 a 15% dos pacientes apresentam a concentração de lactato ainda mais elevada (> 5 mmol/L). Esse fato é causado, presumivelmente, devido à hipotensão, alteração hepática e hipoperfusão nos tecidos, bem como pela adrenalina e cortisol, onde ambos são responsáveis pelo aumento na concentração de lactato no sangue. A acidose láctica tem sido relatada em pacientes humanos diabéticos sem terapia específica, porém não se sabe a razão (BECKER, 2001). Em pacientes que apresentam acidose diabética, é importante diferenciar entre acidose láctica e cetoacidose, uma vez que cada uma requer um tratamento diferente (CASTAGNINO; REUSSI, 1998).

A correlação positiva entre o lactato e a glicose levanta a possibilidade de que a acidose láctica na CAD pode ser devido não só à hipoperfusão, mas também pelo metabolismo alterado da glicose (COX et al., 2012).

Um estudo em que o lactato foi mensurado em cães com DM (37 cães em tratamento, seis com CAD e cinco com cetose mas sem acidose) comparados a cães saudáveis, houve diferença significativa em relação ao lactato entre os dois grupos, no entanto a hiperlactatemia não estava associada à acidose (DUROCHER et al., 2008).

A concentração de lactato sanguíneo tem sido determinada em cães normais e em diferentes situações clínicas, utilizando-se instrumento portátil para a análise (STEVENSON et al., 2007; THORNELOE et al., 2007; FERASIN; NGUYENBA, 2008; TAS et al., 2008; HAGMAN et al., 2009).

Em humanos foi determinado que a concentração de lactato em pacientes com DM com discreta intolerância à glicose (glicose > 175 mg/dL) e DM com importante intolerância à glicose (glicose > 250 mg/dL) foi significativamente maior do que o controle durante as 24 horas, além disso a concentração de lactato nos pacientes com importante intolerância à glicose foi maior que naqueles com intolerância discreta (REAVEN et al., 1988).

A determinação da concentração de lactato nas diferentes apresentações do DM pode contribuir com a interpretação dos resultados em situações que possam estar relacionadas a alterações na sua concentração.

### **3 HIPÓTESE**

A hipótese deste estudo é de que a concentração de lactato sanguíneo em cães diabéticos tratados e não tratados será maior que de cães controle e cães em CAD apresentarão valores mais elevados que os diabéticos não-cetoacidóticos, mesmo que dentro dos valores de referência.

## 4 OBJETIVO

### 4.1 OBJETIVO PRICIPAL

O presente estudo teve como objetivo determinar a concentração do lactato em cães com diabetes mellitus não tratados (ao diagnóstico), cães com DM em tratamento e cães em cetoacidose diabética, ao diagnóstico, em comparação com cães hígidos.

### 4.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Verificar se existe concordância entre o lactato medido no laboratório e no equipamento portátil (i-STAT) e se existe correlação entre:

- lactato e glicemia
- lactato e SvO<sub>2</sub>
- lactato e  $\beta$ -OHB
- lactato e frutamina
- lactato e hemoglobina

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 ANIMAIS

Foram incluídos 86 cães, sendo 25 do grupo controle e 61 diabéticos (14 ao diagnóstico, 24 em tratamento e 23 em cetoacidose diabética). A maioria dos animais (n= 80) foi proveniente da rotina de atendimento do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia- USP e os outros seis cães foram atendidos em Hospital Veterinário privado. Os cães diabéticos foram selecionados com base em testes de glicemia, exame de urina e hemogasometria. Exames complementares foram realizados para a avaliação clínica geral e condução adequada do tratamento.

Os cães não diabéticos (n=25) foram utilizados como controle. Foram excluídos dos grupos controle, diabético ao diagnóstico e em tratamento, os animais com insuficiência hepática aguda, insuficiência renal, insuficiência cardíaca, doença respiratória avançada, neoplasia, animais em tratamento com anticonvulsivantes, choque cardiogênico, séptico e hipovolêmico, visto que estes podem alterar a concentração de lactato.

Para os animais em cetoacidose diabética, os critérios de exclusão adotados foram menos abrangentes, devido ao fato da maioria dos cães em CAD apresentar comorbidades geralmente relacionadas à descompensação, e que estes animais são aqueles para os quais é indicada a monitoração da concentração de lactato. Nestes casos, só foram excluídos aqueles que apresentaram sepse/ choque séptico ou choque cardiogênico, que sabidamente causam alteração na concentração de lactato.

Para cada animal selecionado foi feito o exame clínico completo, hemograma, perfil renal e hepático, glicemia, exame de urina, hemogasometria, dosagem de eletrólitos (sódio, potássio, cálcio ionizado e cloro), concentração de lactato, beta-hidroxi-butilato, frutossamina sérica, triglicérides e colesterol.

Como não há na literatura veterinária um consenso sobre valores específicos para bicarbonato e pH sanguíneo (MACINTIRE, 1993; BRUYETTE, 1997;

FELDMAN; NELSON, 2004) optou-se por utilizar para diagnóstico de CAD valores recomendados na medicina humana (acidemia, ou seja, pH sanguíneo < 7,3) ou acidose ( $[HCO_3^-] < 15$  mEq/L) associado à presença de cetonúria ou cetonemia e hiperglicemia (> 250 mg/dL) (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 1997), associados às manifestações clínicas compatíveis com doença metabólica grave (anorexia ou disorexia e êmese), critérios semelhantes aos utilizados por Durocher et al. (2008). As amostras foram coletadas imediatamente após a admissão ou até 4 horas após o início do tratamento com insulina regular.

Cada paciente foi incluído no grupo de estudo apenas uma vez (primeira admissão).

## 5.2 EXAME CLÍNICO

Foram realizados anamnese e exame físico dos cães com intuito de selecionar os animais que compuseram os grupos instituídos. Os cães foram examinados, observando-se a coloração de mucosas, tempo de preenchimento capilar, a hidratação e a temperatura corporal; realizou-se ainda a palpação abdominal, a auscultação da área cardíaca e pulmonar e a avaliação do pulso.

## 5.3 HEMOGRAMA

A contagem de células sanguíneas e seus parâmetros (contagem de hemácias, concentração de hemoglobina, determinação do hematócrito, VCM (volume corpuscular médio), HCM (hemoglobina corpuscular média), CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média), contagem total de leucócitos e contagem de plaquetas) foram efetuados em equipamento automático, para uso veterinário, da marca Horiba ABX®, modelo ABC Vet. Os esfregaços de sangue para contagem diferencial de leucócitos totais foram confeccionados no momento da colheita das amostras e corados pela técnica de Rosenfeld. A contagem diferencial dos leucócitos foi realizada por microscopia de luz do esfregaço sanguíneo,

conforme rotina do Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/Hospital Veterinário da FMVZ/USP.

#### 5.4 BIOQUÍMICA SÉRICA

Foram realizados as dosagens de uréia e creatinina séricas, atividade da alanino transaminase(ALT) e fosfatase alcalina (FA), albumina sérica, proteína total, colesterol, triglicérides e frutossamina sérica. As amostras foram coletadas e transferidas para tubo contendo gel separador do soro e centrifugada a 3.000 rotações por minuto (rtm) durante 5 minutos, utilizando o aparelho Labmax 240, de acordo com as técnicas empregadas no Serviço de Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/ Hospital Veterinário da FMVZ-USP. A concentração da glicemia, beta-hidroxiacetato e lactato foram determinadas em sangue total fresco, imediatamente após a coleta, utilizando-se, respectivamente, analisadores automáticos *Optium Xceed* e Analisador de Sangue Portátil i-STAT, ambos da marca Abbott. Em 38 dos animais incluídos no estudo foi realizada a mensuração de lactato também pelo método enzimático, conforme rotina do Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/Hospital Veterinário da FMVZ/USP, com o intuito de verificar a concordância entre os métodos.

Considerando que há variação na concentração de lactato na dependência do local de obtenção da amostra de sangue (HUGHES et al., 1999; FERASIN; NGUYENBA, 2008) as amostras sanguíneas foram coletadas, de forma padronizada, por venipunção jugular.

#### 5.5 HEMOGASOMETRIA VENOSA E ELETRÓLITOS

Foi realizada a hemogasometria em amostra de sangue venoso para determinar o equilíbrio ácido-básico dos animais incluídos, assim como as determinações de sódio ( $\text{Na}^+$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ), cloro ( $\text{Cl}^-$ ) e cálcio ionizável ( $\text{Ca}^{2+}$ )

plasmático, utilizando-se o Analisador de Sangue Portátil i-STAT marca Abbott, imediatamente após a coleta do sangue.

## 5.6 EXAME DE URINA E UROCULTURA

As amostras foram processadas a partir da avaliação física, química e do sedimento da urina. Os exames foram realizados de acordo com as técnicas rotineiramente empregadas no Serviço de Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/Hospital Veterinário da FMVZ/USP. A urocultura não foi realizada num primeiro momento em todos os pacientes. De acordo com o resultado do exame de urina, ela foi realizada com o intuito de instituir tratamento adequado ao paciente, com base em antibiograma.

## 6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As medidas qualitativas observadas foram descritas por estatísticas de frequências [absoluta (n) e relativa (%)], e as medidas quantitativas por média, mediana (Med), desvio padrão (DP), quartis [percentis 25 e 75 ( $P_{25}$  e  $P_{75}$ )] e valores mínimos (min) e máximos (máx).

As medidas também foram descritas em cada grupo e testes qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher (ARMITAGE, 1994) foram aplicados para avaliar a associação entre medidas qualitativas e os grupos, quando significativa à associação, o resíduo padronizado (RP) foi observado, para identificar as categorias que estão contribuindo para a associação entre as duas variáveis, neste caso, valores maiores que 1,96 ou menores que -1,96 têm pequenas chances de ocorrência ( $\pm 2,5\%$ ), e podem assim instruir pontos de corte para um nível de significância de excesso ou falta de ocorrências, respectivamente (PEREIRA, 1999). Testes não paramétricos de Kruskal-Wallis (SIEGEL, 1988) foram utilizados para comparação de medidas quantitativas entre os grupos. Quando diferenças significativas entre os grupos foram observadas, as múltiplas comparações entre pares de grupos foram feitas aplicando-se correção de Bonferroni (SIEGEL, 1988).

