

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ZINCO EM CÃES PORTADORES DE DOENÇA
INFLAMATÓRIA INTESTINAL**

Danny Elis Simioni

Porto Alegre, RS
2019/2

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ZINCO EM CÃES PORTADORES DE DOENÇA
INFLAMATÓRIA INTESTINAL**

Autora: Danny Elis Simioni

Orientadora: Anelise Bonilla Trindade
Gerardi

Monografia apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção da graduação no curso de Medicina Veterinária.

Porto Alegre, RS
2019/2

**CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ZINCO EM CÃES PORTADORES DE DOENÇA
INFLAMATÓRIA INTESTINAL**

Aprovado em 16/12/2019

APROVADO POR:

Prof. Anelise Bonilla Trindade Gerardi

Orientadora

Prof. Régis Adriel Zanette

Membro da Banca

Prof. Rui Fernando Félix Lopes

Membro da Banca

Dedico esta conquista à minha avó, Stephânia Dziudzik (in memorian) e à a minha avó do coração, Maria Alice do Nascimento Jorge (in memorian).

Saudades eternas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos da minha família, por serem minha base durante minha vida inteira. Sem vocês eu não teria chegado até aqui. Todos os conselhos, conversas, palavras de incentivos e puxões de orelha foram essenciais para que eu me tornasse quem eu sou hoje e para que eu estivesse preparada para o desafio de fazer uma graduação a mais de 1000 km de casa. A história de cada um de vocês são minhas fontes de inspiração e motivo de orgulho, por saber que tenho em minhas origens pessoas tão fortes quanto vocês.

Agradeço ao meu pai, Dalny Jefferson Simioni, por ter batalhado incansavelmente para proporcionar aos seus filhos estudo de qualidade, nos dando oportunidades que muitos dos que vieram antes de nós não tiveram. Hoje os teus 3 filhos são ou serão *filhos* de Universidades Públicas de qualidade graças ao teu trabalho honesto e empenho em melhorar sempre. Teus filhos tem muito orgulho da pessoa que você é.

Agradeço à minha mãe, pelo exemplo de resiliência que é, e por me ensinar desde cedo a lutar pela minha autonomia e independência. A vida longe da casa dos pais nem sempre é fácil, mas graças aos teus ensinamentos eu cheguei até aqui. Você me ensinou a sempre acreditar em mim e na minha capacidade de obter sucesso em qualquer objetivo que eu tenha na vida.

Agradeço à minha *mãe do coração*, Maria Tereza do Nascimento Jorge, pelo exemplo incrível de lealdade, dedicação e honestidade que és. Com você eu aprendi valores que trago sempre comigo e que espero algum dia ensinar aos meus filhos.

Agradeço aos meus irmãos, Marcus Vinicius Simioni e Stephânia Jorge Simioni. Vocês são o meu Norte nos momentos de dúvida, meu colo nos momentos em que eu preciso da cumplicidade que só quem conhece toda a nossa história pode oferecer e minha inspiração nas horas de dificuldade.

Agradeço ao meu namorado, Luciano da Silva Berchon por todos esses anos de parceria e cumplicidade. Obrigada por me lembrar que o amor pode ser leve, companheiro, respeitoso e compreensivo. Obrigada por permanecer ao meu lado durante todas as dificuldades que enfrentamos ao longo dos últimos anos e por ser incansável em todos os momentos em que precisei de alguém pra me carregar. Que o nosso caminho nos permita seguir juntos pelo resto de nossas vidas, nos fortaleça e nos aproxime ainda mais, e que o nosso amor continue crescendo incondicionalmente.

Agradeço aos meus amigos por toda a parceria nas melhores e piores situações, em especial para a Alessandra Wolter, Evelyn Torcato, Dannea, Natália Machado Silva, Isadora Lima, Isadora Vicente, Camila Rosa, Rodrigo Meleu, Renata Karina, Maria Victoria, Kirian Renata, entre tantos outros que fizeram parte da minha caminhada até aqui. A vida me presenteou com os melhores companheiros que uma pessoa poderia ter e eu sinto imensa gratidão ao universo por ter permitido nosso encontro para que possamos viver tantas experiências incríveis. Vocês são minha família, meu colo, meu amparo e minha vida aqui em Porto Alegre.

Agradeço ao Giuliano Pereira de Barros por toda a ajuda com o TCC, mesmo com os 600 km nos separando, e por todas as infinitas demonstrações de amizade incondicional que recebi ao longo de todos esses anos. Te desejo toda a felicidade e sucesso do mundo e saiba que você pode contar comigo sempre que precisar, pro que der e vier.

Agradeço à minha comadre, Marília Olea, pela amizade que apareceu de forma improvável e em um dos momentos mais críticos da minha depressão, ajudou a me reerguer e a acreditar novamente em mim. Obrigada também pelo presente mais lindo que já ganhei de uma amiga: a minha afilhada Julia, que é um serzinho iluminado e fonte de infinita alegria. Que eu possa retribuir a você e a sua família todo amor e felicidade que vocês me trazem.

Agradeço à família do meu namorado por todo carinho que sempre recebi de vocês. Obrigada por desde o primeiro dia me fazer sentir em casa e por todo o apoio que deram a mim e ao Luciano ao longo de todos esses anos.

Agradeço à minha psicóloga, Ana Carolina Ravazzolo, por ser uma excelente profissional e por ter sido crucial para que eu pudesse seguir em frente quando tudo parecia estar perdido.

Agradeço aos meus bons professores da graduação, em especial à Inês Andretta, ao Rui Félix e ao Régis Zanette. Que o tempo, os problemas e desafios encontradas ao longo das suas trajetórias profissionais não sejam capazes de endurecer seus corações nem de esgotar a empatia de vocês. A faculdade pode ser um lugar muito tóxico que nos faz duvidar de nós mesmos e cogitarmos mil vezes a possibilidade de abandonar os nossos sonhos profissionais, mas encontrar professores como vocês nos dá fôlego para chegarmos até o fim. Obrigada por fazerem parte do time de pessoas que me ajudaram de infinitas formas a concluir a graduação.

Agradeço a minha orientadora, Anelise Bonilla, por aceitar a minha ideia insana pro TCC e por me ajudar a manter a calma ao longo do semestre, especialmente nos momentos de ansiedade e de medo que tudo desse errado.

Finalmente, agradeço também à *mãe* UFRGS pelo ensino superior público de qualidade.
Que os tempos sombrios de hoje não sejam capazes de diminuir a tua grandeza.

