

ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E NAS CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE OCORRIDAS NAS DIFERENTES FASES DO CICLO ESTRAL DE CADELAS

HEMATOLOGICAL CHANGES AND GLUCOSE CONCENTRATIONS OCCURRED IN THE DIFFERENT PHASES OF THE CYCLE OF BITCHES

Marla SCHNEIDER¹, Ivo Walter dos SANTOS², Letícia GARCIA²; Lindomar
Fernandes PESSOA⁴; ROSA, Más Suzana⁵, Marilene Machado SILVA³ RESUMO:

O ciclo estral de cadelas é influenciado por diversos hormônios que além das alterações uterinas, causam efeitos sistêmicos, como é o caso da progesterona, que leva à resistência a insulina, reduzindo sua ligação aos receptores celulares e assim, o transporte de glicose nos tecidos. Com o objetivo de auxiliar os médicos veterinários da prática clínica, este estudo propôs relacionar as alterações hematológicas e concentração de glicose plasmática nas diferentes fases do ciclo estral de cadelas, identificando a fase do ciclo por citologia vaginal. Os resultados obtidos não tiveram significância estatística, porém demonstraram discreto aumento na glicose durante a fase progesterônica.

PALAVRAS-CHAVE: Glicose, Ciclo Estral, Estrogênio, Hematologia, Cães.

ABSTRACT:

The estrous cycle of bitches is influenced by several hormones that, in addition to uterine changes, cause systemic effects, such as progesterone, which leads to insulin resistance, reducing its binding to cellular receptors and thus, the transport of glucose into tissues. With the objective of assisting veterinarians in clinical practice, this study proposed to relate the hematological changes and plasma glucose concentration in the different phases of the estral cycle of bitches, identifying the phase of the cycle by vaginal cytology. The results obtained were not statistically significant, but showed a slight increase in glucose during the progesterone phase.

KEY-WORDS: Glucose, Estral Cycle, Estrogen, Hematology, Dogs

INTRODUÇÃO

Na rotina veterinária, é de grande importância a determinação da fase do ciclo estral, por exemplo, para a avaliação do ciclo reprodutivo, bem como para pré-operatório de ovário salpingo histerectomia e afecções genitais, e como a mensuração hormonal não é um teste

¹ Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná - UFPR -Palotina/Paraná – Brasil, marla.schneider.ufpr@gmail.com . Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, CEP:85950-000.

²Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná - UFPR -Palotina/Paraná – Brasil, santosiw@ufpr.br . Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, CEP:85950-000.

² Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná - UFPR -Palotina/Paraná – Brasil, lezavdoskigarcia@gmail.com . Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, CEP:85950-000.

⁴Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná - UFPR -Palotina/Paraná – Brasil, peessoa.lindomarf@gmail.com . Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, CEP:85950-000.

⁵Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná - UFPR -Palotina/Paraná – Brasil, pedro_argel@hotmail.com . Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, CEP:85950-000.

³ Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná - UFPR -Palotina/Paraná – Brasil, marilenems@ufpr.br . Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, CEP:85950-000.

de fácil acesso, a citologia vaginal vem sendo utilizada para tal classificação (OLIVEIRA, MARQUES, 2006).

O ciclo estral de cadelas é dividido em pró-estro, estro, diestro e anestro, sendo o estrógeno o hormônio predominante nas duas primeiras fases, e a progesterona predominante na terceira fase do ciclo. Já durante o anestro, ocorre a chamada quiescência (MIALOT, 1988).

As manifestações variam conforme a fase do ciclo, no pró-estro pode ou não ocorrer descarga vaginal hemorrágica devido à diapedese eritrocitária através do endométrio e ruptura capilar subepitelial, além disso, ocorre a edemaciação e hipertrofia da vulva, aumento na atividade da glândula mamária, dilatação da cervix e o espessamento do endométrio (MIALOT, 1988; FELDMAN, NELSON, 2003). Já o estro ocorre quando há o declínio na concentração de estrógeno logo após o pico do hormônio luteinizante (LH) e aumento gradual da progesterona que leva ao comportamento de estro e aceitação de monta (OLSON, NETT, 1986). O diestro corresponde à fase de atividade do corpo lúteo onde há o predomínio da progesterona, a fêmea recusa a monta e não atrai mais os machos e a vulva volta ao tamanho e coloração normais (FELDMAN, NELSON, 2003). Durante o anestro, não há diferença comportamental quando comparado ao diestro e a progesterona e o LH encontram-se em níveis basais, enquanto o estrogênio aumenta gradativamente (ETTINGER, 1992; GONÇALVES et al., 2002).