O nível de significância dos testes foi de 5%, ou seja, diferenças significativas foram consideradas quando o nível descritivo do teste (valor de P) foi menor que 0,05. Vale verificar os casos em que o valor de P foi maior que 0,05, mas menor ou igual a 0,10. Nestes casos as evidências de diferenças existem, porém são mais fracas, e as comparações isoladas entre pares de grupos para medidas quantitativas, por testes não paramétricos de Mann-Whitney (SIEGEL, 1988), foram realizadas.

Para avaliar a relação entre a medida de lactato e demais medidas quantitativas de interesse, foi utilizado o método de correlação de Spearman (SIEGEL, 1988), neste caso, quando o coeficiente de correlação (r) entre duas variáveis foi significativamente diferente de zero (valor de  $P < 0,05$ ), considerou-se que  $r < 0,3$  trata-se de uma correlação fraca, se  $0,3 \leq r < 0,7$ , uma correlação moderada e um  $r \geq 0,7$  forte correlação entre as variáveis.

As análises foram realizadas pelos *softwares* SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 19 para as estatísticas descritivas, gráficos e testes não paramétricos e *Microsoft Office™* 2010: *Excel™* para tabulações.

## 7 RESULTADOS

### 7.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA E EXAMES LABORATORIAIS

Foram atendidos 87 animais, sendo que um foi excluído (amostra lipêmica, não sendo possível realizar os exames necessários). Os animais foram distribuídos, de acordo com as características clínicas pré-estabelecidas, em quatro grupos, sendo que dos 86 cães, 25 (29,1%) constituíram o grupo controle, 14 (16,3%) o grupo ao diagnóstico, 24 (27,9%) o grupo em tratamento e 23 (26,7%), o grupo em CAD. Quanto à distribuição em relação ao gênero, 56 (65,1%) eram fêmeas enquanto 30 (34,9%) eram machos. Do total de cães, 46 (53,5%) eram castrados. As características dos animais na ocasião do atendimento no hospital e comparação entre os grupos estão sumarizadas na tabela 1.

Tabela 1 - Estatística descritiva e comparação entre os grupos para o gênero, idade e peso da amostra populacional estudada.

		CONTROLE	AO	TRATAMENTC	EM CAD	TOTAL
		DIAGNOSTICO				
<b>N (%)</b>		25 (29,1)	14 (16,3)	24 (27,9)	23 (26,7)	86 (100)
<b>SEXO/CONDIÇÃO</b> [N(%)]	M					
	NC	8 (32)	3 (21,4)	3 (12,5)	3 (13)	17 (56,6)
	C	4 (16)	1 (7,1)	4 (16,6)	4 (17,4)	13 (43,4)
	F					
	NC	7 (28)	5 (35,7)	4 (16,6)	7 (30,5)	23 (41,1)
	C	6 (24)	5 (35,7)	13 (54,1)	9 (19,2)	33 (58,9)
	Média (DP)	52 (29,1)	115,86 (22,9)	113 (27,8)	113,26 (38,9)	95,8 (41,4)
<b>IDADE (meses)</b>	Med	53 (24; 75,5)	113 (101,8; 126,8)	114 (87; 144)	120 (96; 142)	101,5 (70,3; 126)
	(P <sub>25</sub> ; P <sub>75</sub> )					
	Min-Max	12 – 111	72 – 168	72 - 156	10 - 156	10 – 168
<b>PESO (Kg)</b>	Média (DP)	21,29 (11,9)	13,1 (10)	14,37 (11,3)	16,68 (11,8)	16,79 (11,7)
	Med	18 (12,5; 32,7)	9,5 (5,6; 18,9)	8,95 (5,5; 22,2)	14 (7,8; 22)	13,8 (6,8; 24)
	(P <sub>25</sub> ; P <sub>75</sub> )					
	Min- Max	2,3 – 42	4,8 – 42	3,4 -- 39	2,3 -- 42	2,3 – 42

Notas: \* para comparação entre 4 grupos, \*\* para comparação entre 3 grupos (excluindo o grupo em CAD), M:macho, F:fêmea, C: castrado, NC: não castrado

Segundo a definição racial dos animais incluídos, os cães sem raça definida foram predominantes (26/86; 30,2%), seguido de poodle (9/86; 10,5%), labrador (6/86; 7%) e dachshund (5/86; 5,8%). Diversas outras raças (bichon frise, bullterrier, bulldog, cocker, dálmata, fox paulistinha, golden retriever, husky siberiano, lhasa apso, maltês, pastor alemão, pinscher, pit bull, pug, rottweiler, schnauzer, shar-pei e shih tzu) fizeram parte do estudo, porém contribuindo com menos de 5 % cada uma.

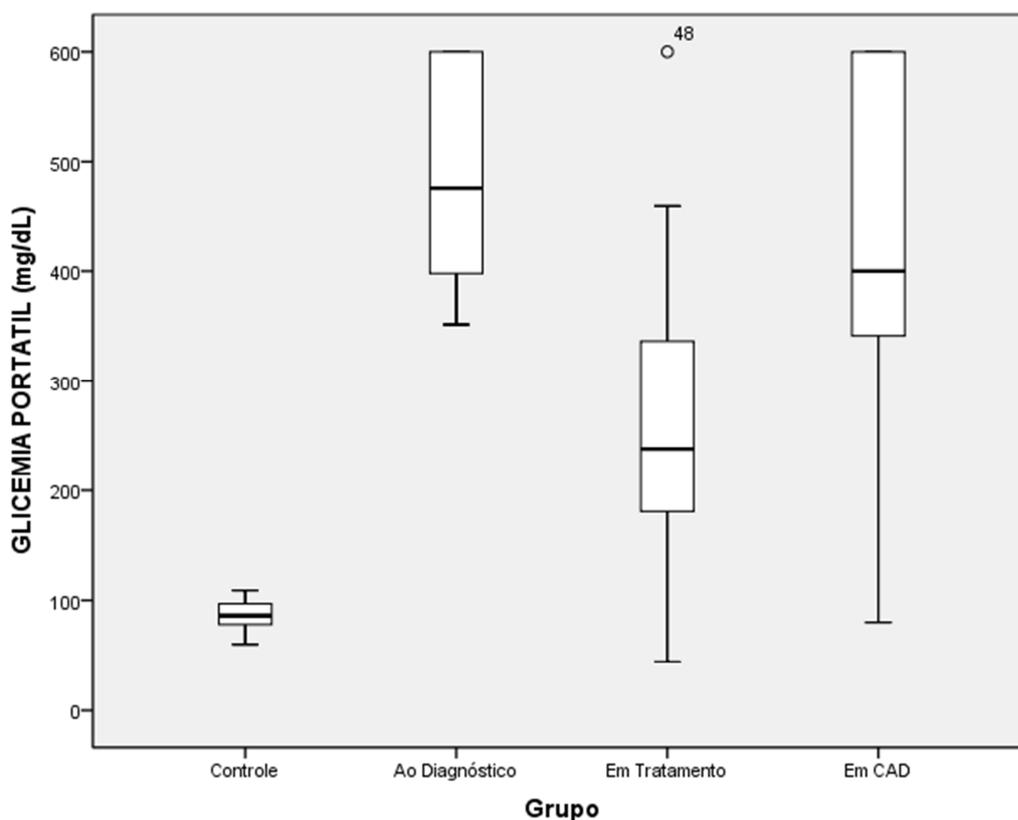
Os cães apresentaram média de idade de 95,8 meses (desvio padrão: 41,43 meses, variando entre de 10 a 168 meses). Houve diferença estatística entre a faixa etária dos grupos estudados, sendo que o grupo controle apresentou a menor média de idade (52 meses). Entre os animais diabéticos, não houve diferença significativa.

Também em relação ao peso, quando comparados os quatro grupos, o grupo controle apresentou valores mais elevados, com média de 18 Kg. Da mesma forma que ocorreu com a idade, entre os animais diabéticos não houve diferença significativa em relação ao peso (Tabela 1).

O grupo controle apresentou menores valores de glicemia, com mediana de 86 mg/dL, significativamente menores que os demais, conforme definição. Os grupos ao diagnóstico e em CAD foram os grupos que apresentaram maiores valores de glicemia ( $P < 0,001$ ), com medianas de 476 mg/dL, (351- 600 mg/dL) e 400 mg/dL (80-600 mg/dL) respectivamente, e não apresentaram diferenças significativas entre eles. Estes valores foram maiores que no grupo em tratamento, que apresentou mediana de glicemia de 238 mg/dL, variando de 44 mg/dL- 600 mg/dL (Tabela 2).

A distribuição da glicemia em cada grupo pode ser observada no gráfico 1.

Gráfico 1 - Intervalo interquartil (caixas), mediana (traços horizontais) e variação (traços verticais) dos valores de glicemia nos grupos de animais estudados (controle, ao diagnóstico, em tratamento e em CAD). CAD: cetoacidose diabética - São Paulo- fev 2011- mar 2013



Em relação ao grupo controle, a frutossamina sérica foi significativamente maior nos três grupos de cães diabéticos, não havendo diferença significativa entre estes (Tabela 2).

Tabela 2 - Estatística descritiva para glicemia e frutossamina de cada grupo e valores de P para comparação entre grupos

		GRUPO				Total	Valor de p (KW)
		Controle	Ao Diagnóstico	Em Tratamento	Em CAD		
<b>GLICEMIA (mg/dL)</b>	n Média (DP)	25 87,8 (13,1)	14 488,6 (108,8)	23 263,1 (129,9)	21 416,2 (165,7)	83 287,1 (191,4)	
	Med (P <sub>25</sub> ; P <sub>75</sub> )	86 (78; 97)	476 (393,3; 600)	238 (160;348)	400 (323; 600)	279 (95; 411)	<0,001 *
	Mín-Máx	60-109	351-600	44-600	80-600	44-600	<0,001 *
<b>FRUTOSAMINA (mmol/L)</b>	n Média (DP)	25 409,9 (49,7)	14 662,6 (204,5)	24 621,9 (104,3)	21 546,1 (194,7)	84 546,7 (170,2)	
	Med (P <sub>25</sub> ; P <sub>75</sub> )	406 (370;457,5)	647 (507,5; 853,8)	605 (560; 688)	478 (408; 729)	502,5 (408,5; 652,8)	<0,001 *
	Mín-Máx	303-498	344-1010	425-866	304-895	303-1010	<0,001**

Notas:\* comparação entre 4 grupos, \*\* comparação entre 3 grupos (excluindo o grupo em CAD), KW: teste de Kruskal-Wallis, Med: mediana, P<sub>25</sub>: percentil 25, P<sub>75</sub>: percentil 75, DP: desvio padronizado.