EPÍGRAFE

*“Pelo simples ato de um mergulho
ao desconhecido mundo que é o coração
alcançar aquele universo que sempre se quis
e que se pôs tão longe na imaginação.
Vai o bicho homem fruto da semente
renascer da própria força, própria luz e fé.
Entender que tudo é nosso,
sempre esteve em nós
somos a semente, ato, mente e voz.*

(Luiz Gonzaga Júnior)

RESUMO

A doença inflamatória intestinal (DII) é um distúrbio inflamatório que envolve o trato gastrointestinal. Os cães podem desenvolver a doença, sendo as manifestações clínicas mais comuns a perda de peso, vômitos e/ou diarreia. Pode levar à deficiência de proteínas, vitaminas e de macro e microelementos como o zinco (Zn). A baixa concentração sérica de Zn é comum em humanos com DII, o que contribui com a exacerbação da inflamação intestinal, com a ocorrência de fístulas e abscessos intestinais, além de atrasar a cicatrização de tecidos lesionados. Desta maneira, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a concentração sérica de Zn em cães com DII e correlacionar com o índice de atividade da doença inflamatória intestinal (CCECAI-*Canine Chronic Enteropathy Clinical Index*). O trabalho foi aprovado pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) sob o protocolo número 33381. Foram selecionados para o estudo 13 cães, sendo 10 com diagnóstico histopatológico de DII e três cães hígidos para avaliar a concentração sérica de Zn. Todos os animais passaram por exame clínico geral. Os resultados obtidos mostram que 40% dos cães com DII analisados apresentam concentração sérica de zinco abaixo dos níveis esperados para a espécie, prevalência semelhante à encontrada em estudos com pacientes humanos. A correlação de Spearman mostrou que existe uma correlação negativa e intensa ($\rho = -0,6$) entre as variáveis analisadas segundo um nível de significância menor que 5% ($p = 0,03$) nos cães do presente estudo. Conclui-se que cães com DII podem apresentar deficiência de Zn como consequência, independente do grau de severidade clínica apresentada pelos mesmos.

Palavras-chave: Vômito, diarreia, gastrite, enterite, minerais, deficiência, canino.

ABSTRACT

Inflammatory bowel disease (DII) is an inflammatory disorder that involves the gastrointestinal tract. Dogs may develop the disease, the most common clinical manifestations being weight loss, vomiting and / or diarrhea. It can lead to protein, vitamin and macro and microelement deficiencies such as zinc (Zn). Low serum Zn concentration is common in humans with DII, which contributes to exacerbation of intestinal inflammation, the occurrence of intestinal fistulas and abscesses, and delayed healing of injured tissues. Thus, the present study aimed to evaluate the serum concentration of Zn in dogs with DII and correlate with the activity index of inflammatory bowel disease (CCECAI-Canine Chronic Enteropathy Clinical Index). The study was approved by the Animal Use Ethics Committee (CEUA) under protocol number 33381. Thirteen dogs were selected for the study, 10 with histopathological diagnosis of DII and three healthy dogs to evaluate serum Zn concentration. All animals underwent general clinical examination. The results show that 40% of dogs with DII analyzed presented serum zinc concentration below the expected levels for the species, a prevalence similar to that found in studies with human patients. Spearman's correlation showed that there is a negative and intense correlation ($\rho = -0.6$) between the variables analyzed according to a significance level of 5% ($p = 0.03$) in the dogs of the present study. It can be concluded that dogs with inflammatory bowel disease may present zinc deficiency as a consequence, regardless of the degree of clinical severity presented by them.

Keywords: Vomiting, diarrhea, gastritis, enteritis, minerals, deficiency, canine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Grau de atividade da doença inflamatória intestinal em cães segundo o escore *Canine Chronic Enteropathy Clinical Index (CCECAI)* e seus respectivos níveis séricos de Zinco (mcg/mL). 25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Variáveis independentes utilizadas para o índice de atividade da doença inflamatória intestinal clinicamente.	20
Tabela 2 - Resultados das análises da concentração sérica de zinco e do <i>Canine Chronic Enteropathy Clinical Index</i> (CCECAI) por canino (grupos doença e controle).....	23
Tabela 3 – Lesões macroscópicas e histopatológicas observadas na endoscopia e biopsia do trato gastrointestinal de cães do grupo doença.	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT - Alanina aminotransferase

CCECAI - *Canine chronic enteropathy clinical index*

CEE - Enterocolite eosinofílica

CHU - Colite histocítica ulcerativa

CPR – Proteína C-reativa

DII – Doença inflamatória intestinal

DC - Doença de Crohn

EDTA - Ácido etilenodiamínico tetra-acético

ELP - Enterite linfocítico-plasmocítica

FA – Fosfatase alcalina

GEC - Gastroenterocolite

GEE - Gastroenterite eosinofílica

DII – Inflammatory bowel disease

IFN- γ - Interferon gama

IL2 – Interleucina 2

IL6 – Interleucina 6

MMP2 – Metaloproteinases da matriz-2

MMP9 – Metaloproteinases da matriz-9

NK - Células *Natural Killer*

RRP - Receptores de reconhecimento de padrões

RCUI - Retocolite ulcerativa

SRD – Sem raça definida

TGI – Trato gastrointestinal

TH1 – Células T-helper 1

TNF – Fator de necrose tumoral

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

VHS - Velocidade de sedimentação de eritrócitos

Zn – Zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
2.1 ANIMAIS	19
2.2 EXAME CLÍNICO GERAL.....	19
2.3 AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE ZINCO.....	21
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
3.1 RESULTADOS	23
3.2 DISCUSSÃO	25
4 CONCLUSÃO.....	29
ANEXO 1.....	34
ANEXO 2.....	36
ANEXO 3.....	37

1 INTRODUÇÃO

A doença inflamatória intestinal (DII) é a denominação geral dada para os distúrbios inflamatórios de causa desconhecida, envolvendo o trato gastrointestinal (TGI). O seu diagnóstico envolve o estudo dos sinais clínicos, ambiente em que o paciente habita, histórico, achados físicos, testes clínico-patológicos, diagnóstico por imagem e histopatologia das biópsias intestinais (SIMPSON; JERGENS, 2011).

Os cães podem desenvolver a DII, sendo parte das enteropatias crônicas quando os sinais persistirem por mais de três semanas. O correto diagnóstico da doença inclui análise histopatológica de inflamação da mucosa além da exclusão de todas as outras possíveis causas de enterite. Segundo Cerquetella *et al.* (2010), a DII é classificada de acordo com os tipos celulares predominantes que se infiltram na parede intestinal e do local onde ocorre. Assim, as doenças crônicas do intestino delgado que podem ser incluídas na DII são a enterite linfocítico-plasmocítica (ELP), a enterite eosinofílica e a gastroenterite eosinofílica (GEE). Em relação ao intestino grosso, quatro condições principais são reconhecidas como DII em cães: colite linfocítico-plasmocítica, colite eosinofílica, colite histocítica ulcerativa (CHU) e colite granulomatosa regional. As seguintes doenças podem envolver ao mesmo tempo o intestino delgado e o intestino grosso e, por vezes, pode até mesmo incluir o estômago, são referidas como enterocolite linfocítico-plasmocítica, enterocolite eosinofílica (CEE) ou gastroenterocolite (GEC) e gastroenterite granulomatosa (CERQUETELLA *et al.*, 2010). Em cães, acredita-se que o desenvolvimento da DII se origine como consequência de uma desregulação da imunidade da mucosa intestinal em animais predispostos (ZOLAN, 2005). A perda de tolerância a antígenos (alimentos e microrganismos intestinais) é um dos mecanismos mais estudados que poderia justificar o desenvolvimento de inflamação intestinal crônica (GERMAN; HALL; DAY, 2003).

Em humanos, a etiologia da DII ainda não está totalmente elucidada, porém acredita-se que o desequilíbrio entre fatores pró-inflamatórios e a resposta anti-inflamatória mediada pelas células T; o desvio da resposta imunitária em consequência de defeitos na apresentação de antígenos; a disfunção relacionada com a não integridade da barreira epitelial; ou um desequilíbrio da microbiota normal e da sua relação com o hospedeiro são fatores desencadeadores da doença (SILVA, 2016). Já foi demonstrado que a composição bacteriana intestinal não difere em cães com DII, nem entre o estado de tratamento, no entanto as taxas bacterianas mostraram diferenças nas quantidades (KALENYAK *et al.*, 2018). Ainda, evidências crescentes apoiam a importância da dieta no desenvolvimento da DII canina. Em

estudos anteriores, cães da raça setter irlandês desenvolveram uma enteropatia relacionada à ingestão de glúten e, em cães da soft coated wheaten terrier, foram descritas reações adversas ao milho, tofu, queijo cottage, leite, farinha com creme de trigo e cordeiro (SIMPSON; JERGENS, 2011).

