

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 30/07/2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

**INFLUÊNCIA DO PERFIL DE AMINOÁCIDOS DO
ALIMENTO NA COMPOSIÇÃO CORPORAL, GASTO
ENERGÉTICO E METABOLISMO DE PROTEÍNAS DE
CÃES EM REGIME PARA PERDA DE PESO**

LETICIA WARDE LUIS

Médica Veterinária

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

**INFLUÊNCIA DO PERFIL DE AMINOÁCIDOS DO
ALIMENTO NA COMPOSIÇÃO CORPORAL, GASTO
ENERGÉTICO E METABOLISMO PROTEICO DE CÃES
EM REGIME PARA PERDA DE PESO**

Leticia Warde Luis

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

L953i	<p>Luis, Leticia Warde</p> <p>Influência do perfil de aminoácidos do alimento na composição corporal, gasto energético e metabolismo de proteínas de cães em regime para perda de peso / Leticia Warde Luis. -- Jaboticabal, 2022 66 f. : tabs.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi</p> <p>1. Obesidade canina. 2. Perda de massa magra. 3. Aminoácidos livres no plasma. 4. Isótopos estáveis. I. Título.</p>
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Leticia Warde Luis nasceu em Curitiba-PR no ano de 1993. Iniciou os estudos no Colégio Marista Paranaense (Curitiba-PR), concluindo o ensino médio no ano de 2010. Em 2011 ingressou no curso de Graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal do Paraná (UFPR). Durante a graduação foi aluna de projeto de extensão e de iniciação científica, monitora nas disciplinas de Ornitopatologia e Odontologia Veterinária. Concluiu a graduação em fevereiro de 2017. Realizou Residência em Nutrição e Nutrição Clínica de Cães e Gatos pelo Programa de Residência Profissional em Medicina Veterinária na Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Jaboticabal, de 2017 a 2019, sob orientação do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi. Atualmente é Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária na área de Clínica Médica Veterinária com ênfase em Nutrição de Cães e Gatos, sob orientação do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi.

“Sempre que me sinto muito sozinho, sento e observo o céu á noite. Penso que uma dessas estrelas é a minha estrela. E em momentos assim, sei que a minha estrela estará sempre lá por mim, com uma voz calmante dizendo: Não desista, garoto.”

(Charlie Brown)

Dedico

À Margarida Maria Leal. Nada mais justo retribuir todo o amor, carinho e paciência que ela dedicou a mim, me ajudando a construir meu caráter e contribuindo muito para que eu fosse hoje a mulher que sou. Serás sempre um exemplo para mim e jamais esquecida. “De todo o amor que eu tenho, metade foi tu que me deu, salvando minha alma da vida, sorrindo e fazendo o meu eu”.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e meus Guias e Mentores que me deram forças quando eu duvidei de mim e mesmo nos momentos mais difíceis sempre deram um jeito de fazer com que eu soubesse que não estava sozinha.

Aos meus pais que são meu porto seguro e meu maior motivo de seguir em frente, sou eternamente grata por todo o apoio e força que vocês sempre me dão. Amo vocês.

À minha irmã e melhor amiga Fernanda por mesmo de longe estar sempre tão pertinho e por acreditar em mim mais do que eu mesma. Você é o maior presente que eu ganhei nessa vida!

Ao meu namorado João que acompanhou de perto a minha trajetória no mestrado, que foi meu maior ajudante em todos os momentos, da fábrica às coletas e mesmo quando não tinha como ajudar estava me apoiando, me dando forças e levando comida para mim. Você é muito especial e eu te amo.

À toda minha família que mesmo não entendendo muito bem o motivo da minha ausência sempre me dão força, acreditam em mim e cada vez que vou para casa me recebem com braços abertos e minhas comidas prediletas!

À Duda e Monique, minhas irmãzinhas de jornada, colegas de casa e a amigas do coração, que riram e choraram comigo nesses longos anos de mestrado, que me deram colo, me deram comida e quando tudo parecia desabar me deram soluções.

À Camila Goloni, Stephanie e Leticia P., minhas amigas, inspirações e co-orientadoras de coração, que me ensinaram técnicas, metodologias, estatística, me deram conselhos, riram, comemoraram e choraram comigo sempre. Vocês são incríveis.

Ao meu orientador por quem tenho grande admiração professor Dr. Aulus Carciofi por me aceitar na sua equipe e confiar esse projeto a mim!

Aos meus amigos do laboratório (pós-graduandos e funcionários), as residentes da nutri com quem tive o privilégio de conviver nesses anos e aos funcionários do hospital veterinário por toda a ajuda.

Às amigas que Jaboticabal me trouxe, especialmente Pauline, Francimery e Milena, agradeço por todo o carinho e por toda a ajuda que me deram nesses anos.

Às minhas amigas que mesmo de longe sempre estiveram comigo, Leticia B., Leticia C. e Marcela.

Aos meus filhos de patas, Chérie, Jolie e o mais novo filho mais velho Whisky. Agradeço pelas lambidas carinhosas e rabinhos abanando. Queria que eles pudessem imaginar a diferença que fizeram na minha vida durante esse período.

À Manfrim pelo apoio financeiro, por acreditarem em mim para desenvolver esse grande projeto, especialmente à Mariana Monti por quem desenvolvi imensa admiração e que se tornou uma grande inspiração profissional para mim.

A toda a equipe do Laboratório de Espectrometria de Massas de Razão Isotópica da FMRP-USP, principalmente as doutorandas Daniella Dal Pubel e Meire Gallo e ao professor Ferrioli por terem “feito acontecer” as minhas análises e por toda a ajuda.