Os valores de referência para a frutossamina sérica correspondem aos utilizados pelo Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/Hospital Veterinário da FMVZ/USP, para classificar o controle glicêmico de pacientes diabéticos. Como o grupo controle apresenta valores comparativamente menores, considerou-se uma faixa extra (“normal”) compreendida entre os valores de 300 a 350 (Tabela 3). Considerando toda a amostra estudada, independente dos grupos, 8,3% apresentaram concentração de frutossamina dentro da menor faixa, 11,9%, dentro da faixa considerada com controle glicêmico excelente, 14,3% com controle bom, 14,3% com controle regular e 51,2% com controle ruim. Para o grupo controle nenhum animal apresentou frutossamina na faixa de controle ruim. Dos animais em

tratamento, 95,8% apresentaram controle ruim da glicemia e os 4,2% restantes apresentaram controle classificado como bom.

Tabela 3 - Estatística descritiva para frutossamina em cada grupo

Classificação de controle glicêmico segundo a concentração de frutossamina	GRUPO					
	Controle (25)	Ao Diagnóstico (14)	Em Tratamento (24)	Em CAD (23)	TOTAL (86)	
<b>"NORMAL" (300-350)</b>	n	3	1	0	3	7
	%	12%	7,1 %	0,0 %	14,3 %	8,3 %
	RP*	0,79	- 0,18	- 1,75	1,14	
	RP**	1,49	0,14	- 1,62		
<b>EXCELENTE (350-400)</b>	n	8	1	0	1	10
	%	32%	7,1 %	0,0 %	4,8 %	11,9 %
	RP*	3,70	- 0,60	- 2,13	- 1,17	
	RP**	3,26	- 0,87	- 2,54		
<b>BOM (400-450)</b>	n	7	0	1	4	12
	%	28%	0,0 %	4,2 %	19,0 %	14,3 %
	RP*	2,34	- 1,67	- 1,68	0,72	
	RP**	2,96	-1,62	- 1,60		
<b>REGULAR (450-500)</b>	n	7	1	0	4	12
	%	28%	7,1 %	0,0 %	19 %	14,3 %
	RP*	2,34	- 0,84	- 2,37	0,72	
	RP**	2,96	- 0,71			
<b>RUIM (&gt;500)</b>	n	0	11	23	9	43
	%	0,0 %	78,6 %	95,8 %	42,9%	51,2 %
	RP*	-6,2	2,25	5,19	- 0,88	
	RP**	-7,0	2,09	5,23		

Notas: \* comparação entre 4 grupos, \*\* comparação entre 3 grupos (excluindo o grupo em CAD),n: número de animal, RP: resíduo padronizado.

Os animais em tratamento foram classificados, em dois grupos, de acordo com as manifestações clínicas, i.e., poliúria, polidipsia e polifagia (PF), relatadas pelos proprietários, exame físico, avaliação do peso e hidratação, em "compensados clinicamente" e os "não compensados clinicamente", e esses resultados foram comparados com o valor da frutossamina sérica. Dos 24 animais do grupo em tratamento, 17 (70,8%) foram classificados com base nas informações dadas pelos proprietários e exame físico, como apresentando um bom controle, no entanto 100% deles apresentaram valor de frutossamina > 500 µmol/L, sendo então classificados como apresentando um controle ruim de acordo com valor de referência. O único animal em tratamento que apresentou frutossamina na faixa considerada como um

bom controle glicêmico, o proprietário relatava ocorrência de PU/PD/PF, e, portanto havia sido classificado como clinicamente não compensado (Tabela 4).

Tabela 4 - Distribuição de animais no grupo em tratamento segundo o controle glicêmico avaliado pela concentração de frutossamina sérica e valor de P do teste de associação com o estado de compensação avaliada clinicamente

		COMPENSADO CLINICAMENTE		Total	Valor de P	
		Não	Sim			
<i>FRUTOSAMINA (referência)</i>	<i>BOM (400 - 450)</i>	N	1	0	1	0,292 F
		% em Frutossamina	100,0%	0,0%		
		% em compensado	14,3%	0,0%	4,2%	
		RP	1,59	-1,59		
	<i>RUIM (&gt; 500)</i>	N	6	17	23	
		% em Frutossamina	26,1%	73,9%		
		% em compensado	85,7%	100,0%	95,8%	
		RP	-1,59	1,59		
<i>Total</i>		N	7	17	24	
		% em Frutossamina	29,2%	70,8%	100,0%	

Notas: F: teste exato de Fisher, n: número de animal, RP: resíduo padronizado.

O  $\beta$ -OHB sérico no grupo controle e em tratamento apresentaram os menores valores, mediana de 0,2 mmol/L e 0,3 mmol/L respectivamente, significativamente diferentes daqueles do grupo ao diagnóstico, com mediana de 0,85 mmol/L e que o grupo em CAD, com mediana de 4,1 mmol/L. Os valores de  $\beta$ -OHB no grupo em CAD foram significativamente maiores em relação aos demais.

Considerando que a concentração de  $\beta$ -OHB não foi utilizada para inclusão dos animais no grupo CAD, foram calculadas a sensibilidade e a especificidade desse teste para o diagnóstico da CAD, considerando diferentes graus de maximização desses dois parâmetros. À partir dos pontos da curva ROC, foi possível identificar quatro pontos de corte de acordo com métodos que avaliam suas respectivas sensibilidades, especificidades, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e probabilidade pós teste (Tabela 5).

Tabela 5 - Modelos propostos com base nos valores de sensibilidade e especificidade obtidos a partir da curva ROC para determinação de pontos de corte para o  $\beta$ -OHB, e respectivos valores preditivo positivo e negativo, e probabilidade pós-teste

Modelo	Ponto de corte	Sensibilidade %	Especificidade %	VPP (%)	VPN (%)	1-VPN (%)
Maximização da Sensibilidade e Especificidade	0,75	91,3	87,3	72,4	96,5	3,5
Sensibilidade de 100% e Especificidade máxima	0,65	<b>100</b>	82,5	67,6	100	0
Especificidade de 100% e Sensibilidade máxima	5,1	34,8	<b>100</b>	100	80,8	19,2
Alta especificidade e Sensibilidade máxima	3,2	69,6	98,4	94	89,8	10,2
Literatura*	3,8	60,8	98,4	93	87	13

Notas: VPP: valor preditivo positivo (probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado positivo); VPN: valor preditivo negativo (probabilidade de ausência de CAD entre negativos); (1-VPN) = probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado negativo

Para o modelo 1, ou seja, para um valor de corte de 0,75 mmol/L, a sensibilidade foi de 91,3%, logo 8,7% de falsos negativos, e especificidade de 87,3% logo 12,7% de falsos positivos. Ou seja, se CAD fosse avaliada por valores de  $\beta$ -OHB maiores que 0,75mmol/L, dos animais realmente em CAD, 8,7% seriam avaliados como não estando em CAD e dos animais que realmente não estão em CAD, 12,7% seriam avaliados em CAD. A probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado POSITIVO ( $\beta$ -OHB >0,75mmol/L) é de 72,41% para a população estudada e a probabilidade de ausência de CAD entre negativos é de 96,5% (VPN). Já a probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado NEGATIVO ( $\beta$ -OHB <0,75 mmol/L) é de 3% (1-VPN).

Já para o modelo 2 ou seja, um valor de corte de 0,65 mmol/L apresentou sensibilidade de 100%, logo, nenhum falso negativo, e especificidade de 82,5%, logo 17,5% de falsos positivos. Ou seja, se a presença de CAD for avaliada por valores de  $\beta$ -OHB maiores que 0,65mmol/L, dos animais que realmente estiverem em CAD, todos seriam avaliados como estando em CAD e dos animais que realmente não estão em CAD, 17,5% seriam avaliados como estando em CAD. A probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado POSITIVO ( $\beta$ -OHB >0,65mmol/L) é de 67,64% (presença de CAD entre os positivos), enquanto a probabilidade de ausência da doença entre negativos é de 100% (VPN), já a probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado negativo ( $\beta$ -OHB <0,65 mmol/L) é de 0% (1-VPN),

ou seja, frente a um resultado negativo, a probabilidade de ser CAD é zero para o ponto de corte de 0,65 mmol/L.

Para o modelo 3, ou seja, valor de corte de 5,1mmol/L, apresentou especificidade de 100%, logo, nenhum falso positivo e sensibilidade de 34,8%, logo 65,2% de falsos negativos, o que significa que se a presença de CAD for avaliada por valores de  $\beta$ -OHB maiores que 5,1 mmol/L, dos animais que realmente estiverem em CAD, 65,2% seriam avaliados como não estando em CAD e dos animais que realmente não estiverem em CAD, todos seriam avaliados como não estando em CAD. A probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado positivo ( $\beta$ -OHB >5,1mmol/L) é de 100% (presença de CAD entre os positivos), a probabilidade de ausência de CAD entre negativos é de 80,8 % e a probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado negativo ( $\beta$ -OHB<5,1 mmol/L) é de 19,2% (1-VPN).

Para o modelo 4, ou seja, valor de corte de 3,2 mmol/L, apresentou sensibilidade de 69,6%, logo, 30,4% de falsos negativos, e especificidade de 98,4% logo, 1,6% de falsos positivos. Desta forma, se CAD for avaliada por valores de  $\beta$ -OHB maiores que 3,2 mmol/L, daqueles animais que realmente estão em CAD, 30,4% seriam avaliados como não estando em CAD e dos animais que realmente não estão em CAD, 1,6% seriam avaliados como estando em CAD. A probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado positivo ( $\beta$ -OHB >3,2mmol/L) é de 94% (presença de CAD entre os positivos), a probabilidade de ausência de CAD entre negativos é de 89,8% e a probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado negativo ( $\beta$ -OHB<3,2 mmol/L) é de 10,2% (1-VPN).