Em cães, a DII é mais comum em adultos de meia-idade podendo ocorrer em animais mais jovens, não havendo predisposição sexual. Em relação à raça, algumas raças caninas apresentam maior predisposição como é o caso do basenji, do wheaten terrier, do boxer, do golden retriever, do bulldog francês, do mastiff, malamute, do dobermann pinscher, shar-pei, do lundehund norueguês, do pastor alemão e do rottweiler (TAMS, 2005; GUÍMARO, 2010). Pode afetar qualquer segmento tanto do intestino delgado quanto do grosso e, até mesmo, causar alterações gástricas. Geralmente é difusa, mas pode causar alterações focais ou segmentares (GAMEIRO, 2016). As manifestações clínicas da DII em cães são variadas e inespecíficas, sendo os sinais mais comuns a perda de peso, vômitos persistentes ou recorrentes e/ou diarreia (CERQUETELLA *et al.*, 2010). A base imunomediada da doença pode ser compreendida pela resposta à administração de fármacos imunomoduladores; a presença de aumento de células positivas para IgE em cães doentes em comparação com cães saudáveis é outro aspecto que também sugere o envolvimento de reações de hipersensibilidade na patogênese da DII canina, bem como o aumento da concentração de eosinófilos e mastócitos em muitos cães com GEE. A interrupção da barreira mucosa, independentemente da causa primária (bacteriana, química, etc.), também pode levar a uma exposição adicional ao antígeno, permitindo que o processo se torne crônico, e é imposta pela redução da apoptose dos linfócitos (LOCHER *et al.*, 2001; GREGER *et al.*, 2006; DANDRIEUX *et al.*, 2008).

A homeostase no trato digestivo é mantida pelo equilíbrio entre as reações aos patógenos e às bactérias comensais ou outros antígenos luminiais inofensivos (indução de tolerância) que são mediados por diferentes moléculas. A existência de tolerância da mucosa intestinal é extremamente importante, pois em sua ausência, a resposta inflamatória consequente pode ser exacerbada e prejudicial. Essa tolerância provavelmente se baseia no fato de o antígeno ser apresentado ou não, contextualmente a outros sinais de perigo. A diferença entre tolerância e reação também se baseia em receptores de reconhecimento de padrões capazes de reconhecer a microbiota de acordo com seus padrões moleculares associados a patógenos ou padrões moleculares associados a microrganismos (CERQUETELLA *et al.*, 2010).

Em cães com DII podem ser observadas hipoproteinemia, hipocalcemia, hipocolesterolemia, aumentos na amilase sérica, hipocalcemia, hipopotassemia, aumentos leves nos níveis séricos de enzimas hepáticas, baixos níveis séricos de folato e cobalamina, eosinofilia

associada ou não à enterite eosinofílica, anemia microcítica pode estar presente associada à perda crônica de sangue, e a anemia não responsiva, quando presente, reflete anemia de doença crônica ou inflamatória. A eritrocitose está associada à perda de líquidos por vômito e diarreia, e um leucograma de estresse pode ser observado (DEFARGES, [s.d.]). A proteína C reativa (CPR, do inglês *C reactive protein*) é um biomarcador melhor estabelecido na DII. Níveis elevados desta proteína em pacientes com sintomas gastrointestinais crônicos devem conduzir ao início de investigações que permitam a definitiva exclusão do diagnóstico de DII (SILVA, 2013). Com base na análise dos sinais clínicos mais frequentes, foi proposto um conjunto de critérios de avaliação chamado de Índice de Atividade de Doenças Inflamatórias Caninas (CCECAI), com o objetivo de classificar a intensidade da inflamação, monitorar o tratamento e detectar recidivas precoces (JERGENS *et al.*, 2003). Outros estudos disponíveis sustentam a conclusão de que a imagem clínica na progressão da doença inflamatória intestinal canina é determinada pela localização do processo inflamatório e pela intensidade das lesões histopatológicas (GUÍMARO, 2010).

O prognóstico da DII é reservado e a qualidade de vida dos pacientes afetados é baixa, sendo que as remissões completas ocorrem em apenas 26% dos casos, recidivas recorrentes ocorrem em 50% dos casos, 13% dos casos clínicos são refratários ao tratamento. A taxa de mortalidade varia entre 14 e 25%, sendo a hipoalbuminemia e a hipocobalaminemia sinais de prognóstico negativo (GUÍMARO, 2010; JERGENS; SIMPSON, 2012).

Devido à inflamação crônica e aos efeitos colaterais dos medicamentos usados cronicamente, as pessoas com DII também apresentam maior risco de deficiências nos fatores nutricionais, incluindo ferro, cálcio, vitamina D, vitamina B12, ácido fólico, zinco, magnésio e vitamina A (OWCZAREK *et al.*, 2016). O cuidado nutricional é importante na DII tanto na prevenção como no tratamento da desnutrição, das deficiências específicas de nutrientes e das alterações nos níveis de oligoelementos. Na vigência de diarreia, esteatorreia e hiperproliferação bacteriana podem ocorrer perdas de cobre, magnésio, zinco, fósforo e cálcio e, na esteatorreia, também, má absorção de vitaminas lipossolúveis (DIESTEL; SANTOS, ROMI, 2012).

Em humanos, os sintomas gastrintestinais característicos da doença podem levar a desnutrição com perda de peso, deficiência proteica e deficiências específicas de vitaminas, macro e microelementos, comuns na fase aguda da doença de Crohn (DC). Na fase de remissão, o estado nutricional é aparentemente normal. Na retocolite ulcerativa (RCUI) ativa foi descrita a condição de desnutrição global com deficiências específicas, como anemia e deficiências de ferro ou folato também encontradas na remissão (SILVA *et al.*, 2010). Pacientes humanos com

DII em remissão geralmente têm uma ingestão de macronutrientes semelhante à dos controles saudáveis, como consequência, a prevalência de deficiência de macronutrientes diminui. No entanto, na forma leve ou na remissão da DII, numerosas formas de deficiências de micronutrientes foram relatadas. É recomendado a avaliação da concentração sérica de micronutrientes pelo menos uma vez por ano; no entanto, a maioria dos médicos concentra pouca atenção no suporte nutricional em pacientes com DII.

O papel dos micronutrientes tem sido investigado ativamente na DII, levando à descoberta de problemas na avaliação da concentração sérica dos micronutrientes e na correção da sua deficiência. A maioria dos estudos recentes sobre deficiência de micronutrientes foi realizada em pacientes humanos na América e na Europa (HAN *et al.*, 2017). Em pacientes humanos, o zinco é fundamental para a cicatrização de feridas e sua deficiência pode ocorrer em pessoas com fístulas persistentes, sendo o tratamento sulfato de zinco (DIESTEL; SANTOS, ROMI, 2012). As principais funções do Zn incluem sua participação no sistema imunológico, na divisão celular, no desenvolvimento reprodutivo e no restabelecimento da pele e dos ferimentos, além de exercer diversas outras funções orgânicas como constituinte de metaloenzimas e do seu papel antioxidante, uma vez que participa do metabolismo da enzima superóxido dismutase (COMINETTI; COZZOLINO, 2009).