E especialmente a todos os cãezinhos do projeto por terem contribuído com a ciência e com a minha formação profissional e aos seus tutores por confiarem em mim! Levarei um pedacinho de todos no meu coração para sempre!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA CEUA.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. REVISÃO DE LITERATURA.....	1
1.1. Obesidade.....	1
1.2. Perda de massa magra durante o emagrecimento.....	4
1.3. Ingestão de proteína e aminoácidos.....	5
1.4. Método da água duplamente marcada.....	8
1.5. Método do precursor (¹³ C-Leucina).....	9
2. OBJETIVOS GERAIS.....	10
3. REFERÊNCIAS.....	11

CAPÍTULO 2 - Influence of the Food Amino Acid Profile in the Body Composition, Energy Expenditure and Protein Metabolism of Dogs in a Weight Loss Program

ABSTRACT.....	18
INTRODUCTION.....	19
MATERIALS AND METHODS.....	21
Place of Study.....	21
Animals' selection.....	21
Experimental diets.....	22
Experimental design.....	25
Doubly labeled water method application.....	26
¹³ C-leucine method application.....	29
Determination of plasma free amino acid concentration.....	32

Statistical analysis.....	32
RESULTS.....	33
DISCUSSION.....	41
REFERENCES.....	44
APÊNDICES.....	49



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "Influência do Perfil de Aminoácidos do Alimento na Composição Corporal e Gasto Energético de Cães em Regime de Perda de Peso", protocolo nº 07196/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavaleri Carciofi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 13 de junho de 2019.

Vigência do Projeto	05/08/2019 a 28/02/2021
Espécie / Linhagem	Cães domésticos
Nº de animais	40
Peso / Idade	5 a 30 kgs / 2 a 8 anos
Sexo	Fêmeas e machos
Origem	Animais domiciliados

Vigência do Projeto	05/08/2019 a 28/02/2019
Espécie / Linhagem	Cães domésticos
Nº de animais	6 (para avaliação da digestibilidade da dieta)
Peso / Idade	13 – 15 kgs / 2 – 6 anos
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos – FCAV / UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 13 de junho de 2019.

Fabiana Pilarski
Prof.^a Dr.^a Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellano, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil
tel 49 3209 7100 www.fcav.unesp.br

INFLUÊNCIA DO PERFIL DE AMINOÁCIDOS DO ALIMENTO NA COMPOSIÇÃO CORPORAL, GASTO ENERGÉTICO E METABOLISMO PROTEICO DE CÃES EM REGIME PARA PERDA DE PESO

RESUMO: Obesidade canina é a doença nutricional mais frequente, com aumento contínuo de sua incidência. Dentre os desafios de seu tratamento, formulações adequadas que maximizem a redução da massa gorda, mas evitem perda de massa magra e mantenham saúde são necessárias. Estudos relacionam o maior teor de proteína na dieta com a manutenção da massa magra, entretanto, não há evidências das implicações da formulação de aminoácidos sobre o emagrecimento e metabolismo proteico de cães em regime de perda de peso. Ainda, não se conhece com precisão o gasto energético diário (GED) de cães obesos para perda de peso. Desta forma, objetivou-se comparar o GED de manutenção de cães obesos domiciliados com o de cães não obesos e avaliar o efeito da suplementação de metionina, triptofano, treonina e valina em alimento para perda de peso sobre o metabolismo proteico, gasto energético para emagrecimento e composição corporal de cães obesos ao início e após perda de 20% do peso corporal. Na Fase 1 (fase de peso estável) o estudo incluiu 20 cães não obesos e 20 obesos domiciliados, distribuídos em tratamento fatorial 2 (condições corporais) x 2 (rações: controle e suplementada com os aminoácidos), em delineamento inteiramente casualizado. Na Fase 2 (fase de perda de peso) os cães obesos foram divididos em dois grupos de acordo com a dieta utilizada e entraram em regime para perda controlada de 20% do peso corporal. O GED e a composição corporal (CC) dos cães foram determinados pelo método da água duplamente marcada, o metabolismo proteico pelo método do precursor e mensuração dos aminoácidos livres no plasma. A hipótese de que cães obesos apresentam menor necessidade energética de manutenção (NEM) não foi confirmada, uma vez que a ingestão calórica para peso constante foi semelhante entre os obesos e não obesos no presente estudo ($P=0,119$). Durante o emagrecimento a ingestão de metionina + cistina foi menor que o recomendado para cães alimentados com a ração controle, tendo esta atendido à recomendação no grupo suplementado com aminoácidos. Durante o emagrecimento, cães alimentados com a ração suplementada com aminoácidos

apresentaram tendência a emagrecerem mais rápido ($P=0,083$), mesmo apresentando mesmo consumo energético ($P=0,682$). Após 20% de perda de peso, cães no tratamento com suplementação de aminoácidos mantiveram a quantidade de massa magra do início, enquanto no grupo controle os cães apresentaram redução média de 6,5% (900g) da massa magra inicial, apesar destes valores serem estatisticamente semelhantes ($P=0,531$).