As diferentes concentrações dos hormônios durante as fases do ciclo estral levam a alterações nas células predominantes na citologia vaginal. É possível identificar na citologia vaginal de uma cadela em pró-estro, o predomínio de células intermediárias; durante o estro, há células superficiais nucleadas ou anucleadas e no diestro e anestro há predomínio de células intermediárias e parabasais (MIALOT, 1988). As células parabasais têm forma esférica ou oval, com núcleo grande e pequena quantidade de citoplasma, já as intermediárias são maiores que as parabasais, possuem núcleo menor, maior quantidade de citoplasma e podem ser até duas vezes maiores que as parabasais e, por fim, as células superficiais anucleadas ou com núcleo picnótico, são as maiores células encontradas, são queratinizadas e com bordas angulares. Para diferenciar com maior precisão, outras características são avaliadas concomitantemente, como a coloração das células, a relação núcleo-citoplasma, presença e quantidade de hemácias e leucócitos (RAPOSO, SILVA, 1999)

O hemograma é utilizado muito comumente na rotina da clínica veterinária de pequenos animais, pois traz uma base do estado geral do paciente, sendo utilizado para auxílio diagnóstico, prognóstico e monitoramento de tratamento (CARDOZO et al., 2013). É composto por avaliação de série vermelha, série branca e plaquetas que podem ser alteradas por diferentes doenças.

Wilson et al.(2012) constataram a diminuição nos valores de hematócrito e hemoglobina, durante o diestro, ou seja, na fase progesterônica.

Poppl et al. (2007), descreveram o efeito antagônico direto que a progesterona causa sobre a insulina, o que diminui o transporte de glicose para tecidos. Sabendo que a mensuração da insulina é onerosa e nem sempre acessível, a diminuição ou aumento da concentração de glicose sanguínea sem outra afecção concomitante pode estar relacionada a cada fase do ciclo estral correspondente à citologia vaginal. Outro trabalho diz que em animais diabéticos a resistência à insulina é frequente durante o estro e diestro, pela influência da progesterona, causando também aumento na glicemia (SCARAMAL, et al. 1997).

O objetivo deste estudo foi definir as fases do ciclo estral de cadelas por citologia vaginal e correlacionar com a mensuração de glicose sanguínea e análise hematológica, a fim de identificar possíveis alterações decorrentes das diferentes fases estrais.

DESENVOLVIMENTO

Material e Métodos

Para este estudo foram utilizados 40 cães fêmeas sadias, entre um e sete anos de idade, não castradas, atendidas na rotina da clínica médica de pequenos animais e projeto de controle populacional de cães e gatos do Hospital Veterinária da Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina. Após avaliação clínica, os animais que atenderam aos requisitos descritos acima, foram submetidos à coleta de sangue venoso, e citologia vaginal.

Para classificação dos animais de acordo com a fase do ciclo estral foi realizada a citologia vaginal que ocorreu, afastando os lábios vulvares e utilizando zaragatoa umedecida em solução fisiológica 0,9%, que foi introduzida na vagina e logo após retirada para coleta de elementos situados sobre a mucosa vaginal. Em seguida, a zaragatoa foi rolada na superfície de uma lâmina e corada com a técnica de HarrisShorr, a leitura foi

feita em microscópio óptico com aumento de 400X para determinação da porcentagem de células parabasais, intermediárias e superficiais (nucleadas ou anucleadas).

Os animais foram divididos em quatro grupos segundo as fases pró-estro, estro, diestro e anestro com 10 cadelas em cada grupo.

As amostras de sangue foram coletadas da veia cefálica ou jugular externa, armazenadas em tubos do tipo vacutainer® com fluoreto de sódio para mensuração de glicemia, e com EDTA para hemograma. O tubo para quantificação de glicose foi centrifugado a 3.000rpm por 5 minutos e o sobrenadante separado para dosagem com Analisador Bioquímico Automático, marca MINDRAY, MODELO BS120. A contagem de hemácias, leucócitos e plaquetas, bem como de hemoglobina feita por Contador Automático de Células, Marca MINDRAY, MODELO BC2800VET e hematócrito por meio de centrifugação de capilar. A contagem diferencial realizada no esfregaço sanguíneo para diferenciação do padrão leucocitário ao microscópio óptico com aumento de 1000X.

Os resultados foram tabulados e as médias dos valores hematológicos e a glicemia comparados entre os grupos pelo método estatístico ANOVA seguido por TUKEY ($p < 0,05$).

Resultados

O presente estudo não demonstrou diferença estatística em relação às fases do ciclo estral de cadelas, considerando os parâmetros de hemograma e mensuração de glicose conforme descrito na **Tabela 1**.

Tabela 1: Valores de média e desvio padrão dos resultados obtidos de hemograma completo e mensuração de glicose dos 40 animais avaliados.