O zinco é um mineral essencial para reduzir os danos celulares causados por radicais livres, substâncias instáveis que podem estar associadas com a progressão de doenças crônicas e degenerativas. Assim, a administração de zinco em pacientes humanos tem sido utilizada para tratar várias doenças, principalmente devido à sua potencial capacidade de atenuar o estresse oxidativo (SANTOS; TEIXEIRA; SCHOENFELD, 2019).

Em estudo recente em cães da raça beagle, Hanifeh mostrou que endopeptidases dependentes de cálcio e zinco (Metaloproteinases da Matriz 2 e 9 – MMP2 e MMP9), importantes na regulação da renovação fisiológica normal das células epiteliais intestinais e da atividade inflamatória intestinal, possivelmente estão envolvidas na patogênese de algumas enteropatias inflamatórias crônicas caninas (HANIFEH *et al.*, 2014; HANIFEH *et al.*, 2018). Desta maneira, o presente trabalho de conclusão de curso teve como objetivo avaliar a concentração sérica de zinco em cães com doença inflamatória intestinal.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram incluídos no estudo, sob consentimento de seus tutores através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 1), um número de 13 cães, sendo 10 com diagnóstico confirmado de DII, atendidos no Serviço de Endoscopia e Gastroenterologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, com sinais clínicos de doença inflamatória intestinal (vômitos, diarreia, anorexia, hematoquezia, melena, flatulência, tenesmo e aumento na frequência de defecação), persistentes por mais de três semanas e, subsequentemente, com diagnóstico histopatológico confirmatório da doença. Além dos cães portadores de DII, 3 cães clinicamente hígidos foram incluídos no presente estudo como grupo controle sob consentimento de seus tutores com assinatura do mesmo termo de consentimento acima citado.

2.2 Exame clínico geral

Todos os animais incluídos passaram por exame clínico geral, o qual incluiu inspeção geral, avaliação da coloração e do brilho das mucosas, auscultação cardiopulmonar, mensuração da temperatura corporal, palpação retal, palpação abdominal, avaliação dos linfonodos palpáveis semiologicamente (mandibular, pré-escapular, inguinais, poplíteos) e do turgor cutâneo.

A severidade da DII foi avaliada clinicamente através do escore clínico do índice de atividade da DII para cães com enteropatia crônica (*Canine Chronic Enteropathy Clinical Index- CCECAI*).

O escore total do CCECAI que classificou a doença clinicamente em insignificante ou discreta (escore 0-3), leve (escore 4-5), moderada (escore 6-8), severa (escore 9-11) ou muito severa (escore >12) como descrito detalhadamente na Tabela 1.

Tabela 1 - Variáveis independentes utilizadas para o índice de atividade da doença inflamatória intestinal clinicamente.

<i>Variável</i>	<i>Código</i>
Atitude/atividade	0= normal; 1= levemente diminuída; 2 = moderadamente diminuída; 3 = severamente diminuída.
Apetite	0= normal; 1= levemente diminuída; 2 = moderadamente diminuída; 3 = severamente diminuída.
Vômito	0= sem vômitos; 1= leve (1 vez/ semana); 2= moderado (2 a 3 vezes por semana); 3= severo (>3 vezes por semana).
Diarreia	0= fezes bem formadas; 1= fezes levemente moles, hematoquezia, presença de muco ou frequência levemente aumentada (2 a 3 vezes/ dia); 2= fezes muito moles ou com frequência de defecação moderadamente aumentada (4 a 5 vezes/d); 3= diarreia líquida ou frequência severamente aumentada (>5 vezes/d).
Perda de Peso	0= sem perda de peso; 1= leve (<5% de perda); 2= moderada (5–10% de perda); 3= severa (>10% de perda)
Ascite	0= não; 1= sim
Edema periférico	0= não; 1= sim
Prurido	0= não; 1= sim
Leucócitos totais (10³/mL)	0= normal; 1= aumentado
Hematócrito (%)	0= normal; 1= aumentado
Proteína total (g/mL)	0= normal; 1= aumentada
Albumina (g/mL)	0= normal; 1= diminuída
ALT UI/L	0= normal; 1= aumentado
FA UI/L	0= normal; 1= aumentado
Fósforo (mg/mL)	0= normal; 1= diminuída
Lesões endoscópicas (granulosidade, friabilidade, úlceras/ erosões)	0= não; 1= sim

JERGENS *et al.*, (2003); ALLENSPACH *et al.*, (2007); JERGENS *et al.*, 2010).

Em todos os animais, foram realizados exames laboratoriais como hemograma, albumina, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), dosagem de fósforo, exame parasitológico de fezes. Ainda, os animais já haviam ter realizado exames de ultrassonografia e/ou endoscopia confirmando a doença.

Este trabalho foi avaliado pela Comissão de ética no Uso de Animais (CEUA) da UFRGS, seguindo princípios e normas para a utilização de animais em experimentação, sendo aprovado sob protocolo número 33381 (ANEXO 2).

2.3 Avaliação da concentração sérica de Zinco

Amostras de sangue de todos os animais foram coletadas da veia jugular, em frascos estéreis sem anticoagulante no momento do diagnóstico para análise da concentração sérica de Zn. As análises foram realizadas através do método fotolorimétrico.

2.4 Análise estatística

Inicialmente as informações de cada animal foram tabuladas em uma planilha do programa Excel® versão 2016 (ANEXO 3). Neste documento foram incluídos os valores da concentração sérica de Zn de cada animal experimental ao lado do seu respectivo CCECAI. Sabendo que o Índice de Atividade da Doença Inflamatória em caninos obtido pela metodologia proposta por Jergens (JERGENS *et al.*, 2003; ALLENSPACH *et al.*, 2007; JERGENS *et al.*, 2010) pode variar de 0 a 26 em números naturais inteiros apenas, pode-se considerar que este índice se comporta matematicamente de forma discreta e no presente estudo representa uma variável discreta e independente. A concentração sérica fisiológica de Zn em caninos domésticos varia de 100 a 200 mcg/mL. Sabendo esta concentração nos animais experimentais irá variar na escala dos números naturais racionais apenas, pode-se considerar que este índice se comporta matematicamente de forma contínua e no presente estudo representa uma variável contínua e que supõem-se ser dependente da variável CCECAI.

Para se colocar a teste a hipótese central desta pesquisa de que a variável CCECAI em caninos é correlacionada com a variável concentração sérica do metal Zn nos animais acometidos, será determinado o coeficiente de correlação de postos de Spearman ou ρ de Spearman (SPEARMAN, 1904) entre estas duas variáveis com base nos resultados dos exames dos animais experimentais. O nível de significância estatística empregado no teste será de 95% e utilizará como suporte a distribuição t de Student ($p < 0,05$). Ao início do trabalho, esperava-

se encontrar uma alta correlação entre estas variáveis, de forma a confirmar a hipótese de pesquisa do presente estudo de casos clínicos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações séricas de Zn de cada animal e a respectiva classificação da DII encontram-se listadas na Tabela 2.

3.1 Resultados

Tabela 2 - Resultados das análises da concentração sérica de zinco e do *Canine Chronic Enteropathy Clinical Index* (CCECAI) por canino (grupos doença e controle).