Palavras-chave: aminoácido livre, deutério, emagrecimento, isótopos estáveis, massa magra, obesidade

**INFLUENCE OF THE FOOD AMINO ACID PROFILE IN THE BODY
COMPOSITION, ENERGY EXPENDITURE AND PROTEIN FLUX OF DOGS
IN A WEIGHT LOSS PROGRAM**

ABSTRACT: Canine obesity is the most frequent nutritional disease, with a growing incidence. Among the challenges of its treatment, formulations that maximize the reduction of fat mass, but prevent loss of lean mass and maintain health during the process of weight loss are necessary. Several studies relate a higher level of protein in the diet with maintenance of lean mass, however, the implications of amino acid formulation on weight loss and protein metabolism in dogs undergoing regimen have not been studied. Still, the daily energy expenditure (DEE) of obese dogs for a healthy weight loss is not precisely known. Therefore, the aim of this study was to compare the maintenance energy expenditure of client-owned obese dogs with non-obese dogs and to evaluate the effect of methionine, tryptophan, threonine and valine supplementation in food for weight loss on protein metabolism, energy expenditure for weight loss and body composition of obese dogs at the beginning and after a 20% loss of body weight. In Phase 1 (static body weight phase), the study included 20 non-obese and 20 obese client-owned dogs, distributed in a 2 (body condition) x 2 (diet: control and amino acid) factorial treatment, in a completely randomized design. In Phase 2 (weight loss phase), obese dogs underwent a regimen for controlled loss of 20% of body weight. The DEE and body composition (CC) of dogs were determined by the doubly-labeled water method, protein metabolism by the precursor method and measurement of free amino acids in plasma. The hypothesis that obese dogs have a lower energy requirement for maintenance was not confirmed, since caloric intake for weight maintenance was similar between obese and non-obese dogs in the present study ($P=0.119$). During weight loss, the intake of methionine + cystine was lower than recommended for dogs fed the control diet, which, in the group supplemented with amino acids, met the recommendations. During weight loss, dogs fed the amino acid diet tended to lose weight faster ($P=0.083$), even with the same energy intake ($P=0.682$). After 20% of weight loss, dogs in the treatment with amino acid supplementation showed the same amount of lean

mass, while control group dogs showed a reduction of 6.5% (900g) of the initial lean mass, although these values are statistically similar ($P=0.531$).

Key Words: amino acids, deuterium, weight loss, stable isotopes, lean body mass, obesity

LISTA DE ABREVIATURAS

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

PB: Proteína bruta

MS: Matéria seca

^2H : Deutério

^{18}O : Oxigênio 18

CO_2 : Gás carbônico

ECC: Escore de condição corporal

TSH: Hormônio estimulante da tireóide

GED: Gasto energético diário

Kcal: Quilocalorias

$\text{Kg}^{0,75}$: Peso metabólico

EM: Energia metabolizável

EE: Extrato etéreo

MM: Matéria mineral

ECF: Escore de condição fecal

PC: Peso corporal

LISTA DE TABELAS

Table 1. Analyzed chemical composition of the diets used in the study. Values are expressed as mean \pm standard deviation of two production batches, in a dry matter basis.....	23
Table 2. Total tract apparent digestibility coefficient of nutrients, metabolizable energy content and feces characteristics of dogs fed the experimental diets (mean \pm standard deviation).....	25
Table 3. Non-obese (n = 20) and obese (n = 23) owned dogs fed with the experimental diets during the static body weight phase. Values expressed as mean \pm standard error.....	35
Table 4. Obese owned dogs fed with the control or amino acid experimental diets during the weight loss phase (values expressed as mean \pm standard error).....	37
Table 5. Protein and amino acid intake (g/kg ^{0.75} /day) of obese dogs fed with the control or amino acid diets during the weight loss phase and recommendations of NRC (2006) and FEDIAF (2019) for these nutrients intake (Values expressed in grams/1000 kcal).....	40

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Obesidade

A obesidade é uma das afecções de origem nutricional mais comuns em cães e gatos. Pesquisas destacaram que 35 a 59% dos cães e gatos apresentam sobrepeso ou obesidade (Brooks et al., 2014; German et al., 2015a; Chandler et al., 2017; Porsani et al., 2020). Esta ocorre quando o animal estabelece balanço energético positivo prolongado, sendo reconhecida como doença multissistêmica grave, que pode desencadear ou agravar diversas comorbidades que causam impactos importantes na qualidade e expectativa de vida dos animais (Chandler et al., 2017).

As principais causas de obesidade são alimentação inapropriada (excesso de calorias), pouca prática de atividade física (baixo gasto energético), predisposições raciais e genéticas, castração e doenças que causem indisponibilidade para a prática de atividade física ou reduzam o gasto energético, por exemplo hipotireoidismo (German, 2006; Laflamme, 2012; Chandler et al., 2017). Além disso, o estudo epidemiológico de Coucier et al. (2010), assim como o de Colliard (2006), revelaram que a idade e o sexo em cães podem ser fatores predisponentes à obesidade, sendo os animais mais velhos de ambos os sexos e as fêmeas castradas mais predispostos ao ganho excessivo de peso (Mao, 2013).

O excesso de adiposidade está associado a efeitos adversos sobre a saúde, qualidade de vida e comprovadamente responsável por diminuir a expectativa de vida dos cães (Kealy et al., 2002; German et al., 2006; Flanagan et al., 2017). As implicações sistêmicas da obesidade têm sido bastante investigadas, pois esta condição se caracteriza por estado pró-inflamatório (Das, 2001; Laflamme, 2012) com relevantes alterações imunológicas (Da Silveira et al., 2009; German et al., 2010) e no metabolismo de lipídeos e carboidratos (Laflamme, 2012).

O tratamento da obesidade consiste em colocar o animal em situação de balanço energético negativo, por meio de diminuição da ingestão calórica e

aumento do gasto energético diário (Carciofi et al., 2005). Isto resulta em mobilização de tecido adiposo e consequente perda de peso (Laflamme, 2006). O desafio, no entanto, é se estabelecer composição alimentar que favoreça a saciedade frente ao déficit calórico instituído, bem como garantir ingestão suficiente de nutrientes essenciais de modo a não se impor no paciente perda de massa magra ou comprometimento do funcionamento de órgãos ou sistemas, como o tegumentar e o imunológico (Diez; Nguyen, 2006; Yamka et al., 2007).