Considerando o valor de corte de 3,8 mmol/L da literatura (SILVA, 2006), este apresentou sensibilidade de 60,9%, logo, 39,1% de falsos negativos, e especificidade de 98,4% logo, 1,6% de falsos positivos. Desta forma, se a presença de CAD for avaliada por valores de  $\beta$ -OHB maiores que 3,8 mmol/L, dos animais que realmente estiverem em CAD, 39,4% seriam avaliados como não estando em CAD e dos animais que realmente não estiverem em CAD, 1,6% seriam avaliados como estando em CAD. A probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado positivo ( $\beta$ -OHB >3,8 mmol/L) é de 93% (presença de CAD entre os positivos), a probabilidade pós-teste de ser CAD frente a um resultado negativo ( $\beta$ -OHB<3,8mmol/L) é de 13% (1-VPN) .

Foi realizada também, a correlação entre os pontos de corte para o valor do  $\beta$ -OHB e os animais em CAD, e esse resultado está resumido na tabela 6.

Tabela 6 - Distribuição dos casos quanto ao diagnóstico de CAD e associação com positividade ou não em relação aos pontos de corte propostos à partir da curva ROC, considerando diferentes graus de maximização da sensibilidade e especificidade e ponto de corte proposto na literatura

	$\beta$ -OHB	CAD		P ( $\chi^2$ )
		Não (n=63)	Sim (n=23)	
Método 1	$\leq 0,75$ (-)	55	2	< 0,001
	$> 0,75$ (+)	8	21	
Método 2	$\leq 0,65$ (-)	52	0	< 0,001
	$> 0,65$ (+)	11	23	
Método 3	$\leq 5,10$ (-)	63	15	< 0,001
	$> 5,10$ (+)	0	8	
Método 4	$\leq 3,20$ (-)	62	7	< 0,001
	$> 3,20$ (+)	1	16	
Literatura	$\leq 3,80$ (-)	14	1	< 0,001
	$> 3,80$ (+)	9	62	

Notas: CAD: cetoacidose diabética;  $\beta$ -OHB: beta-hidroxibutirato;  $\chi^2$ : teste qui-quadrado de Pearson

Em relação ao *anion gap*, em 12 animais do grupo em CAD, não foi possível a avaliação devido a erro de leitura do aparelho. Mesmo assim, esse grupo apresentou valores significativamente maiores que o grupo controle e em tratamento, medianas de 17 mmol/L, 14 mmol/L e 13 mmol/L, respectivamente. Evidências de diferenças, embora mais fracas, mostraram maiores valores do AG no grupo em CAD em relação ao grupo ao diagnóstico (mediana = 15 mmol/L) e maiores valores no controle em relação ao grupo em tratamento. Dos 11 cães nos quais foi possível avaliar o AG no grupo em CAD, 10 (91%) apresentaram valores menores que 23 mmol/L.

Os fatores que podem ter contribuído para a CAD foram infecção do trato urinário (12), HAC (7), uso de corticóide (6), neoplasia mamária (2), diestro (2), pancreatite (1), abscesso (1), obesidade (1) e estro (1). Dos animais em CAD, 15 eram diabéticos recém-diagnosticados.

Os valores de uréia foram significativamente maiores no grupo em CAD em relação aos demais, com mediana de 87,9 mg/dL, enquanto os grupos controle, ao

diagnóstico e em tratamento apresentaram medianas de 39,2 mg/dL, 46,9 mg/dL e 46,5 mg/dL, respectivamente.

O grupo CAD apresentou tendência a valores de creatinina mais elevados em relação aos demais, com mediana de 1,20 g/dL, enquanto os grupos controle, ao diagnóstico e em tratamento apresentaram medianas de 0,96 mg/dL, 0,94 mg/dL e 0,91 mg/dL, respectivamente, porém não foi estatisticamente significativa ( $P= 0,093$ ).

A azotemia foi mais comum em pacientes em CAD (7/22), assim como os valores de ALT e FA ( $P < 0,01$ ) com mediana de 79,7 U/L (11- 230,2 U/L) e 528,7 U/L (40,4- 3.870 U/L) respectivamente.

Já os níveis de triglicérides (mediana 189,6 mg/dL, variando de 66,3 a 930 mg/dL) e colesterol (mediana 358,2, variação de 249,5 a 516,7 mg/dL), foram mais elevados nos animais do grupo em tratamento quando comparado aos demais grupos.

Quando os três primeiros grupos foram comparados (excluindo grupo em CAD), não apresentaram diferenças significativas entre os três grupos para as seguintes variáveis: pH,  $pCO_2$ ,  $[HCO_3^-]$ ,  $TCO_2$ , BE, uréia e creatinina, indicando que as diferenças observadas, quando comparados os quatro grupos, ocorreram devido ao grupo em CAD. Somente a medida de  $svO_2$  não apresentou diferenças significativas entre os quatro grupos mas quando comparados os três primeiros grupos a evidência de diferença foi observada, mostrando que o grupo ao diagnóstico apresentou menores valores de  $svO_2$  em relação ao grupo controle e em tratamento.

A hipernatremia ocorreu em sete animais (30,4%) do grupo em CAD, enquanto que a hiponatremia ocorreu em 14 cães (60,9%). A mediana da concentração de  $Na^+$  no grupo controle foi 147 mEq/L, sendo esse valor significativamente maior que o grupos ao diagnóstico, com mediana 140,1 mEq/L, em tratamento, mediana de 141,5 mEq/L e em CAD, com mediana de 141,0 mEq/L.

Nos animais do grupo em CAD houve maior frequência de normocalemia, sendo que a hipocalemia ocorreu em nove cães (39,1%). O grupo controle, com mediana da concentração de  $K^+$  de 4,0 mEq/L, apresentou valores significativamente menores que o grupo ao diagnóstico, com mediana 4,85 mEq/L, e que o grupo em tratamento, mediana de 4,5 mEq/L.

A hiperclorremia ocorreu em 14 animais (63,6%) do grupo em CAD, quatro cães (18,2%) apresentaram hipoclorremia e quatro (18,2%), normoclorremia.

A mediana da concentração de cálcio ionizado do total dos animais incluídos no estudo foi de 1,33 mmol/L, variando de 0,55 a 1,53 mmol/L.

## 7.2 CARACTERÍSTICA DA AMOSTRA EM RELAÇÃO AO LACTATO

A medida de lactato não apresentou diferença significativa entre os grupos (Tabela 7), nem mesmo quando observados pares de grupos isolados (Tabela 8).

Tabela 7 - Estatística descritiva da concentração de lactato para cada grupo e valores de P para comparação entre grupos.

	GRUPO					Valor de P (KW)
	Controle	Ao Diagnóstico	Em Tratamento	Em CAD	Total	
<b>N</b>	25	14	24	23	86	
<b>Média ± DP</b>	2,2 ± 0,8	2 ± 1,4	2,3 ± 0,9	2,9 ± 2,8	2,4 ± 1,7	-
<b>Med (P<sub>25</sub>; P<sub>75</sub>)</b>	2,2 (1,5; 2,8)	1,6 (1; 2,4)	2,3 (1,4; 2,9)	2,2 (1,4; 2,9)	2,2 (1,4; 2,8)	0,454 *
<b>Min – Max</b>	0,8 -- 3,9	0,5 -- 5,6	0,9 -- 4,6	0,8 -- 13,9	0,5 -- 13,9	0,325 **

Notas: \* comparação entre 4 grupos, \*\* comparação entre 3 grupos (excluindo o grupo em CAD), KW: teste de Kruskal-Wallis, DP: desvio padrão, Med: mediana, Min: mínima, Max: máxima, P<sub>25</sub>: percentil 25, P<sub>75</sub>: percentil 75

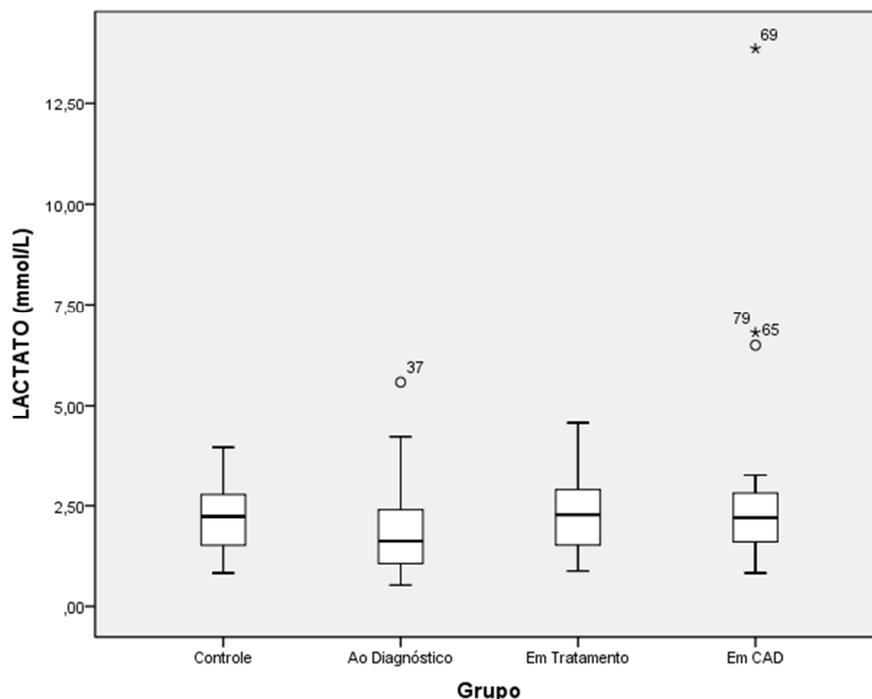
**Tabela 8.** Valores de P das comparações entre pares de grupos isolados para a concentração de lactato.

Entre pares de grupos isolados	Controle X Ao Diagnóstico	Controle X Em Tratamento	Controle X Em CAD	Ao Diagnóstico X Em Tratamento	Ao Diagnóstico X Em CAD	Em Tratamento X Em CAD
<b>Valor de P</b>	0,208	0,749	0,893	0,164	0,137	0,992

Notas: CAD: cetoacidose diabética

A distribuição do lactato em cada grupo pode ser observada no gráfico 2.

Gráfico 2- *Box plot* (mediana, P<sub>25</sub> e P<sub>75</sub> e *outliers*) da concentração do lactato nos diferentes grupos.



Não houve correlação significativa entre lactato e glicemia, frutossamina, beta-hidroxiacetato, svO<sub>2</sub> e hemoglobina para a população estudada (Tabela 9).