<i>Canino</i>	<i>Concentração (mcg/mL)</i>	<i>Escore CCECAI</i>	<i>Classificação</i>
Paciente 1	45,3	12	Muito Severa
Paciente 2	83,97	8	Moderada
Paciente 3	90,5	3	Discreta
Paciente 4	94,46	3	Discreta
Paciente 5	106,35	3	Discreta
Paciente 6	107,74	2	Discreta
Paciente 7	122,84	3	Discreta
Paciente 8	130,77	7	Moderada
Paciente 9	142,87	4	Leve
Paciente 10	156,26	5	Leve
Controle 1	220,09	0	Sem alterações evidentes
Controle 2	223,09	0	Sem alterações evidentes
Controle 3	246,97	0	Sem alterações evidentes

(Fonte: Próprio autor, 2019.)

Os animais do grupo doença pertenciam às raças pug (1), bulldog francês (2), rottweiler (1), staffordshire bull terrier (1), shih-tzu (1), sem raça definida (SRD) (2), dachshund (1), e australiano (1). dentre os cães com DII avaliados no presente estudo, três pertenciam às raças aparentemente predispostas: bulldog francês (2) e rottweiler (1). A idade média foi de 4,3 anos. Foram cinco cães castrados do sexo masculino e cinco fêmeas, dentre estas, três eram castradas. Dentro do mesmo grupo, 4/10 animais apresentaram alteração de atitude (apatia ou prostração); todos apresentaram vômitos; 4/10 apresentaram borborigmos; 7/10 apresentaram flatulência; 3/10 apresentaram diarreia; 2/10 apresentaram perda de peso; 7 apresentaram algia ou desconforto abdominal.

As alterações hematológicas e bioquímicas encontradas nos caninos estudados foram anemia hipocrômica (1/10) provavelmente associada a doença crônica e/ou má absorção de nutrientes devido a inflamação do TGI (JERGENS *et al.*, 1992); leucocitose (1/10) devido ao caráter inflamatório da doença (ETTINGER; FELDMAN, 2010); eritrocitose macrocítica

hipercrômica (1/10) e eritrocitose macrocítica normocrômica (1/10) como consequências da desidratação pelos vômitos e/ou diarreia frequentes (GUÍMARO, 2010); hipoalbuminemia (1/10) que é atribuída à reduzida ingestão de proteína, à má absorção de nutrientes e à perda de proteínas pela diarreia (JERGENS *et al.*, 1992; CRAVEN *et al.*, 2004), hiperglobulinemia (1/10), elevação da ALT (2/10) e da FA (1/10) como consequência de uma hepatopatia em decorrência da presença de antígenos na circulação portal, endotoxinas e bactérias provenientes do intestino (HALL, 1999); hiperfosfatemia (1/10) e hipertrigliceridemia (1/10).

As alterações endoscópicas e histopatológicas observadas encontram-se listadas na Tabela 3.

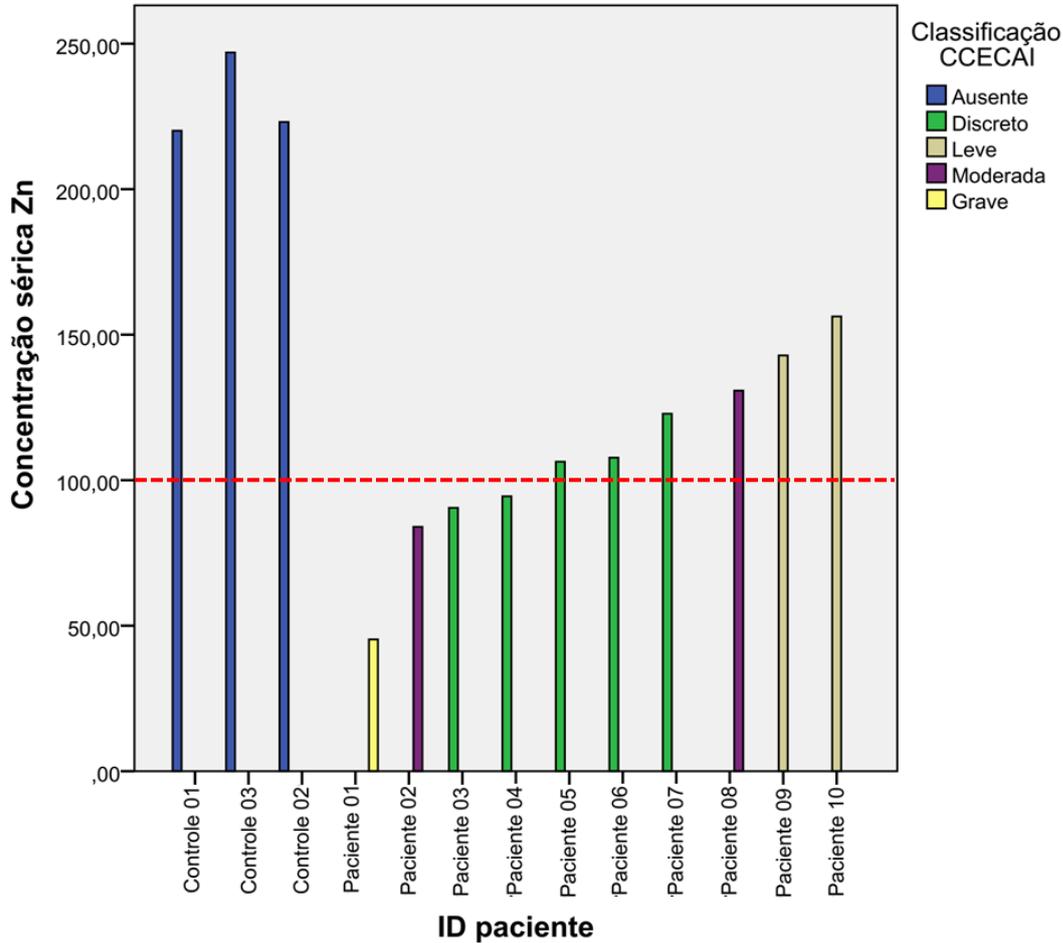
Tabela 3 – Lesões macroscópicas e histopatológicas observadas na endoscopia e biópsia do trato gastrointestinal de cães do grupo doença.

<i>Canino</i>	<i>Estômago</i>	<i>Intestino</i>
Paciente 1	Sem alterações.	Sem alterações.
Paciente 2	Presença de tecido linfoide na mucosa de aspecto normal. Tecido linfoide associado a mucosa gástrica.	Infiltrado multifocal de plasmócitos e linfócitos discreto na lâmina própria. <u>Enterite linfoplasmocitária crônica.</u>
Paciente 6	Antro com áreas esbranquiçadas; piloro hipertrofico. Mucosa com infiltrado difuso e discreto de linfócitos e raros plasmócitos.	Lâmina própria com infiltrado de linfócitos, plasmócitos e neutrófilos. <u>Enterite linfoplasmocítica e neutrofílica discreta.</u>
Paciente 7	Corpo estranho na região do corpo gástrico; Mucosa gástrica edemaciada, irregular com nodulações e erosiva. Infiltrado inflamatório discreto e multifocal de linfócitos e plasmócitos em mucosa. Hiperplasia de tecido linfoide, discreto infiltrado inflamatório de macrófagos e material eosinofílico amorfo (hialinose). <u>Gastrite linfoplasmocítica discreta.</u> <u>Gastrite linfocítica discreta.</u>	Mucosa duodenal espessada e hemorrágica. Discreto e multifocal infiltrado inflamatório de linfócitos, plasmócitos e macrófagos em lâmina própria. <u>Enterite linfoplasmocítica discreta.</u>
Paciente 9	Mucosa com discreto infiltrado inflamatório multifocal de linfócitos e plasmócitos, bem como discretas áreas multifocais de hemorragia. <u>Gastrite linfoplasmocítica discreta de causa não determinada.</u>	Cisto duodenal. Mucosa com moderado infiltrado inflamatório multifocal composto por linfócitos e plasmócitos. <u>Enterite linfoplasmocítica discreta de causa não determinada.</u>

(Fonte: Próprio autor, 2019.)