Durante o processo de perda de peso o animal sofre mudanças em seu metabolismo energético que ainda não estão bem estabelecidas na literatura (NRC, 2006). Os estudos sobre metabolismo energético de cães ainda são insuficientes, existindo controvérsia inclusive sobre a necessidade energética de manutenção de cães domiciliados, sejam não obesos ou obesos (Birmingham et al., 2014). A falta de consenso sobre a necessidade energética pode, inclusive, ser parte das causas de obesidade, pois recomendações imprecisas da quantidade de alimentos podem resultar em ganho de peso (FEDIAF, 2020).

Não se conhecendo com exatidão a necessidade energética de manutenção, será imprecisa a proposição de restrição calórica para perda de peso. Publicações a respeito de protocolos para perda de peso em cães têm proposto diversas abordagens para se estabelecer inicialmente o fornecimento de calorias. Carciofi et al. (2005) sugerem o fornecimento da taxa metabólica basal do animal calculada para seu peso meta ($70 \text{ kcal/kg peso meta}^{0,75}/\text{dia}$). Outros autores têm proposto diferentes formas de cálculo. Case et al. (2011) utilizam da mesma equação, porém com o peso corporal atual do cão. Já German et al. (2007), propõem redução de 40% a 50% da energia de manutenção proposta pelo NRC (2006; $132 \text{ kcal/kg peso corporal}^{0,75}/\text{dia}$), calculada a partir do peso meta ao invés do peso corporal atual do animal. Porém, em estudo mais recente German et al. (2015b), sugere-se a mesma redução tendo como referência para cálculo da energia para manutenção $105 \text{ kcal/kg}^{0,75}$. Flanagan et al. (2017), por sua vez, recomendam 60 a 80 kcal/kg peso meta^{0,75}.

Desta forma, as proposições de calorias para emagrecimento são sempre adaptadas à taxa de emagrecimento alcançada pelo paciente. O veterinário

responsável deve ajustar o fornecimento de calorias e alimentos buscando-se manter emagrecimento em torno de 1% a 2% do peso corporal por semana (German et al., 2007; Case, et al., 2011; Brooks et al, 2014).

Estudos demonstram elevadas taxas de insucesso em programas de perda de peso realizados com cães domiciliados, com taxas de emagrecimento mais baixas do que o proposto na literatura. Carciofi et al. (2005) compararam o emagrecimento de cães obesos em condições experimentais com um grupo de cães obesos domiciliados, até perda de 15% do peso corporal, e observaram para o primeiro grupo a média de 1,39% de perda semanal de peso enquanto o grupo domiciliado teve média de 0,75% de perda semanal. German et al. (2015a), realizaram estudo que submeteu cães domiciliados a perda controlada de peso para determinar fatores associados com o sucesso do emagrecimento. Encontraram taxa de perda de peso semanal próxima ao estudo anterior, de 0,7% (0,1-1,7%), com média de consumo de 62,3 (44,0-92,9 kcal/kg^{0,75}) e perda média de 19,5% do peso corporal inicial. Flanagan et al. (2017), em outro estudo com cães domiciliados, encontraram taxa de perda de peso semanal de 0,9 ± 0,45%, no entanto, apenas 8,4% dos casos estudados (78/926) atingiram perda de 20% do peso corporal e o tempo de regime foi de 12 semanas, com evidências de redução nas taxas de perda de peso ao longo do período de acompanhamento. Em estudo retrospectivo de nosso grupo de pesquisa (Luis et al., dados não publicados) foram avaliados 94 programas de emagrecimento de cães atendidos pelo Serviço de Nutrição Clínica de Cães e Gatos do Hospital Veterinário da UNESP/Jaboticabal. No programa obteve-se taxa média de emagrecimento de 0,83 (0,27-1,65%) por semana. Ao final os cães estavam recebendo 58,9 (32,5-75,4) kcal/kg^{0,75}/dia, aproximadamente 62% da sua necessidade energética de manutenção (95 kcal/kg^{0,75}, corroborando com German et al. (2007) que refere resultados de restrições de 50 a 82% da necessidade de manutenção e apresentando taxa de emagrecimento.

A reduzida ingestão de alimentos, necessária para se alcançar o déficit de calorias e conseqüente consumo da massa gorda corporal, pode ocasionar ingestão limitada de nutrientes importantes para o animal, caso a dieta não seja adequadamente formulada para perda de peso. Esta preocupação já motivou

publicações que avaliaram o risco de deficiência nutricional em cães. Linder et al. (2012) avaliaram cinco alimentos comerciais (dois para perda de peso e três alimentos de manutenção) considerando sua oferta para cães com sobrepeso. Na quantidade de energia proposta no estudo para manutenção desses cães (87 kcal/kg^{0,75}), encontrou deficiência nos nutrientes colina, selênio, magnésio, riboflavina, niacina, metionina/cistina, triptofano, cloro e vitamina D. Em estudo posterior, a mesma autora acessou a concentração plasmática dos nutrientes previamente identificados como deficientes e dos aminoácidos essenciais em cães submetidos à perda controlada de 15% do seu peso corporal. Apesar de nenhum cão apresentar sinais clínicos de deficiência nutricional ao final do estudo, que teve duração média de 250 (91-674) dias, a concentração plasmática de treonina, glicina, colina e a concentração urinária de selênio diminuíram com a restrição calórica (Linder et al., 2013).

Aqui falar do estudo do german e gaylord tb

1.2 Perda de massa magra durante o emagrecimento

Tradicionalmente, as dietas para perda de peso em cães contêm baixa densidade energética, concentração elevada de proteína e fibra e enriquecimento de microelementos e vitaminas (Carciofi et al., 2005; German et al., 2010; Laflamme, 2012). Entretanto, mesmo com o elevado teor proteico, a depender da qualidade da proteína e especificamente de seu perfil de aminoácidos, esta pode não suprir adequadamente a quantidade necessária de aminoácidos para manter a síntese e o *turn-over* proteico no organismo durante a restrição energética imposta para o emagrecimento (Yamka et al., 2007). Caso isto ocorra, haverá perda de massa muscular, com potencial prejuízo ao sistema imunológico, estrutura da pele e pelos e comprometimento da saúde geral (Diez; Nguyen, 2006; German et al., 2007; Yamka et al., 2007; Case et al., 2011).