	PROESTRO	ESTRO	DIESTRO	ANESTRO	Valores de Referência*
Hemácias (milhões/uL)	6,00±0,63	5,92±0,80	6,19±0,55	6,05±0,26	5,5-8,5
Hemoglobina (g/dL)	14,83±1,70	14,4±1,47	14,55±1,67	14,00±0	12-18
Hematócrito (%)	45,75±3,38	45,78±5,11	46,47±4,88	46,00±2,82	37-55

Proteínas Plasmáticas Totais (g/dL)		7,27±0,88	7,53±1,20	7,31±0,97	7,60±0,56	6-8
Plaquetas (plaq/uL)		298833±76550	331222±165515	353588±98896	343500±54447	200.000-500.000
Leucócitos (uL)		12308±3776	11477±5874	11911±3651	12650±4171	6.000-17.000
Diferencial (uL)	Bastonetes	113,67±82,35	786,00±0	147,00±0	0	0 a 300
	Segmentados	14222,58±22831,47	7720,22±5062,88	7794,82±2505,87	8821,50±540,93	3000 a 11.500
	Eosinófilos	2311,33±4799,16	2383,33±5548,42	919,76±669,13	955,00±1076,21	100 a 1.200
	Monócitos	853,75±1423,07	426,89±262,93	688,00±1210,15	487,00±414,36	0 a 1200
	Linfócitos	4792,25±6033,62	2679,33±1081,36	2816,06±1545,90	2386,50±2140,41	1000 a 5000*
Glicose (mg/dL)		91,01±21,66	99,51±20,28	100,71±14	102,00±4,24	65-118**

*THRALL et al., 2012. **KANEKO, HARVEY, BRUSS., 2008.

De acordo com o exposto não foi observada diferença estatística entre os parâmetros avaliados.

Discussão

As principais alterações esperadas neste estudo eram aumento de glicemia, a diminuição de hematócrito e hemácias durante a fase progesterônica, que não ocorreram com significância estatística, possivelmente devido ao pequeno número de animais avaliados.

No hemograma, também não foi observada diferença estatística, porém houve decréscimo mínimo de hemácias e hemoglobina durante a fase estrogênica, sem de fato ocorrer anemia, mas indicando a possível influência na eritropoiese. Lopes et al.(2007) citaram esse efeito, e Stockham & Scott (2011) apontam esse tipo de alteração em casos de neoplasias com aumento na produção de estrogênio.

Michelon et al.(2006) descreveram a fisiologia da gestação e a importância da progesterona na regulação imune, considerando o reconhecimento materno-fetal. Nesta

[Digite texto]

fase, ocorre comunicação por citocinas, receptores e moléculas que objetivam a inibição nas defesas do organismo de forma a aceitar a presença fetal. Sabendo disso as alterações nas análises hematológicas são justificáveis nesta fase, bem como no diestro onde ocorre a predominância deste mesmo hormônio.

Wilson et al.(2012) relataram a diminuição de hemácias, hematócrito e hemoglobina, além de eosinofilia durante o diestro, não observadas no presente estudo. Eles ressaltaram que as variações foram sutis, porém em associação a outras afecções podem ter relevância, ou seja, quando avaliada uma fêmea da espécie canina, deve-se levar em consideração a fase estral. Os autores ressaltaram também sobre o tamanho do grupo estudado que no caso foram 83 animais e mesmo assim observaram alterações mínimas. Sabendo disso, as variações esperadas em nosso estudo com 40 cadelas podem estar diretamente relacionadas ao baixo número de animais avaliados, e por isso não gerando significância estatística.

Os valores da concentração de glicose dos 40 animais avaliados, não demonstraram significância estatística, porém se comparadas as médias de glicemia nas diferentes fases estrais, pode-se notar aumento gradativo na fase progesterônica comparada à estrogênica, o que corrobora com a literatura que indica a resistência à insulina pela influência da progesterona, (Poppl et al., 2007). Concannon et al.(2009) e Rijnberk et al. (2003), descreveram o aumento da progesterona na fase lútea e que este pode causar a resistência a insulina, causando efeito antagônico durante o diestro. Mas durante o anestro este mesmo hormônio se encontra em níveis basais, o que significa que não deveria influenciar o mecanismo de resistência à insulina, consequentemente também na glicemia, porém, foi constatado discreto aumento nas concentrações de glicose durante o anestro, o que contradiz a literatura. Sacaramal et al. (1997), relataram que cadelas diabéticas mostraram-se com níveis de concentração de glicose aumentados durante o anestro, o que poderia justificar os dados coletados. Porém os animais estudados não apresentaram predisposição conhecida para tal doença (o que necessitaria de um estudo mais aprofundado). Outra possibilidade é a interferência do cortisol nas concentrações de glicose, que durante o estresse de coleta e contenção podem levar ao aumento da glicemia, justificando essa alteração no anestro (EIGLER, et al. 1979).