Entre os animais com DII avaliados no presente estudo, 40% (4/10) apresentaram concentrações séricas de zinco abaixo do intervalo de referência para a espécie (Figura 1).

Figura 1- Grau de atividade da doença inflamatória intestinal em cães segundo o escore *Canine Chronic Enteropathy Clinical Index* (CCECAI) e seus respectivos níveis séricos de Zinco (mcg/mL).



--- Concentração de Zn mínima para a espécie. (Fonte: Próprio autor, 2019.)

Dentre os cães portadores da DII e com a concentração de Zn dentro dos valores de referência para a espécie (6/10), 2/10 apresentaram DII leve, 3/10 apresentaram DII discreta e 1/10 apresentaram DII moderada no escore CCECAI. Dentre os cães com concentrações séricas de Zn abaixo de 100 mcg/mL (n=4), 2 cães apresentam alterações discretas no escore CCECAI; 1 na categoria DII moderada e 1 na categoria DII severa (Figura 1).

A deficiência de zinco em cães com DII observada no presente estudo é semelhante à observada em pacientes humanos (40%) e, foi encontrada uma correlação intensa e negativa ($\rho = -0,6$) entre a concentração sérica do mineral e a intensidade da DII segundo os critérios do CCECAI.

3.2 Discussão

A doença possui incidência idêntica entre machos e fêmeas no presente estudo, o que vai de encontro a estudos realizados anteriormente (JERGENS *et al.*, 2003); caninos de meia idade parecem ser mais afetados, sendo a idade média no presente estudo de 4,3 anos semelhante à idade média encontrada no estudo de Guímaro (2010). As manifestações clínicas da DII em cães são numerosas e inespecíficas, os mais comuns são perda de peso devido à hiporexia ou anorexia e/ou redução da absorção de alimentos no intestino inflamado (CERQUETELLA *et al.*, 2010); vômitos persistentes ou recorrentes devido à irritação da mucosa gástrica (ALMEIDA, 2017), sendo este sinal clínico observado em todos os caninos do grupo doença do presente estudo; e/ou diarreia devido a inflamação existente no intestino (CERQUETELLA *et al.*, 2010). O vômito pode ser constituído por bile ou muco, ou ter alimentos não digeridos ou parcialmente digeridos, sendo que no presente estudo este sinal clínico não pode ser tipificado devido à falta de informações nas fichas dos pacientes. A presença de sangue no vômito e na diarreia indica algum grau de gravidade e normalmente está associada a infiltrados eosinofílicos. O vômito também pode estar presente em casos em que só o intestino grosso é afetado. A diarreia pode ser de origem de intestino grosso, de delgado ou mista (GAMEIRO, 2016) e ser crônica, persistente ou intermitente (GUÍMARO, 2010). Os episódios de vômitos e diarreia são indicativos de que o estômago e o início do intestino delgado se encontram afetados (GAMEIRO, 2016). A presença de diarreia de intestino grosso pode ser explicada pela inflamação do cólon, ou devido a uma diarreia de intestino delgado de duração prolongada (GUÍMARO, 2010). Ainda, a ocorrência de anemia pode ser justificada por provável hemorragia gastrointestinal e a hipoalbuminemia pode ser devida à reduzida ingestão de proteína, à má absorção de nutrientes, à perda de proteína pela diarreia ou à perda de sangue por ulceração do TGI (GUÍMARO, 2010).

As alterações mais comuns quando se realiza uma endoscopia são o espessamento e o pregueamento da mucosa, eritema, hiperemia, presença de muco, aumento da friabilidade e do aspecto granuloso. Todos estes sinais são consistentes com inflamação ou neoplasia e, segundo Guímaro (2010), os dois últimos estão comumente associados a DII. A aparência da mucosa na DII varia de normal a eritematoso com vários graus de irregularidade (GUÍMARO, 2010). Pode apresentar erosões, estar mais friável e sangrar ao toque (TAMS, 2003). Estas pequenas hemorragias não são normalmente motivo de preocupação (TAMS; WEBB, 2011). Durante a endoscopia pode visualizar-se um exsudado cor de leite que é compatível com linfangiectasia e por vezes, também podem ser encontrados parasitas intestinais (ETTINGER; FELDMAN, 2010).

Entre as alterações histopatológicas encontradas nas biopsias do TGI, a infiltração linfoplasmocítica foi a forma mais frequentemente encontrada nos cães com DII no presente trabalho, tanto a nível de estômago, quanto ao nível de intestino delgado, e pode ser explicado pelo fato de linfócitos e plasmócitos serem os primeiros tipos celulares a migrarem para este local; já a infiltração neutrofílica é rara e geralmente se apresenta como um infiltrado misto (GUÍMARO, 2010), o que justifica sua presença em apenas um animal. A DII neutrofílica sugere a possibilidade de haver um processo infeccioso bacteriano, fúngicos ou por algas (GAMEIRO, 2016).

A deficiência de zinco em cães com DII observada no presente estudo é de 40% (4/10). Esta alteração demonstra que a diarreia crônica propicia a perda de zinco pelas fezes. Além disso, frequentemente pacientes portadores de DII apresentam mal absorção justificada pela presença de inflamação no intestino delgado e a anorexia e/ou hiporexia do paciente contribuem para a deficiência deste mineral (SILVA *et al.*, 2010). Os níveis de zinco costumam ser baixos em pacientes humanos com diarreia crônica ou distúrbios de má absorção. Da mesma forma, a deficiência de zinco é comum em pessoas com DII, com prevalência variando de 15% a 40% (MCCLAIN; SOUTOR; ZIEVE, 1980; OJUAWO; KEITH, 2002; VAGIANOS *et al.*, 2007; ALKHOURI *et al.*, 2013).

Estudos anteriores em humanos confirmaram que a deficiência de zinco pode contribuir para a inflamação da mucosa em pacientes com DII. Em modelos animais, a deficiência de zinco exacerba a colite e potencializa a produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo o TNF- α . Além disso, trabalhos anteriores indicam que uma dieta baixa em zinco em pessoas saudáveis resulta em uma diminuição nas citocinas TH1, IFN- γ e IL2, bem como na atividade lítica diminuída das células *natural killer* (SIVA *et al.*, 2017).

A deficiência de zinco em humanos causa ruptura dos complexos de junção e desorganização citoesquelética em células, causando má cicatrização de feridas e formação de fístulas, prejudicando a permeabilidade da membrana celular (*in vivo e in vitro*), migração de neutrófilos e seu acúmulo no lúmen intestinal e criptas epiteliais, resultando na formação de abscessos [RD(USA)(SA), 2012]. A suplementação de zinco mostrou-se eficaz em reduzir a permeabilidade intestinal em suínos desmamados (ZHANG; GUO, 2009).

Em modelos animais, a deficiência de zinco exacerba a colite e potencializa a produção de citocinas pró-inflamatórias. Além disso, trabalhos anteriores indicaram que uma dieta com baixos teores de zinco resulta na diminuição nas citocinas TH1, IFN- γ e IL2, bem como diminuição da atividade lítica das células *natural killer* (NK). O zinco é importante na função

imune do organismo, melhorando a permeabilidade da mucosa em pacientes que receberam a suplementação deste mineral (SIVA *et al.*, 2017).