Estudo publicado por German et al. (2007), demonstrou perda significativa de aproximadamente $15 \pm 15,4\%$ da massa magra ao longo do emagrecimento de cães, que durou $177 \pm 98,2$ dias. No estudo foram empregados dois alimentos, uma ração comercial seca e uma úmida, contendo 37,1% e 55% de proteína bruta na matéria seca e 3275 e 3670 (matéria seca) kcal/kg

respectivamente. Diez et al. (2002) compararam duas dietas de alta fibra (FDT teste: 30,8%; controle: 38,6%) , sendo a teste elevada proteína (47,5% MS) e a controle, dieta comercial para perda de peso com proteína moderada (23,8% PB na MS). A composição corporal foi avaliada pelo método da água marcada com deutério. Os grupos tiveram perda de peso corporal semelhante, no entanto, no grupo alimentado com a ração com alta proteína $80,4 \pm 3,1\%$ desta perda foi correspondente a massa gorda, enquanto no grupo ingerindo dieta comercial, $70,0 \pm 3,1\%$ foi massa gorda com maior perda proporcional de massa magra. Esses estudos corroboram com outros que indicam que ingestão elevada de proteína durante a perda de peso auxilia na manutenção da massa magra, facilita a perda de gordura corporal e previne novo ganho de peso (Hannah, 1999; Weber et al., 2007; Yamka et al. 2007; German et.al., 2010).

1.3 Ingestão de proteína e aminoácidos

No estudo retrospectivo, anteriormente mencionado, do nosso grupo de pesquisa (Luis et al., dados não publicados) foram avaliados cinco alimentos comerciais coadjuvantes específicos para perda de peso disponíveis no Brasil. Estes apresentavam, em média, 33,2 (29,5-38,8) % de proteína bruta (valores analisados), o que está acima do recomendado para cães adultos em manutenção (FEDIAF, 2020; NRC, 2006). No entanto, devido à restrição alimentar imposta (consumo médio de 17,8 (10,0-27,6) g ração/kg^{0,75}/dia), o consumo de proteína médio dos cães foi de 6,5 (3,6-8,3) g/kg^{0,75}/dia. Considerando os valores mínimos recomendados pelo FEDIAF (2020; 4,95 g/kg^{0,75}/dia) e NRC (2006; 3,28 g/kg^{0,75}/dia), verificou-se que apesar do consumo médio de proteína ter sido adequado, a depender do paciente, de sua necessidade energética individual e do alimento utilizado, entre 1,1% e 20,2% dos cães ingeriram menos proteína do que o recomendado pelo FEDIAF (2020) e pelo NRC (2006).

Mais importante que a baixa ingestão de proteína bruta, para um dos alimentos avaliados consumo insuficiente de triptofano foi verificado em 92,6% dos pacientes, de metionina em 38,3%, de metionina mais cistina em 10,6%, além de ingestão marginal de treonina e valina pelos cães que necessitaram de maior restrição alimentar. A reduzida ou mesmo deficiente ingestão de metionina

e triptofano frente ao emagrecimento com alimentos comerciais já havia sido identificada em publicações anteriores, uma delas é o estudo de Linder et al. (2012), previamente citado que, dentre outros nutrientes, identificou como insuficiente a ingestão de metionina+cistina e triptofano. German et al. (2015b) realizaram estudo retrospectivo de 27 casos de cães obesos submetidos à perda de peso controlada com ração comercial seca para obesidade. A média de perda foi 28,3 (16-40)% e a ingestão média de energia foi de 61 kcal/kg^{0,75} (44–74 kcal/kg^{0,75}). Assim como no estudo anterior, neste os cães não apresentaram evidências clínicas de deficiências nutricionais, no entanto, para selênio, colina, metionina/cistina, triptofano, magnésio e potássio, a ingestão foi menor do que a recomendada pelo NRC (2006). Destacam ainda que, em relação aos aminoácidos, 44% dos cães ingeriram quantidade insuficiente de metionina/cistina e 7% dos cães ingeriram quantidade de triptofano também menor do que a recomendação do NRC (2006). Gaylord et al. (2018) avaliaram através de questionário aplicado a 178 médicos veterinários do estado da Carolina do Norte (EUA) a eficácia do programa de perda de peso e adequação da ingestão de nutrientes de cães através da porcentagem de restrição calórica a qual os animais eram expostos. Foram avaliados 31 alimentos, dentre eles, rações comerciais para manutenção e alimentos para perda de peso. Para ingestão média de 60 kcal/kg^{0,75}, todos os produtos apresentaram três ou mais nutrientes sob risco de deficiência de acordo com as recomendações do NRC (2006), dentre os principais estavam os aminoácidos metionina, metionina/cistina e triptofano.

Assim, verifica-se a necessidade não somente de melhor caracterização da necessidade energética para perda de peso, para com base nela se ter melhor conhecimento e previsão da quantidade de alimento a ser oferecida, como também se estudar as implicações deste baixo consumo de matéria seca sobre as características das formulações dos alimentos coadjuvantes para perda de peso, garantindo assim o estabelecimento do déficit energético com ingestão suficiente de aminoácidos e demais nutrientes para suporte à manutenção da massa muscular e saúde dos cães (Linder et al., 2013; German et al., 2015).