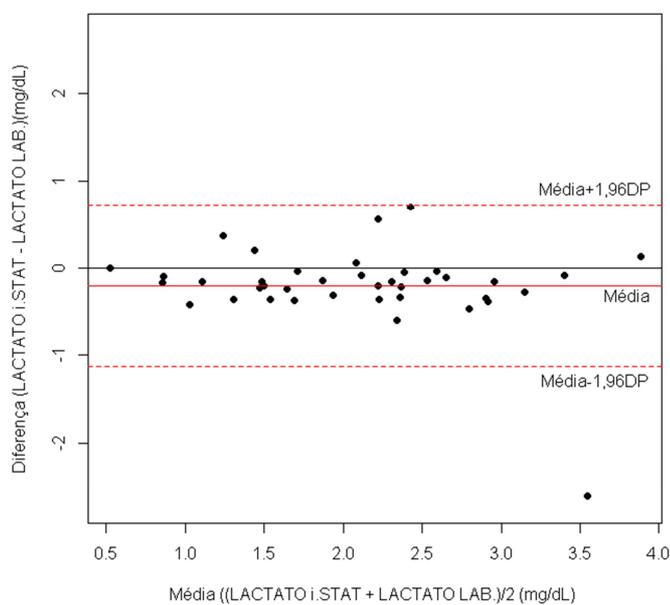
Tabela 9 - Correlação de Spearman entre lactato e medidas de glicemia, frutossamina, β-OHB, svO<sub>2</sub> e Hb.

	LACTATO (mmol/L)	
		Total
<b>GLICEMIA PORTATIL (mg/dL)</b>	r	0,055
	P	0,619
<b>FRUTOSAMINA (mmol/L)</b>	r	-0,039
	P	0,722
<b>β-OHB (mmol/L)</b>	r	-0,014
	P	0,900
<b>svO<sub>2</sub> (%)</b>	r	0,137
	P	0,212
<b>Hb (g/dL)</b>	r	0,108
	P	0,324

Notas: β-OHB (beta hidroxiacetato), svO<sub>2</sub>: saturação venosa de oxigênio, Hb: hemoglobina, r: coeficiente de correlação, P: ( valor de P [nível descritivo do teste])

Os valores do lactato obtidos pelo aparelho portátil i-STAT e pelo método convencional realizado no laboratório da FMVZ-USP apresentaram diferenças estatísticas significativas entre eles, com os maiores valores encontrados nas amostras enviadas para o laboratório. A média e a mediana das diferenças foram 0,201 e 0,158 mmol/L respectivamente, porém os resultados mostram forte correlação positiva entre os dois métodos (Gráfico 3).

Gráfico 3- Concordância (Bland-Altman) entre os métodos i-STAT e análise laboratorial para medida do lactato (mmol/L).



## 8 DISCUSSÃO

Em resposta às perguntas principais deste estudo, cães diabéticos não tratados e em tratamento não possuem concentração de lactato maior que de cães do grupo controle, e mesmo cães em CAD não apresentaram concentração significativamente diferente destes, o que contraria a hipótese formulada.

A população de cães deste estudo foi composta por animais recém-diagnosticados diabéticos, ou seja, sem terapia prévia com insulina e aqueles em insulino-terapia, com o objetivo de avaliar a concentração do lactato sanguíneo em graus variados de descompensação hiperglicêmica.

Quanto à distribuição segundo o gênero, observou-se predominância de fêmeas, sendo 56 (65,1%), semelhante a outro estudo que também encontrou maior ocorrência de DM em fêmeas (FELDMAN; NELSON, 2004). Acredita-se que cadelas diabéticas sejam mais predispostas a desenvolver a CAD, provavelmente pela resistência insulínica relacionada ao diestro (FELDMAN; NELSON, 2004; BOYSEN, 2008), no entanto no presente estudo, do total de cães, 46 (3,5%) eram castrados e o diestro estava presente em 2 fêmeas em CAD. Em um estudo com 21 cães com CAD, 17 (81%) eram fêmeas (MANCITIRE, 1993), semelhante aos achados deste estudo, sendo que de 23 animais, 16 (69,6%) eram fêmeas.

A média de idade dos cães diabéticos do grupo de estudo (aproximadamente 10 anos) é similar à descrita na literatura, na qual também se constata a maior ocorrência da doença em cães idosos (HESS et al., 2000; DUARTE et al., 2002; FELDMAN; NELSON, 2004). No entanto, quando comparado os quatro grupos, incluindo os animais do grupo controle, houve diferença significativa em relação à idade, sendo que o grupo controle apresentou a menor média. Porém, Allen e Holm (2008), mostram em seu estudo que não há diferença na concentração do lactato em animais com mais de 70 dias quando comparados com cães adultos. Nenhum animal deste estudo tinha idade inferior a um ano. Em outro trabalho, os cães diabéticos também apresentaram idade superior aos cães controle (DUROCHER et al., 2008).

Em relação ao peso, comparando os quatro grupos, o grupo controle apresentou valores mais elevados, com mediana de 18 Kg, porém os cães que

constituíram este grupo eram de raças maiores, cinco animais eram obesos e neste grupo havia mais animais com sobrepeso em relação ao grupo dos animais diabéticos. Em um estudo realizado com pacientes humanos observou-se concentração de lactato mais elevada em indivíduos obesos com DM tipo 2 em comparação com indivíduos não-obesos, e intermediária em indivíduos obesos com tolerância normal à glicose (CHEN et al., 1993). Dos cinco cães obesos do grupo controle, três apresentaram lactato acima do valor de normalidade.

Entre os cães que constituíram o grupo com CAD, 65,2% foram diagnosticados nessa condição no momento do diagnóstico do DM, semelhante a achados previamente descritos (HUME et al., 2006) e as principais doenças concomitantes encontradas foram ITU, HAC, hipotireoidismo, neoplasia e pancreatite, similar à casuística de Hess et al. (2000), que encontrou comorbidades semelhantes em animais com DM. O diestro e o uso de corticóide podem ter sido o fator desencadeador da CAD em nove animais deste estudo, corroborando com Nelson e Feldman (2004), sendo estas provavelmente as causas responsáveis pela resistência insulínica.

Em estudo realizado em humanos com DM não dependente de insulina, onde os pacientes foram acompanhados durante 24 horas, houve diferença na concentração de lactato entre indivíduos não obesos com tolerância normal à glicose e aqueles com intolerância moderada e severa (REAVEN et al., 1988). A ausência de diferença significativa para a concentração de lactato entre os grupos no presente trabalho pode ter ocorrido pelo delineamento realizado, que, sendo um estudo transversal, o lactato foi mensurado uma única vez. Outra possibilidade seria que o grupo controle incluiu animais obesos e com sobrepeso, que podem apresentar algum grau de intolerância à glicose, elevando os valores basais de lactato no grupo controle e favorecendo assim, a ausência de diferença quando comparado aos diabéticos.

O resultado também difere do encontrado em outro estudo que avaliou as anormalidades do equilíbrio ácido-base, onde os cães diabéticos apresentaram concentrações do lactato significativamente mais altas que os animais do grupo controle, com mediana 2 e 1 mmol/L, respectivamente, apesar de todos estarem dentro da faixa de normalidade (DUROCHER et al., 2008).

Os aparelhos utilizados na rotina para a mensuração do lactato avaliam a concentração da fração L-lactato, que é a porção predominante a partir do ácido pirúvico em condições anaeróbias. O D-lactato é produzido a partir do MG e está significativamente aumentado em animais e humanos diabéticos, possivelmente pelo aumento da produção deste precursor nesses indivíduos (LU et al., 2011; TSUTSUI et al., 2012). O aparelho portátil (i-STAT) utilizado para mensuração do lactato neste trabalho mede somente a fração L-lactato (<http://webserver.pa-ucl.com/wwwdocs/analyticalproc/FrameA.htm>). O fato de não ter sido encontrada diferença neste estudo pode ser devido à mensuração de L-lactato e não do D-lactato.

Os trabalhos citados que encontraram diferença na sua concentração não especificam se foi o lactato total ou L-lactato (REAVEN et al., 1988; DUROCHER et al., 2008).

Em trabalho experimental realizado em ratos observou-se aumento marcante do D-lactato no fígado, na musculatura esquelética e no plasma em relação ao controle, enquanto o L-lactato não foi diferente no plasma, foi aumentado no fígado e diminuído no músculo. Neste mesmo trabalho foi avaliada a excreção urinária de L e D-lactato bem como a razão L-lactato/ D-lactato, e os ratos diabéticos excretaram mais D-lactato do que L-lactato comparado ao grupo controle (KONDOH et al., 1992). Uma correlação positiva entre D-lactato e MG foi observada em pacientes humanos, bem como a glicemia de jejum e beta hidroxibutirato, no entanto esta correlação não foi observada com L-lactato (LU et al., 2012).

Em humanos com CAD o D-lactato está associado com a acidose metabólica e aumento do AG (LU et al., 2012) o que já havia sido observado em trabalho anterior (FORNI et al., 2005). Nos cães, aparentemente o L-lactato não contribuiu para o aumento do AG (DUROCHER et al., 2008). Em pacientes humanos houve correlação positiva do lactato com a concentração de glicose o que aumenta a possibilidade da acidose láctica na CAD não ser somente pela hipoperfusão como também pela alteração do metabolismo da glicose (COX et al., 2012). No presente estudo não foi observada correlação entre glicemia e lactato. Considerando que os métodos utilizados de rotina para mensurar o lactato medem somente o L-lactato, a fim de determinar se os cães em CAD com alto ânion gap possuem aumento do estereoisômero D-lactato, *kits* específicos devem ser utilizados.

O DM tipo 2 é uma condição rara nos cães (FELDMAN; NELSON, 2004) e apesar de alguns trabalhos consultados (REAVEN et al., 1988) se referirem à alteração do lactato nesses pacientes humanos (não dependentes de insulina), Becker (2001) relata lactato consistentemente mais elevado também em indivíduos com DM tipo I estáveis (não complicados) em comparação aos normais. Este mesmo autor observou que na CAD, 10 a 15% dos pacientes apresentaram a concentração de lactato ainda mais elevada (> 5 mmol/L). Também, em outro estudo, a porcentagem foi similar, com aproximadamente 12% dos casos (SHEIK ALI et al., 2008). Esses dados corroboram com os achados no presente trabalho, onde 13% dos cães em CAD apresentaram lactato acima de 5 mmol/L.