A partir dos resultados do presente trabalho, é possível incluir a reposição de zinco no protocolo terapêutico da doença objetivando melhor resposta à terapia instituída.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que cães com DII podem apresentar deficiência de Zn como consequência da doença com forte correlação com o grau de severidade clínica apresentada pelos mesmos.

REFERÊNCIAS

- ALKHOURI, Razan H. *et al.* Vitamin and mineral status in patients with inflammatory bowel disease. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 89–92, 2013.
- ALLENSPACH, K. *et al.* **Chronic Enteropathies in Dogs: Evaluation of Risk Factors for Negative Outcome - Allenspach - 2007 - Journal of Veterinary Internal Medicine**. 2007. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1939-1676.2007.tb03011.x?sid=nlm%3Apubmed>>. Acesso em: 3 out. 2019.
- ALMEIDA, Susana. **Vômitos**. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, 2017.
- CERQUETELLA, Matteo *et al.* Inflammatory bowel disease in the dog: Differences and similarities with humans. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, [s. l.], v. 16, n. 9, p. 1050–1056, 2010.
- COMINETTI, Cristiane; COZZOLINO, Silvia Maria Franciscato. **ILSI / FUNÇÕES PLENAMENTE RECONHECIDAS**. 2009. Disponível em: <<https://ilsil.org/publication/funcoes-plenamente-reconhecidas/>>. Acesso em: 7 ago. 2019.
- CRAVEN, M. *et al.* Canine inflammatory bowel disease: retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995-2002). **The Journal of Small Animal Practice**, [s. l.], v. 45, n. 7, p. 336–342, 2004.
- DANDRIEUX, Julien *et al.* Evaluation of lymphocyte apoptosis in dogs with inflammatory bowel disease. **American journal of veterinary research**, [s. l.], v. 69, p. 1279–85, 2008.
- DEFARGES, Alice. **Inflammatory Bowel Disease in Small Animals - Digestive System**. Homepage. [s.d.]. Disponível em: <<https://www.msdsvetmanual.com/digestive-system/diseases-of-the-stomach-and-intestines-in-small-animals/inflammatory-bowel-disease-in-small-animals>>. Acesso em: 6 dez. 2019.
- DIESTEL, Cristina F.; SANTOS, Mariana C. Dos; ROMI, Marcela D. Tratamento nutricional nas doenças inflamatórias intestinais. **Brazilian Journal of Health and Biomedical Sciences / BJHBS**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 52–58, 2012.
- ETTINGER, Stephen J.; FELDMAN, Edward C. **Textbook of veterinary internal medicine : diseases of the dog and the cat**. St. Louis, Mo.: Elsevier Saunders, 2010. v. 7
- GAMEIRO, Ana Cláudia Pereira. **Estudo das doenças do intestino do cão e do gato diagnosticadas por histopatologia**. [s. l.], 2016. Disponível em: <<http://recil.grupolusofona.pt/handle/10437/7604>>. Acesso em: 22 ago. 2018.
- GERMAN, A. J.; HALL, E. J.; DAY, M. J. Chronic Intestinal Inflammation and Intestinal Disease in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 8–20, 2003.
- GREGGER, D. L. *et al.* Nuclear receptor and target gene mRNA abundance in duodenum and colon of dogs with chronic enteropathies. **Domestic Animal Endocrinology**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 327–339, 2006.

- GUÍMARO, Joana de Oliveira Marques. **Doença inflamatória crónica do intestino: estudo comparativo entre a imagem endoscópica e o resultado histopatológico em 73 canídeos.** [s. l.], 2010. Disponível em: <<https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/1711>>. Acesso em: 28 jul. 2019.
- HALL, Edward. Clinical Laboratory Evaluation of Small Intestinal Function. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [s. l.], v. 29, n. 2, p. 441–469, 1999.
- HAN, Yoo Min *et al.* Risk Factors for Vitamin D, Zinc, and Selenium Deficiencies in Korean Patients with Inflammatory Bowel Disease. **Gut and Liver**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 363–369, 2017.
- HANIFEH, Mohsen *et al.* Identification of matrix metalloproteinase-2 and -9 activities within intestinal mucosa of clinically healthy beagle dogs. **The Journal of Veterinary Medical Science**, [s. l.], v. 76, n. 8, p. 1079–1085, 2014.
- HANIFEH, Mohsen *et al.* Identification of matrix metalloproteinase-2 and -9 activities within the intestinal mucosa of dogs with chronic enteropathies. **Acta Veterinaria Scandinavica**, [s. l.], v. 60, 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5848456/>>. Acesso em: 7 dez. 2019.
- JERGENS, AE *et al.* Idiopathic inflammatory bowel disease in dogs and cats: 84 cases (1987-1990). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, [s. l.], v. 201, n. 10, p. 1603–1608, 1992.
- JERGENS, Albert E. *et al.* A Scoring Index for Disease Activity in Canine Inflammatory Bowel Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 291–297, 2003.
- JERGENS, Albert E. *et al.* **A clinical index for disease activity in cats with chronic enteropathy.** - PubMed - NCBI. 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20584141>>. Acesso em: 3 out. 2019.
- JERGENS, Albert E.; SIMPSON, Kenneth W. Inflammatory bowel disease in veterinary medicine. **Frontiers in Bioscience (Elite Edition)**, [s. l.], v. 4, p. 1404–1419, 2012.
- KALENYAK, Katja *et al.* Comparison of the intestinal mucosal microbiota in dogs diagnosed with idiopathic inflammatory bowel disease and dogs with food-responsive diarrhea before and after treatment. **FEMS microbiology ecology**, [s. l.], v. 94, n. 2, 2018.
- LOCHER, Christine *et al.* Quantitative assessment of mast cells and expression of IgE protein and mRNA for IgE and interleukin 4 in the gastrointestinal tract of healthy dogs and dogs with inflammatory bowel disease. **American Journal of Veterinary Research**, [s. l.], v. 62, n. 2, p. 211–216, 2001.
- MCCLAIN, C.; SOUTOR, C.; ZIEVE, L. **Zinc deficiency: a complication of Crohn's disease.** **Gastroenterology**, [s. l.], v. 78, n. 2, p. 272–279, 1980.
- OJUAWO, A.; KEITH, L. The serum concentrations of zinc, copper and selenium in children with inflammatory bowel disease. **The Central African Journal of Medicine**, [s. l.], v. 48, n. 9–10, p. 116–119, 2002.

OWCZAREK, Danuta *et al.* Diet and nutritional factors in inflammatory bowel diseases. **World Journal of Gastroenterology**, [s. l.], v. 22, n. 3, p. 895–905, 2016.

RD(USA)(SA), A. Basson MS. Nutrition management in the adult patient with Crohn's disease. **South African Journal of Clinical Nutrition**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 164–172, 2012.

SANTOS, Heitor O.; TEIXEIRA, Filipe J.; SCHOENFELD, Brad J. Dietary vs. pharmacological doses of zinc: A clinical review. **Clinical Nutrition**, [s. l.], 2019. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez45.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0261561419302808>>. Acesso em: 7 ago. 2019.

SILVA, Alice Freitas Da *et al.* Relação entre estado nutricional e atividade inflamatória em pacientes com doença inflamatória intestinal. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 154–158, 2010.