Dentre os aminoácidos com baixo consumo decorrente à restrição energética para perda de peso (Luis et al., dados não publicados; Linder et al., 2012; German et al., 2015b), a metionina é normalmente considerada um dos aminoácidos limitantes na formulação de dietas para cães (NRC, 2006). Sua deficiência pode resultar em diversos problemas metabólicos como redução na replicação celular e na síntese de fosfolipídios. Menor síntese de fosfolipídios acarreta acúmulo de lipídeos no fígado, uma vez que este aminoácido é doador de grupo metil, componente da coenzima s-adenosilmetionina. Metionina é, ainda, importante componente das proteínas estruturais do organismo. Além disso, sua deficiência causa anorexia e perda de peso (NRC, 2006). Este aminoácido também é importante fonte de enxofre, sendo utilizado na síntese de outros componentes que apresentam este elemento em sua composição, como os demais aminoácidos sulfurados. Assim, possui papel essencial na síntese da cisteína, aminoácido utilizado na síntese da proteína corporal, formação da pele e pelos e da glutatona, componente muito importante na resposta ao estresse e estados inflamatórios (NRC, 2006). A partir da metionina no organismo é utilizada para síntese da taurina, aminoácido fundamental a vários processos metabólicos. Desta forma o cão não necessita de cisteína e taurina *per si*, mas necessita de metionina para síntese destes aminoácidos não essenciais. A deficiência destes é descrita em cães alimentados com pouca metionina. Dentre os sintomas verificados da deficiência de taurina em cães destaca-se a cardiomiopatia dilatada (Kittleson et al., 1997; Fascetti et al., 2003; Tôrres et al., 2003; Sanderson, 2006).

O triptofano, outro aminoácido com incidência importante de deficiência na restrição calórica severa para perda de peso, é precursor da síntese de proteínas, da vitamina niacina e dos neurotransmissores serotonina, melatonina e 5-hidroxitriptofano no organismo. Sua deficiência, assim como de outros aminoácidos, causa anorexia e perda de peso (NRC, 2006). Além disso, há evidências de que dietas suplementadas com altas concentrações de triptofano possam ter efeitos neurocomportamentais, como diminuição da agressividade em cães pelo aumento da síntese dos neurotransmissores (Denapoli et al., 2000). A treonina é um aminoácido alifático que tem como principal função a participação na formação da glicina (NRC, 2006), outro aminoácido não

essencial que atua como antioxidante celular e auxilia no controle de processos inflamatórios sistêmicos (Matilla et al., 2002). A treonina atua, também, na formação de proteínas no organismo e sua deficiência está associada, principalmente, a anorexia e perda de peso em cães (NRC, 2006). A valina também se mostrou marginal em algumas dietas do estudo (Luis, et al., dados não publicados), ela é um aminoácido de cadeia ramificada, precursor de glicose no organismo e essencial à síntese proteica. Assim como a treonina, sua deficiência está associada à anorexia e perda de peso em cães (NRC, 2006).

1.4 Método da água duplamente marcada

Para o estudo da composição corporal dos animais, quantificando-se sua massa corporal magra e gorda, bem como para determinação do gasto energético pode-se empregar o método da água duplamente marcada com isótopos estáveis de deutério (^2H) e oxigênio 18 (^{18}O) (Belisille, 2001; Diez; Nguyen, 2006; Goloni, 2020). Esse método é considerado padrão ouro para avaliar a composição corporal e o gasto energético dos animais simultaneamente (Guidotti et al., 2013). Ele é baseado na inoculação de isótopos estáveis por via subcutânea e utiliza amostras de sangue venoso para avaliar a incorporação e o decaimento dos isótopos ^{18}O e ^2H no contingente de água corporal (Ducatti, 2011; Park, et.al., 2014). Por meio da concentração basal e após enriquecimento dos isótopos se pode determinar a quantidade de água corporal. Com base nesta informação e na constante de hidratação da massa magra se estabelece o contingente de massa magra e, por diferença com o peso corporal se estima a massa gorda corporal (Schierbeek et al., 2009). O ^{18}O é perdido do corpo em forma de água e dióxido de carbono (CO_2), enquanto o ^2H é perdido somente na forma de água. Com base nisto, tem-se que a diferença do desaparecimento de ambos reflete a produção de CO_2 resultante da oxidação de gorduras, carboidratos e proteínas (Belisille, 2001; Park, et.al., 2014). Empregando-se o volume de CO_2 e o coeficiente do alimento se estima o gasto energético total do animal durante o período (Elia; Livesey, 1992). Importante vantagem do método é que não existe necessidade de se restringir a atividade muscular voluntária, permanecendo o animal com sua rotina normal,

representando assim o gasto energético de manutenção no período (NRC, 2006; Ballevre et al., 1994).

1.5 Método do precursor (^{13}C -Leucina)

O metabolismo proteico e dos aminoácidos em cães é pouco estudado, sobretudo em se tratando da manutenção de adultos (Humbert et al., 2001). As possíveis modificações resultantes da obesidade, especialmente durante programas de emagrecimento, ainda não foram exploradas por publicações científicas. Segundo Humbert e colaboradores (2002), o metabolismo de proteína sofre interferência de vários fatores, variando de acordo com a ingestão calórica e proteica do indivíduo, sendo dessa forma afetado na restrição calórica severa. Métodos isotópicos podem ser utilizados para medir o fluxo de aminoácidos e a degradação e síntese proteica, sendo o método do precursor (^{13}C -leucina), referência na determinação do metabolismo proteico dos animais (Bier, 1989; Humbert et al., 2001). Isótopos estáveis são átomos que representam um mesmo elemento químico, mas variam no número de nêutrons sem afetar suas propriedades químicas, sendo excelentes traçadores biológicos para estudo da cinética, turnover e metabolismo de nutrientes (Kim et al., 2016). No método do precursor a ^{13}C -leucina é administrada, através da coleta de plasma e gás expirado, os parâmetros de enriquecimento são obtidos e aplicados em equações de fluxo, síntese e degradação proteica (Goudoever et al., 1995).