Quando comparamos os valores do lactato encontrados no aparelho portátil (i-STAT) e no laboratório, os resultados mostram forte concordância entre as medidas. Foram observados maiores valores nas amostras enviadas para análise em laboratório, no entanto a média da diferença encontrada neste estudo foi 0,201 mmol/l, concordando com alguns autores, que encontraram alta correlação entre a mensuração do lactato avaliado com aparelho portátil e método convencional de análise enzimática do plasma (THORNELONE et al., 2007; TAS et al., 2008).

Apesar de não ser um objetivo específico deste estudo, a fruttosamina foi avaliada em todos os animais e foi realizada a comparação entre os grupos. A concentração da fruttosamina aumentou paralelamente com os níveis de glicose em todos os cães, sendo que o grupo controle apresentou os menores valores. Esses dados são similares aos encontrados por Loste e Marca (2001). No entanto, surpreendentemente, quase 96% dos cães em tratamento apresentaram valores de fruttosamina na faixa considerada como controle glicêmico ruim, apesar destes animais terem sido classificados clinicamente como bem controlados, com base nas informações de anamnese como ausência de PU/PD e do exame físico como o estado geral, hidratação e manutenção do peso. Sendo considerados com um controle glicêmico ruim, estes animais teoricamente, deveriam ter sua dose de insulina incrementada. Isto gera um questionamento sobre os critérios clínicos utilizados para se considerar um animal como compensado clinicamente ou não compensado clinicamente. Cabe questionar se o ajuste da dose de insulina deverá ser feito com base na classificação clínica ou a partir dos valores de fruttosamina. Em medicina veterinária, normalmente os ajustes da dose de insulina são feitos com base na classificação clínica. Com base nesses achados e conforme citado por

alguns autores, o valor da frutossamina auxilia no ajuste da terapia, porém não identifica o problema de base, sendo necessário ter cautela em relação à alteração na insulinoterapia (NELSON; FEDMAN, 2004).

Tradicionalmente na clínica de pequenos animais, o grau de cetonemia é dado indiretamente com tiras testes que estimam de forma semiquantitativa a presença de acetoacetato (AA) na urina. Estes testes, baseados na reação de nitroprussiato, não detectam a presença de  $\beta$ -OHB, principal corpo cetônico produzido na CAD. Embora não tenha sido objetivo específico deste trabalho, o grau de cetonemia através da mensuração do  $\beta$ -OHB foi avaliado utilizando o aparelho portátil (*Optium Xceed*). Estudos com pacientes humanos recomendam a detecção da cetonemia através dos níveis de  $\beta$ -OHB sérico (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 1997; HENDERSON; SCHLESINGER, 2010), e também sugerem que o controle através da dosagem desse corpo cetônico é mais efetivo que os testes através de tiras que avaliam a fração de AA (KLOCKER et al., 2013 no prelo)<sup>1</sup>. Estudos em medicina veterinária também encontraram resultados satisfatórios com a avaliação do  $\beta$ -OHB para detecção da CAD (DUARTE et al., 2002; DI TOMMASO et al., 2009).

Quanto aos valores de  $\beta$ -OHB, e considerando que esta doença é potencialmente fatal, o eventual início de tratamento de animal que não ainda esteja em CAD (e sim em cetose), é menos problemático que o não-tratamento de um animal em CAD. Desta forma, almeja-se um valor que dê máxima sensibilidade com bom grau de especificidade, ou seja, menor número de falsos-negativos.

O ponto de corte utilizando o valor de  $\beta$ -OHB 3,2 mmol/L mostrou melhor relação entre a sensibilidade e especificidade. Esse resultado é semelhante ao encontrado por alguns autores (DUARTE et al., 2002; DI TOMMASO et al., 2009). Outro estudo realizado na medicina humana, usando o valor de corte de  $\beta$ -OHB  $\geq$  3.0 mmol/L e  $\geq$  3.8mmol/L em crianças e adultos respectivamente, sugere CAD (SHEIKH- ALI et al., 2008).

---

<sup>1</sup> KLOCKER, A. A.; PHELAN, H.; TWIGG, S. M.; CRAIG, M. E. Blood  $\beta$ -hydroxybutyrate vs. urine acetoacetate testing for the prevention and management of ketoacidosis in Type 1 diabetes: a systematic review. **Diabet Med**, Jan 2013. (no prelo). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23330615>>.

A comparação entre a mensuração do  $\beta$ -OHB sérico realizados de forma convencional em laboratório com os testes de triagem rápida apresentou 95% de concordância entre os métodos (HENDERSON; SCHLESINGER, 2010).

Em relação aos eletrólitos, as concentrações de sódio (mediana: 141 mmol/L; variação: 113 a 169 mmol/L; n= 23) foram similares às observadas em cães com CAD por Macintire (1993) com média 137 mmol/L; variação: 123 a 152 mmol/L; n=21). Embora a concentração de sódio possa estar aumentada, diminuída ou normal, em geral animais e humanos com CAD apresentam deficiência na concentração desse eletrólito (BRUYETTE, 1997; CONNALLY, 2002; FELDMAN; NELSON, 2004). A hipernatremia ocorreu em sete animais (30,4%) do grupo em CAD, enquanto que a hiponatremia ocorreu em 14 cães (60,9%) no presente estudo.

Animais em CAD normalmente apresentam diminuição da concentração de potássio, resultante da diurese osmótica e perdas gastrointestinais (CONNALLY, 2002; FELDMAN; NELSON, 2004). Nos animais deste estudo houve maior frequência de normocalemia. No entanto, de acordo com Greco (1997), a hipoinsulinemia contribui para o desvio do  $K^+$  para o líquido extracelular, assim esses animais tem a concentração sérica de potássio mantida, embora os estoques corpóreos de  $K^+$  devam estar diminuídos. Em outros estudos, diferentemente deste, a hipocalemia foi um achado frequente (MACINTIRE, 1993; SILVA, 2006).

## 9 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Uma das limitações primárias do trabalho concerne ao pequeno número de animais incluídos no grupo ao diagnóstico. Muitos animais diabéticos são atendidos diariamente no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia- USP, porém a maioria deles já chega ao serviço fazendo uso de insulina. Também, grande parte dos animais sem terapia prévia apresentavam comorbidades que impossibilitam sua admissão ao grupo, uma vez que critérios de exclusão foram adotados. Muitas das análises envolvendo comparações e correlações do lactato podem não ter atingido diferença estatística devido ao número reduzido de animais.

Outra limitação importante refere-se ao aparelho portátil (i-STAT), utilizado para mensuração do lactato neste trabalho, medir somente a fração L-lactato (<http://webserver.pa-ucl.com/wwwdocs/analyticalproc/FrameA.htm>). O fato de não ter sido encontrada diferença neste estudo pode ser devido à mensuração de L-lactato e não do D-lactato.

## 10 CONCLUSÃO

De forma contrária à hipótese formulada inicialmente, cães diabéticos apresentaram concentração de lactato semelhante aos cães do grupo controle para a amostra da população estudada.

A existência de correlação positiva do lactato com a concentração de glicose referida por outros autores aumenta a possibilidade da acidose láctica na CAD não ser somente causada pela hipoperfusão como também pela alteração do metabolismo da glicose, merecendo maior investigação a respeito do seu papel na fisiopatogenia do DM e nas suas complicações.

Considerando que os métodos utilizados de rotina para mensurar o lactato medem somente o L- lactato, a fim de determinar se os cães em CAD com alto ânion gap possuem aumento do estereoisômero D- lactato, *kits* específicos devem ser utilizados.

## REFERÊNCIAS

ALLEN, S. E.; HOLM, J. L. Lactate: physiology and clinical utility. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 18, n. 2, p. 123-132, 2008.

ALTMAN, D. G.; BLAND, J. M. Measurement in medicine: the analysis of method comparison studies. **Journal of the Royal Statistical Society. Series D (The Statistician)**, v. 32, n. 3, p. 307-317, 1983.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 20, n. 7, p. 1183-1197, 1997.

ARMITAGE, P.; BERRY, G. **Statistical methods in medical research**. 3. ed. Oxford: Blackwell Science, 1994.

BARONE, B.; RODACKI, M.; CENCI, M. C. P.; ZAJDENVERG, L.; MILECH, A.; OLIVEIRA, J. E. P. Cetoacidose diabética em adultos – atualização de uma complicação antiga. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 9, p. 1- 16, 2007.

BECKER, K. L. Disorders of fuel metabolism. In: \_\_\_\_\_. **Principles and practice of endocrinology and metabolism**. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2001. p.1448. Disponível em:  
<[BENNETT, N. Monitoring techniques for diabetes mellitus in the dog and cat. \*\*Clinical Techniques in Small Animal Practice\*\*, v. 17, n. 2, p. 65-69, 2002.](http://books.google.com.br/books?id=FVfzRvaucq8C&pg=PA1448&lpg=PA1448&dq=Blood+lactate+concentrations+in+diabetics&source=bl&ots=xZhSwVU4-T&sig=TIVkFF28q4n1E8nG9GMjXgJ5iO4&hl=pt-BR&ei=7T_hTMWCN8P98Ab-6f3oDw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=5&ved=0CDUQ6AEwBDgU#>. Acesso em: 12 nov. 2010.</p></div><div data-bbox=)

BILLAT, V. L.; SIRVENT, P. S.; PY, G.; KORALSZTEIN, J. P.; MERCIER, J. The concept of maximal lactate steady state. **Sports Medicine**, v. 33, n. 6, p. 407-425, 2003.

BLAND, J.; ALTMAN, D. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **The Lancet**, v. 327, p. 307– 310, 1986.

BOYSEN, S. R. Fluid and electrolyte therapy in endocrine disorders: diabetes mellitus and hypoadrenocorticism. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 38, n. 3, p. 699-717, 2008.

BRUYETTE, D. S. Diabetic Ketoacidosis. **Seminars in Medicine Veterinary and Surgery ( Small Animal)**, v. 12, n. 4, p. 239- 247, 1997.

CASTAGNINO, J.; REUSSI, R. R; Mercado, J; Torreno, M; Tajer, C; Charask, A. Niveles elevados de lactato medidos a la cabecera del paciente se asocian a mayor riesgo de muerte em cuidados intensivos. **Revista de La Asociación Médica Argentina**, v. 111, n. 3, p. 10-16, 1998. Disponível em: <<http://www.ama-med.com/revistas/199803/niveles.htm>>. Acesso em: 30 ago. 2010.