CONCLUSÕES

Concluiu-se neste trabalho que não houve alterações nos parâmetros, possivelmente por o número de animais ser insuficiente e as variáveis alterarem de forma sutil, sugerindo para outras pesquisas um número maior de animais avaliados. Este trabalho indica a importância da classificação do ciclo estral no atendimento clínico de fêmeas da espécie canina, pois as alterações hormonais podem interferir nos resultados dos exames solicitados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARDOZO, R.M.; REIS, R.; BARBOSA, M.J.B.; ALCALÁ, C.O.R.; ASSIS, M.F. Avaliação hematológica em cães errantes da região urbana de Maringá-PR. PUBVET, **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.7, n.26, Ed.249, Art.1645, Sup. 2, 2013.

CONCANNON, P.W.; CASTRACANE, V.D.; TEMPLE, M.; MONTANEZ, A. Endocrine control of ovarian function in dogs and other carnivores. **Anim. Reprod.**, v.6, n.1, p.172-193, 2009.

EIGLER, N.; SACCA, L.; SHERWIN, R.S. Synergistic Interactions of Physiologic Increments of Glucagon, Epinephrine, and Cortisol in the Dog. **J. Clin. Invest.**,v.63, p.114-123, 1979.

ETTINGER, S.J. **Tratado de medicina interna veterinária**. 3º Ed. São Paulo: Manole, v.4, p.1857-1869, 1992.

FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. **Canine and feline endocrinology and reproduction**. 3º Ed. Philadelphia: W.B.Saunders, p.1089, 2003.

GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. Varela Editora e Livraria, São Paulo, 2002.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 6ºEd. Academic Press, 2008.

KEER, M.G. **Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária**. 2º Ed. São Paulo, Editora ROCA, 2003.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. **Manual de patologia clínica veterinária**. 3º Edição, UFSM – Santa Maria, 2007.

MIALOT, J. Patologia da reprodução dos carnívoros domésticos. **Editora A hora veterinária**, p.18-27, 1984.

MICHELON, C.J.; CHANDRA, S.A.; KIMBROUGH, C.L.; JORDAN, H.L. Effect of cycle phase on clinical pathology values in beagle dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v.41, n.1, p.71-76, 2012.

OLIVEIRA, E.C.S.; MARQUES Jr, A.P. Endocrinologia reprodutiva e controle da fertilidade da cadela. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, n.1/2, p.11-18, 2006.

OLSON, P.N.; NETT, T.M. Reproductive endocrinology and physiology of the bitch. In: Morrow DA. (Ed.) **Currenty therapy in theriogenology**. Ed. 2, p.453-457, 1986.

POPPL, A.G.; MOTTIN, T.S.; DIAS, C.B.; BREITSMATER, I.; BECK, C.A.C.; LASTA, C.; GONZÁLEZ, F.H.D.; KUCHARSKI, L.C.; SILVA, R.S.M. Estudo preliminar da ligação hormônio-receptor da insulina à membranas de músculo e da tolerância à glicose em fêmeas caninas durante o ciclo estral. **Acta Scientiae Veterinariae**, nº 35, p.462-464, 2007.

RAPOSO, R.A.; SILVA, L.D.M. Comparação qualitativa de diferentes técnicas de coloração para citologia vaginal de cabras da raça saanen. **Ciência Animal**, v.9, n.2, p.81-85, 1999.

RIJNBERK, A.; KOOISTRA, H.S.; MOL, J.A. Endocrine diseases in dogs and cats: similarities and differences with endocrine diseases in humans. **I Growth Hormone &IGF Research**, v.13, p.158-164, 2003.

SCARAMAL, J.D., RENAULD A., GÓMEZ N.V., GARRIDO D., WANKE M.M., MÁRQUEZ A.G. Natural estrous cycle in normal and diabetic bitches in relation to glucose and insulin tests. **Medicina (Buenos Aires)**, n.57, v.2, p.169-180, 1997.

STOCKHAM S.L. & SCOTT M.A. **Fundamentos da patologia clínica veterinária**. 2º Ed., Rio de janeiro, Editora Guanabara, 2011.

THRALL, M.A.; WEISER, G.; ALLISON, R.W.; CAMPBELL, T.W. **In: Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. 2ºEd. WILEY-BLACKWELL, 2012.

WILSON, C.J.; CHANDRA, S.S.; KIMBROUGH C.L.; JORDAN, H.L. Effect of estrous cycle phase on clinical pathology values in beagle dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v.41, n.1, p.71-76, 2012.

[Digite texto]