SILVA, Marcos Miranda Da. **BIOMARCADORES NA DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL**. 2013. Disponível em: <https://sigarra.up.pt/sasup/pt/pub_geral.pub_view?pi_pub_base_id=31097>. Acesso em: 19 set. 2019.

SILVA, Joana Cristina Marialva. **A dicotomia microbiota: agente etiológico e terapêutico na doença inflamatória intestinal**. [s. l.], 2016. Disponível em: <<https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/34236>>. Acesso em: 29 jul. 2019.

SIMPSON, Kenneth W.; JERGENS, Albert E. Pitfalls and progress in the diagnosis and management of canine inflammatory bowel disease. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, [s. l.], v. 41, n. 2, p. 381–398, 2011.

SIVA, Shivi *et al.* Zinc Deficiency is Associated with Poor Clinical Outcomes in Patients with Inflammatory Bowel Disease. **Inflammatory bowel diseases**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 152–157, 2017.

SPEARMAN, C. “General Intelligence,” Objectively Determined and Measured. **The American Journal of Psychology**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 201–292, 1904.

TAMS, T. R. **Handbook of Small Animal Gastroenterology**: Second Edition. [s. l.], p. 1–486, 2003.

TAMS, Todd R. Endoscopia e Laparoscopia em Gastroenterologia Veterinária, p.93-113. In: **Gastroenterologia de Pequenos Animais**. 2ª ed. São Paulo: Roca, 2005. p. 472.

TAMS, Todd; WEBB, Craig. Endoscopic Examination of the Small Intestine. **Small Animal Endoscopy**, [s. l.], p. 173–215, 2011.

VAGIANOS, Kathy *et al.* Nutrition assessment of patients with inflammatory bowel disease. **JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 311–319, 2007.

ZHANG, Bingkun; GUO, Yuming. Supplemental zinc reduced intestinal permeability by enhancing occludin and zonula occludens protein-1 (ZO-1) expression in weaning piglets. **The British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 102, n. 5, p. 687–693, 2009.

ZOLAN, DL. Diseases of the colon and rectum. In: HALL, J. E.; WILLIAMS, D.; SIMPSON, JW (Eds.). **BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology, 2nd ed.** 2. ed. Quedgeley: Hall, J. E.; Simpson, J. W.; Williams, D. A., 2005. v. 47p. 203–212.

ANEXO 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Dados de identificação

Título do Projeto: Prevalência da deficiência de zinco em cães com doença inflamatória intestinal.

Pesquisador Responsável: Anelise Bonilla Trindade

Instituição a que pertence o Pesquisador Responsável: UFRGS

Telefones para contato: (____) _____ - (____) _____

Nome do tutor: _____

R.G. _____

Nome do animal _____ **Idade:** ____ **Raça:** _____

Sexo: _____ **nº da ficha:** _____

Seu cão está sendo convidado para participar da pesquisa **“Concentração sérica de zinco em cães portadores de doença inflamatória intestinal”**.

Seu cão foi selecionado e a participação do mesmo não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir e retirar seu consentimento.

Sua recusa não trará nenhum prejuízo na relação do seu animal com o pesquisador ou com a instituição.

Os objetivos deste estudo são aplicar o índice de avaliação clínica/laboratorial em todos os cães com diagnóstico confirmado de doença inflamatória intestinal; Verificar se existe redução da concentração sérica de Zinco em cães com doença inflamatória intestinal; Avaliar o grau de doença inflamatória intestinal clínica; Comparar a apresentação clínica da doença com a concentração sérica de zinco e Acompanhar a evolução da doença através de exame clínico e laboratorial.

A participação do seu cão nesta pesquisa consistirá em análise semiológica clínica do paciente, fornecer 1 mL a mais de sangue para demais exames laboratoriais os quais ainda não tenha sido feito recentemente e análise da concentração sérica de zinco. Essa amostra a mais não trará nenhum prejuízo para seu animal, visto que é um volume mínimo.

Os benefícios relacionados com a participação do seu cão será isenção dos custos dos exames laboratoriais os quais não tenham sido feitos, anteriormente. Os exames serão custeados pelos pesquisadores.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre a participação do seu cão.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço institucional do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e a participação do seu animal, agora ou a qualquer momento.

Data, nome e assinatura do pesquisador

Av. Bento Gonçalves, 9090 – Agronomia, Porto Alegre/RS

CEP: 91540-000

Telefone: 51 3308-6922

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios da participação do meu cão na pesquisa e concordo em participar do mesmo. Ao assinar esse termo você autoriza também o registro fotográfico do seu animal.

Data, nome e assinatura pelo proprietário/responsável pelo cão

ANEXO 2



UFRGS
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

Comissão De Ética No Uso De Animais



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 33381

Título: Associação entre a concentração de biomarcadores séricos inflamatórios e severidade clínica, endoscópica e histológica da doença inflamatória intestinal em cães e gatos

Vigência: 01/08/2017 à 31/07/2022

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

ANELISE BONILLA TRINDADE GERARDI - coordenador desde 01/08/2017
CARLOS AFONSO DE CASTRO BECK - pesquisador desde 01/08/2017
EMERSON ANTONIO CONTESINI - pesquisador desde 01/08/2017
CRISTIANO GOMES - pesquisador desde 01/08/2017
Franciele Maboni Siqueira - pesquisador desde 01/08/2017
DANIEL GUIMARÃES GERARDI - pesquisador desde 01/08/2017

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo , em reunião realizada em 09/10/2017 - SALA 330 DO ANEXO I DO PRÉDIO DA REITORIA - CAMPUS CENTRO DA UFRGS, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 28 cães e 28 gatos, sendo 20 cães e 20 gatos com doença inflamatória intestinal e oito cães e oito gatos saudáveis, alocados em grupo de cães doentes (GCD), grupo de felinos doentes (GFD) e grupo de cães controle (GCC) e grupo de felinos doentes (GFD), provenientes do atendimento no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS/ FAVET/UFRGS, de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.

Porto Alegre, Sexta-Feira, 13 de Outubro de 2017

MARCELO MELLER ALIEVI
Coordenador da comissão de ética

ANEXO 3

Dados utilizados para organização dos resultados das análises de concentrações séricas de Zinco e soma da pontuação do escore do Índice de Atividade da Doença Inflamatória Intestinal.

Paciente ou controle	Concentração (mcg/mL)	Atividade	Apetite	Vômito	Diarreia	Perda de peso	Leucócitos totais	Hematócrito	Proteína total	Albumina	ALT	FA	Fósforo	Escore Total do CCECAI	Classificação
Paciente 1	45,3	0	3	3	3	2	1	0	0	0	0	0	0	12	Muito Severa
Paciente 2	83,97	2	2	2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	8	Moderada
Paciente 3	90,5	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	Discreta
Paciente 4	94,46	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	Discreta
Paciente 5	106,35	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	Discreta
Paciente 6	107,74	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	Discreta
Paciente 7	122,84	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	Discreta
Paciente 8	130,77	2	3	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	7	Moderada
Paciente 9	142,87	1	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	Leve
Paciente 10	156,26	1	0	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	5	Leve
Controle 1	220,09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Sem alterações evidentes
Controle 2	223,09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Sem alterações evidentes
Controle 3	246,97	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Sem alterações evidentes

O escore total do CCECAI:
 Insignificante ou discreta: escore 0-3;
 Leve: escore 4-5;
 Moderada: escore 6-8;
 Severa: escore 9-11;

(Fonte: autoria própria)