CHEN, Y. D.; VARASTEY, B. B.; REAVEN, G. M. Plasma lactate concentration in obesity and type 2 diabetes. **Diabete Metab** v. 19, n. 4, p. 348-354, 1993.

CONNALLY, H. E. Critical care monitoring considerations for the diabetic patient. **Clinical Techniques in Small Animal Praticce**, v. 17, n. 2, p. 73-78, 2002.

COX, K. ; COCCHI, M; SALCICCIOLI, J.; CARNEY, E.; HOWELL, M.; DONNINO, M. Prevalence and significance of lactic acidosis in diabetic ketoacidosis. **Journal of Critical Care**, v. 27, n. 2, p. 132-7, 2012.

DI TOMMASO, M.; ASTE, G.; ROCCONI, F.; GUGLIELMINI, C.; BOARI, A. Evaluation of a portable meter to measure ketonemia and comparison with ketonuria for the diagnosis of canine diabetic ketoacidosis. **Journal of Veterinary Internal**, v. 23, n. 3, p. 466-71, 2009.

DUARTE, R.; SIMOES, D. M. N.; FRANCHINI, M. L.; MARQUEZIM, M. L.; IKESAKI, J. H.; KOGIKA, M. M. Accuracy of serum B-hydroxybutyrate measurements of the diagnosis of diabetic ketoacidosis in 116 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, p. 411- 417, 2002.

DUROCHER, L. L.; HINCHCLIFF K.W.; DIBARTOLA, S.P.; JOHNSON, S. E. Acid-base and hormonal abnormalities in dogs with naturally occurring diabetes mellitus. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 232, n. 9, p. 1310-1320, 2008.

EVANS, E. W.; DUNCAN, J. R. Proteins, lipids and carbohydrates. In: LATIMER, K. S.; MAHAFFEY, E. A.; PRASSE, K. W. **Clinical pathology**. 4<sup>th</sup> Ed. Iowa: Iowa State Press, 2003. p. 162-192.

FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W. Canine diabetes mellitus. In: \_\_\_\_\_ **Canine and feline endocrinology and reproduction**. 3. ed. Philadelphia: WB Saunders, 2004. p. 580-615.

FERASIN, L.; NGUYENBA, T. P. Comparison of canine capillary and jugular venous blood lactate concentrations determined by use of an enzymatic-amperometric bedside system. **American Journal of Veterinary Research**, v. 69, n. 2, p. 208-211, 2008.

FORNI, L. G.; MCKINNON, W.; LORD, G.A.; TREACHER, D. F.; PERON, J. R.; HILTON, P. J. Circulating anions usually associated with the Krebs cycle in patients with metabolic acidosis. **Critical Care**, v. 9, n. 5, p. R591-R595, 2005.

GRECO, D.S. Endocrine emergencies. Part I. Endocrine pancreatic disorders. **The Compendium**, v.19, n.1, p.15-23, 1997.

HAGMAN, R.; REEZIGT, B.J.; LEDIN, H.B.; KARLSTAM, E. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, n.2, p. 1-9, 2009. Disponível em:  
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2630309/pdf/1751-0147-51-2.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2010.

HENDERSON, D. W.; SCHLESINGER, D. P. Use of a point-of-care beta-hydroxybutyrate sensor for detection of ketonemia in dogs. **Canine Veterinary Journal**, v. 51, n. 9, p. 1000-1002, 2010.

HESS, R.S.; SAUNDERS, H.M.; WINKLE, V.; WARD, C.R. Concurrent disorders in dogs with diabetes mellitus: 221 cases (1993-1998). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.217, n.8, p.1166-1173, 2000.

HUGHES, D.; ROZANSKI, E. R.; SHFER, F. S.; LASTER, L. L.; DROBATZ, K. J. Effect of sampling site, repeated sampling, pH, and PCO<sub>2</sub> on plasma lactate concentration in healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 60, n. 4, p. 521-524, 1999.

HUME, D.Z.; DROBATZ, K.J.; HESS, R.S. Outcome of dog with diabetic ketoacidosis: 127 dogs (1993-2003). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, p.547-555, 2006.

KONDOH, Y.; KAWASE, M. ;KAWAKAMI, Y. ;OHMORI, S. Concentrations of D-lactate and its related metabolic intermediates in liver, blood, and muscle of diabetic and starved rats. **Res Exp Med (Berl)** v. 192, n. 6, p. 407-414, 1992.

LAMB, G. D.; STEPHENSON, D. G.; BANGSBO, J.; JUEL, C. Point: counterpoint: lactic acid accumulation is an advantage/disadvantage during muscle activity. **Journal of Applied Physiology**, v. 100, p. 1410-1412, 2006.

LOSTE, A.; MARCA, M. C. Fructosamine and glycated hemoglobina in the assessment of glycaemic control in dogs. **Veterinary Research**, v. 32, p. 55-62, 2001.

LU, J.; ZELLO, G. A.; RANDELL, E.; ADELI, K.; KRAHN, J.; MENG, Q. H. Closing the anion gap: contribution of D-lactate to diabetic ketoacidosis. **Clinica Chimica Acta**, v. 412, n. 3-4, p. 286-291, 2011.

MACIEL, A.T.; PARK, M. A physicochemical acid-base approach for managing diabetic ketoacidosis, **Clinics**, v.64, n. 6, p.714-718, 2009.

MACINTIRE, D.K. Emergency therapy of diabetic crises: insulin overdose, diabetic ketoacidoses and hyperosmolar coma. **The Veterinary Clinics of North America. Small animal Practice**, v. 25, n.3, p. 639-650, 1995.

MACINTIRE, D.K. Treatment of diabetic ketoacidoses in dogs by continuous low-dose intravenous infusion of insulin. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.202, n.8, p.1266-1272, 1993.

NEMEC, A.; PECAR, J.; SELISKAR, A.; KOMPAN, L.; BUTINAR, J. Assessment of acid-base status and plasma lactate concentrations in arterial, mixed venous and portal blood from dogs during experimental hepatic blood inflow occlusion. **American Journal of Veterinary Research**, v. 64, n. 5, p. 599-608, 2003.

NICHOLS, R. Complication and concurrent disease associated with diabetes mellitus. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery**, v. 12, n. 4, p. 263-267, 1997.

NICHOLS, R.; CRENSHAW, K. L. Complications and concurrent disease associated with diabetic ketoacidosis and other severe forms of diabetes mellitus. **Diabetes Mellitus**, v. 25, n. 3, p. 617-650, 1995.

PEREIRA, J. C. R. **Análise de dados qualitativos**. São Paulo: EDUSP, 1999.

PHYPPERS, B.; PIERCE, J. M. Lactate physiology in health and disease. **Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain**, v. 6, n. 3, p. 128-132, 2006.

REAVEN, G. M.; HOLLENBECK, C.; JENG, C. Y.; WU, M. S.; CHEN, Y. D. Measurement of plasma glucose, free fatty acid, lactate, and insulin for 24 h in patients with NIDDM: **Diabetes**, v. 37, p. 1020-1024, 1988.

SHEIKH-ALI, M.; KARON, B. S.; BASU, A.; KUDVA, Y. C.; MULLER, L. A.; XU, J.; SCHWENK, W. F.; MILES, J. M. Can Serum  $\beta$ -Hydroxybutyrate Be Used to Diagnose Diabetic Ketoacidosis? **Diabetes Care**, v. 31, p. 643-647, 2008.

SIEGEL, S.; CASTELLAN JR, N. J. **NonParametric statistics for the behavioral science**. 2. ed. New York, NY: McGraw-Hill, 1988.

SILVA, R. D. **Avaliação dos distúrbios ácido- base e eletrolíticos de cães com cetose e cetoacidose diabetic**. 2006. 61 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

STEVENSON, C. K.; KIDNEY, B. A.; DUKE, T.; SNEAD, E. C.; JACKSON, M. L. Evaluation of the Accutrend for lactate measurement in dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n. 3, p. 261-266, 2007.

TAS, O.; DE ROOSTER, H.; BAERT, E.; DOOM, M. H.; DUCHATEAU, L. The accuracy of the Lactate Pro hand-held analyser to determine blood lactate in healthy dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 49, n. 10, p. 504-508, 2008.

THORNELOE, C.; BÉDARD, C.; BOYSEN, S. Evaluation of a hand-held lactate analyzer in dogs. **Canadian Veterinary Journal**, v. 48, p. 283–288, 2007.

TSUTSUI, H.; MOCHIZUKI, T.; MAEDA, T.; NOGE, I.; KITAGAWA, Y.; MIN, J. Z.; TODOROKI, K.; INOUE, K.; TOYO'OKA, T. Simultaneous determination of DL-lactic acid and DL-3-hydroxybutyric acid enantiomers in saliva of diabetes mellitus patients by high-throughput LC-ESI-MS/MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 404, n. 6-7, p. 1925-1934, 2012.

ZACHER, L. A.; BERG, J.; SHAW, S. P.; KUDEJ, R. K. Association between outcome and changes in plasma lactate concentration during presurgical treatment in dogs with gastric dilatation-volvulus: 64 cases (2002-2008). **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 236, n. 8, p. 892-897, 2010.