2. OBJETIVOS

Diante do exposto o presente estudo tem por objetivos: a) comparar o gasto energético diário, composição corporal e metabolismo proteico de cães domiciliados em fase estática da obesidade com os de cães não obesos, nas mesmas condições de vida; b) comparar o efeito de duas dietas semelhantes em proteína bruta, energia e fibra dietética, sendo uma suplementada com os aminoácidos metionina, triptofano, treonina e valina e outra não, sobre o gasto energético para perda de peso, a composição corporal e o metabolismo proteico de cães obesos ao início e após perda de 20% do peso corporal inicial.

3. REFERÊNCIAS

- Bellisle, F. (2001). The doubly-labeled water method and food intake surveys: a confrontation. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, p. 125 – 133.
- Bermingham, E. N.; Thomas, D. G.; Cave, N. J.; Morris, P. J.; Butterwick, R. F.; German, A. J. (2014). Energy requirements of adult dogs: a meta-analysis. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e109681.
- Bier, D. M. (1989). Intrinsically difficult problems: the kinetics of body proteins and amino acids in man. **Diabetes Metab. Rev.** v. 5: p. 111–132.
- Brooks, D.; Churchill, J.; Fein, K.; Linder, D.; Michel, K.E.; Tudor, K.; Ward, E.; Witzel, A. (2014). AAHA Weight Management Guidelines for Dogs and Cats. **Journal of the American Animal Hospital Association** 50, 1–11.
- Carciofi, A.C.; Gonçalves, K.N.V.; Vasconcellos, R.S.; Bazolli, R.S.; Brunetto, M.A.; Prada, F. (2005). A weight loss protocol and owner's participation in the treatment of canine obesity. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.6, p.1331-1338, nov-dez.
- Case, L.P.; Daristotle, L.; Hayek, M.G. et al. (2011). Canine and feline nutrition, 4th ed. **Mosby Elsevier**, Maryland Heights, MO.
- Chandler, M.; Cunningham, S.; Lund, E.M.; Khanna, C.; Naramore, R.; Patel, A.; Day, M.J. (2017). Obesity and Associated Comorbidities in People and Companion Animals: A One Health Perspective. **Journal of Comparative Pathology**. v. 156, p. 296-309.
- Colliard, L., Ancel, J., Benet, J.J., Paragon, B.M., Blanchard, G. (2006). Risk factors for obesity in dogs in France. **Journal of Nutrition** v. 136, p. 1951-1954.
- Courcier, E.C.; Thomson, R.M.; Mellor, D.J.; Yam, P.S. (2010). An epidemiological study of environmental factors associated with canine obesity. **Journal of Small Animal Practice**; v. 51 p.362–367.
- Da Silveira, M. R.; Frollini, A. B.; Verlengia, R.; Cavaglieri, C. R. (2009). Correlação entre obesidade, adipocinas e sistema imunológico. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum**, v. 11, n. 4, p. 466-472.

Das, U. N. (2001). Is obesity an inflammatory condition? **Nutrition**, v. 17, n. 11-12, p. 953-966.

Denapoli, J.S.; Dodman, N.H.; Shuster, L.; Rand, W.M.; Gross, K.L.; (2000). Effect of dietary protein content and tryptophan supplementation on dominance aggression, territorial aggression and hyperactivity in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 217, p. 504-508.

Diez, M., Nguyen, P., Jeusette, I., Devois, C., Istasse, L., Biourge, V. (2002). Weight loss in obese dogs: evaluation of a high-protein, low-carbohydrate diet. **The Journal of nutrition**, v. 132, n. 6, p. 1685S-1687S.

Diez, M.; Nguyen, P. (2006). Obesity: epidemiology, pathophysiology and management of the obese dog. **Encyclop of canine clinical nutrition**, p. 2-53.

Ducatti, A. (2007). Aplicação dos isótopos estáveis em aquicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 36, p. 1 – 10.

Elia M., Livesey G. (1992) Energy expenditure and fuel selection in biological systems: the theory and practice of calculations based on indirect calorimetry and tracer methods. **World Rev Nutr Diet**. v. 70, p. 68–131.

Fascetti, A. J.; Reed, J. R.; Rogers, Q. R.; Backus, R. C. (2003). Taurine deficiency in dogs with dilated cardiomyopathy: 12 cases (1997–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 223, n. 8, p. 1137-1141.

Fédération Européenne De L'industrie Des Aliments Pour Animaux Familiers. FEDIAF (2020). **Nutritional Guidelines for complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs**. Brussels.

Flanagan, J.; Bissot, T.; Hours, M.; Moreno, B.; Feugier, A.; German, J.A. (2007). Success of a weight loss plan for overweight dogs: The results of an international weight loss study. **PloS one**, v. 12, n. 9.

Gaylord, L., Remillard, R., & Saker, K. (2018). Risk of nutritional deficiencies for dogs on a weight loss plan. *Journal of Small Animal Practice*, v. 59(11), p.695-703.

German, A.J. (2006). The growing problem of obesity in dogs and cats. **Journal of Nutrition** v. 136, p.1940-1946.

German, A. J.; Holden, S. L.; Bissot, T.; Hackett, R. M.; Biourge, V. (2007). Dietary energy restriction and successful weight loss in obese client-owned dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 6, p. 1174-1180.

German, A. J., Holden, S. L., Bissot, T., Morris, P. J., & Biourge, V. (2009). Use of starting condition score to estimate changes in body weight and composition during weight loss in obese dogs. **Research in vet science**, v. 87(2), p. 249-254.