## APÊNDICE A- Características dos cães inclusos no grupo controle

ANIMAL	PRONTUÁRIO	RAÇA	SEXO	IDADE MESES	CASTRAÇÃO	PESO
1	225485	bullterrier	M	72	N	18
2	208257	pit bull	F	84	N	24
3	229114	lhasa apso	F	24	S	2,3
4	187934	labrador	M	48	N	42
5	222625	srd	M	36	N	13
6	222264	pit bull	F	60	N	28
7	228205	golden	F	24	N	24
8	227216	shar-pei	F	12	N	15
9	227214	shar-pei	F	12	N	16
10	229160	bulldog	M	60	N	14,2
11	227213	shar-pei	F	24	N	15,3
12	204606	shih tzu	M	94	N	6
13	227828	srd	M	62	N	6,7
14	228529	shih tzu	F	65	S	6,5
15	225885	pastor alemão	F	86	S	39,4
16	230294	srd	F	14	S	34
17	222443	golden	M	63	N	36
18	217667	srd	M	33	S	31,4
19	230476	srd	M	44	S	11,9
20	208546	pastor alemão	M	111	S	39,5
21	230485	srd	M	12	S	6,1
22	230498	srd	M	79	N	17
23	226965	labrador	F	35	N	35
24	218938	bull terrier	F	53	S	24
25	227689	pit bull	F	93	S	27

M: macho, F: fêmea, S: sim, N: não, srd: sem raça definida

## APÊNDICE B- Características dos cães inclusos no grupo ao diagnóstico

ANIMAL	PRONTUÁRIO	RAÇA	SEXO	IDADE	CASTRACÃO	TEMPO DE TRATAMENTO	PESO
1	228350	Labrador	M	108	N	ST	42
2	227858	Poodle	F	168	N	ST	4,8
3	227949	pastor alemão	F	96	N	ST	21
4	227015	Poodle	F	108	S	ST	6,8
5	227556	bull terrier	F	72	S	ST	20
6	229607	Poodle	F	132	S	ST	9,8
7	184065	Pug	M	120	S	ST	5,6
8	229416	Srd	F	120	N	ST	13
9	230056	Schnauzer	M	118	N	ST	8,3
10	230673	Cocker	F	101	S	ST	13,6
11	230786	Dachshund	F	144	N	ST	5,5
12	196719	Srd	F	125	S	ST	9,2
13	229378	Srd	M	108	N	ST	18,6
14	225323	lhasa apso	F	102	N	ST	5,2

M: macho, F: fêmea, S: sim, N: não, srd: sem raça definida, ST: sem tratamento

## APÊNDICE C- Características dos cães inclusos no grupo em tratamento

ANIMAL	PRONTUÁRIO	RAÇA	SEXO	IDADE	CASTRAÇÃO	TEMPO DE TRATAMENTO	PESO
1	184642	poodle	F	144	S	2 anos	6,3
2	201759	poodle	M	144	S	2 anos	7,8
3	221164	maltes	F	72	S	-	4,2
4	221875	poodle	F	156	S	-	5,2
5	223218	poodle	F	108	S	-	9
6	223243	pinscher	F	84	S	-	3,4
7	200416	pinscher	F	120	N	3 meses	4
8	215409	srd	F	96	S	3 anos	8,9
9	219334	rottweiler	F	156	S	1 ano	35,3
10	222296	srd	F	144	S	1 ano	23,6
11	224440	srd	F	96	N	3 meses	18
12	209146	lhasa apso	F	132	S	> 2 anos	5,4
13	221601	pug	M	72	N	-	8,9
14	113548	srd	F	144	S	1 ano	32
15	220943	srd	F	144	S	1 ano	14,8
16	224254	labrador	F	108	S	> 6 meses	33
17	199236	dachshund	F	84	N	1 ano	8,9
18	221018	maltes	M	120	N	> 1 ano	4,6
19	210690	labrador	F	120	S	2 anos	29
20	226412	srd	F	96	N	3 meses	10,8
21	221453	rottweiler	M	72	S	> 1 ano	39
22	229246	lhasa apso	M	84	S	6 meses	6
23	187539	srd	M	96	S	2 anos	14,2
24	221850	srd	M	120	N	1 ano	12,5

M: macho, F: fêmea, S: sim, N: não, srd: sem raça definida, ST: sem tratamento

## APÊNDICE D- Características dos cães inclusos no grupo em CAD

ANIMAL	PRONTUÁRIO	RAÇA	SEXO	IDADE	CASTRAÇÃO	TEMPO DE TRATAMENTO	PESO
1	229137	bichon frise	F	144	S	ST	14,7
2	228584	Daschshund	F	120	S	ST	7,8
3	220192	Srd	M	60	N	> 1 ano	9
4	159891	Schnauzer	M	120	S	6 anos	9,2
5	223134	Daschshund	F	132	N	>1	8
6	226573	fox paulistinha	F	144	S		3,2
7	224558	Cocker	F	120	N	ST	14
8	178652	Daschshund	F	120	S		7,5
9	228422	Srd	F	120	S	ST	13
10	228550	Labrador	M	132	N	ST	36
11	228551	Srd	F	132	N	> 2 anos	12,7
12	230076	Maltes	M	108	N	ST	2,8
13	229671	pit bull	M	96	S	ST	32,9
14	230079	Poodle	F	10	N	ST	5,8
15	230078	Dálmata	F	96	N	ST	22
16	218475	Srd	F	12	N	ST	14,1
17	229627	Srd	F	142	S	ST	16
18	217124	fox paulistinha	F	152	S	> 1 ano	2,3
19	230068	husky siberiano	M	96	S	ST	42
20	230331	poodle standart	M	120	S	ST	36
21	230891	Srd	F	156	S	ST	21
22	173955	Srd	F	129	N	> 1 ano	32
23	231094	Srd	F	144	S	ST	21,2

M: macho, F: fêmea, S: sim, N: não, srd: sem raça definida, ST: sem tratamento

APÊNDICE E- Valores da determinação do lactato, glicemia, frutossamina sérica e  $\beta$ -OHB dos cães inclusos no estudo.

ANIMAL	LACTATO	GLICEMIA	FRUTOSAMINA SÉRICA	$\beta$ -OHB
C1	2,26	97	456	0,2
C2	2,88	81	349	0,2
C3	3,01	77	444	0,3
C4	3	94	475	0,4
C5	2,12	92	428	0,2
C6	1,4	92	449	0,1
C7	1,5	85	459	0,2
C8	2,46	100	394	0,3
C9	2,05	92	462	0,5
C10	3,36	109	466	0,1
C11	1,78	103	338	0,2
C12	3,09	65	425	0,2
C13	0,82	109	367	0,2
C14	3,95	78	498	0,3
C15	1,54	86	382	0,2
C16	2,07	71	383	0,3
C17	1,03	76	406	0,4
C18	2,23	86	399	0,3
C19	2,78	91	402	0,3
C20	1,42	78	373	0,4
C21	2,73	97	303	0,3
C22	2,57	109	410	0,2
C23	2,24	86	463	0,1
C24	1,41	82	361	0,2
C25	0,82	60	356	0,2
D1	1,05	417	355	0,6
D2	1,37	400	578	0,5
D3	4,21	Hi	892	1,4
D4	2,45	351	688	0,3
D5	0,84	Hi	921	1
D6	2,11	Hi	740	1,6
D7	2,4	Hi	523	1,9
D8	1,52	398	841	0,9
D9	0,52	409	1010	0,7
D10	2,36	535	630	0,2
D11	1,69	Hi	461	4,9
D12	5,58	352	642	0,7
D13	1,13	600	344	0,8
D14	0,77	379	652	2,9
T1	3,21	279	524	0,4
T2	2,59	256	578	0,3

(Conclusão)				
T3	2,98	95	611	0,4
T4	1,15	160	721	0,2
T5	1,65	324	589	0,4
T6	3,68	143	612	0,2
T7	3,73	459	507	0,4
T8	2,65	348	517	0,4
T9	3,94	Hi	722	0,3
T10	4,56	104	609	0,2
T11	2,28	351	691	0,5
T12	2,41	319	574	0,2
T13	2,31		557	0,4
T14	1,73	222	593	0,2
T15	0,87	44	713	0,7
T16	1,23	202	601	0,3
T17	2,16	120	425	0,2
T18	1,86	237	679	0,2
T19	1,26	440	849	0,4
T20	2,82	354	866	0,2
T21	2,27	238	569	0,1
T22	1,36	238	661	0,1
T23	1,12	221	504	0,3
T24	1,89	297	653	0,2
CAD1	1,79	Hi	488	3,9
CAD2	6,49	Hi	392	5,9
CAD3	1,87	80	759	3,5
CAD4	2,9	353	304	1,1
CAD5	2,4		450	5,7
CAD6	13,86	Hi	478	5,3
CAD7	0,89	341	895	4,2
CAD8	1,02	379	586	6,8
CAD9	3,26	Hi	469	Hi (14)
CAD10	0,82	411	408	2,4
CAD11	2,01	305		1
CAD12	1,1	153		1,1
CAD13	2,5	428	853	4,2
CAD14	1,38	400	850	4,1
CAD15	3,12	287	878	7,8
CAD16	6,8	Hi	408	5,8
CAD17	2,6	287	501	3,7
CAD18	2,57	494	699	0,7
CAD19	2,19	129	340	0,7
CAD20	2,73	382	304	0,8
CAD21	1,36	600	456	5,8
CAD22	1,8	398	427	3,9
CAD23	2,04	600	524	4,2

C: controle, D: ao diagnóstico, T: em tratamento, CAD: cetoacidose diabética, Hi: *high*

APÊNDICE F- Comparação entre os valores de lactato obtidos aparelho portátil (I-Stat) e laboratório.

<b>ANIMAL</b>	<b>LACTATO I-STAT (mmol/L)</b>	<b>LACTATO I-STAT (mg/dL)</b>	<b>LACTATO LABORATÓRIO (mg/dL)</b>
229246	1,36	12,25	15,5
225485	2,26	20,36	22,3
208257	2,88	25,94	27,3
229114	3,01	27,12	29,6
222625	2,12	19,1	20,9
222264	1,4	12,61	14,4
228205	1,5	13,51	16,9
227216	2,46	22,16	23,5
227214	2,05	18,47	21,7
229160	3,36	30,27	31
227213	1,78	16,03	18,8
229607	2,11	19	18,5
229671	2,5	22,52	17,5
229416	1,52	13,69	15,9
229627	2,6	23,42	24,4
230056	0,52	4,68	4,7
227828	0,82	7,38	8,2
228529	3,95	35,58	34,4
217124	2,57	23,15	23,5
225885	1,54	13,87	12,1
230294	2,07	18,65	19,4
222443	1,03	9,28	10,7
230068	2,19	19,73	22,8
217667	2,23	20,09	21,5
230331	2,73	24,59	28
230476	2,78	25,04	18,7
208546	1,42	12,79	9,5
230485	2,73	24,59	27,7
230498	2,57	23,15	27,3
226965	2,24	20,18	43,7
218938	1,41	12,7	14,1
227689	0,82	7,38	11,1
230673	2,36	21,26	21,7
230786	1,69	15,22	15,6
230891	1,36	12,25	14,3
173955	1,8	16,21	17,5
231094	2,04	18,38	23,8
229378	1,13	10,18	13,4
225323	0,77	6,93	8,5