German, A.J.; Holden, S.L.; Bissot, T.; Morris, P.J.; Biourge, V. (2010). A high protein high fibre diet improves weight loss in obese dogs. **The Veterinary Journal** v. 183 p.294–297.

German, A.J.; Titcomb, J.M.; Holden, S.L.; Queau, Y.; Morris, P.J.; Biourge, V. (2015a). Cohort study of the success of controlled weight loss programs for obese dogs. **Journal of Vet Intern Med.** v. 29(6), p.1547–55.

German, A. J., Holden, S. L., Serisier, S., Queau, Y., & Biourge, V. (2015b). Assessing the adequacy of essential nutrient intake in obese dogs undergoing energy restriction for weight loss: a cohort study. **BMC veterinary research**, v. 11 (1), p. 253.

Goloni, C., Peres, F. M., Senhorello, I. L., Di Santo, L. G., Mendonça, F. S., Loureiro, B. A., Pfrimer, K., Ferrioli, E., Pereira, G.T., Carciofi, A. C. (2020). Validation of saliva and urine use and sampling time on the doubly labelled water method to measure energy expenditure, body composition and water turnover in male and female cats. **British Journal of Nutrition**, v. 124(4), p. 457-469.

Goudoever, J. B., Sulkers, E. J., Halliday, D., Degenhart, H. J., Carnielli, V. P., Wattimena, J. L. D., Sauer, P. J. J. (1995). Whole-body protein turnover in preterm appropriate for gestational age and small for gestational age infants: comparison of [15 N] glycine and [1-13 C] leucine administered simultaneously. **Pediatric research**, v.37(4), p.381-388.

Guidotti, S.; Meijer, H. A. J.; Dijk, G. V. (2013). Validity of the doubly labeled water method for estimating CO₂ production in mice under different nutritional conditions. **Am J Physiol Endocrinol Metab** v.305, p.317 – 324.

Hannah, S. (1999). Role of dietary protein in weight management. **Compend Contin Educ Pract Vet**, v. 21, p. 32-33.

Humbert, B., Bleis, P., Martin, L., Dumon, H., Darmaun, D., & Nguyen, P. (2001). Effects of dietary protein restriction and amino acids deficiency on protein metabolism in dogs. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 85(7-8), p.255-262.

Humbert, B. Martin, L., Dumon, H., Darmaun, D., Nguyen, P. (2002). Dietary protein level affects protein metabolism during the postabsorptive state in dogs. **The Journal of nutrition**, v. 132, n. 6, p. 1676S-1678S.

Kealy, R.D.; Lawler, D.F.; Ballam, J.M.; Mantz, S.L.; Biery, D.N.; Greeley, E.H.; Lust, G.; Segre, M.; Smith, G.K.; Stowe, H.D. (2002). Effects of diet restriction on life span and age-related changes in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 220(9), p.1315-1320.

Kim, I. Y., Suh, S. H., Lee, I. K., Wolfe, R. R. (2016). Applications of stable, nonradioactive isotope tracers in in vivo human metabolic research. **Experimental & molecular medicine**, 48(1), e203.

Kittleson, M. D.; Keene, B.; Pion, P. D.; Loyer, C. G. (1997). Results of the multicenter spaniel trial (MUST): taurine-and carnitine-responsive dilated cardiomyopathy in American cocker spaniels with decreased plasma taurine concentration. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 11, n. 4, p. 204-211.

Laflamme, D.P. (2006). Understanding and managing obesity in dogs and cats. **Vet Clin Small Animal**. 36, 1283-1295.

Laflamme, D. P. (2012). Obesity in dogs and cats: What is wrong with being fat? **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 1653-1662.

Linder, D. E.; Freeman, L. M.; Morris, P., German, A. J., Biourge, V., Heinze, C.; Alexander, L. (2012). Theoretical evaluation of risk for nutritional deficiency with caloric restriction in dogs. **Veterinary Quarterly**, v. 32, n. 3-4, p. 123-129.

Linder, D. E., Freeman, L. M., Holden, S. L., Biourge, V., German, A. J. (2013). Status of selected nutrients in obese dogs undergoing caloric restriction. **BMC veterinary research**, v. 9, n. 1, p. 1-10.

Luis, L.W., Goloni, C., Theodoro, S.S., Tozato, M.E.G., Monti, M.; Carciofi, A.C. Nutrient intake of dogs on weight loss program. (**Dados não publicados**).

Matilla, B. Mauriz, J. L.; Culebras, J. M.; González-Gallego, J.; Gonzalez, P. (2002). La glicina: un nutriente antioxidante protector celular. **Nutr Hosp**, v. 17, n. 1, p. 2-9.

Mao, J., Xia, Z., Chen, J., & Yu, J. (2013). Prevalence and risk factors for canine obesity surveyed in veterinary practices in Beijing, China. **Preventive veterinary medicine**, 112(3-4), 438-442.

National Research Council et al. (2006). Nutrient requirements of dogs and cats. National Academies Press.

Park, J., Kazuko, I. T., Kim, E., Kim, J., Yoon, J. (2014). Estimating free-living human energy expenditure: Practical aspects of the doubly labeled water method and its applications. **Nutrition research and practice**, v.8(3), p.241.

Porsani, M. Y. H., Teixeira, F. A., Oliveira, V. V., Pedrinelli, V., Dias, R. A., German, A. J., & Brunetto, M. A. (2020). Prevalence of canine obesity in the city of São Paulo, Brazil. **Scientific Reports**, v.10(1), p.1-15.

Sanderson, Sherry Lynn. (2006). Taurine and carnitine in canine cardiomyopathy. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 36, n. 6, p. 1325-1343.

Schierbeek, H.; Rieken, R.; Dorst, K. Y.; Penning, C.; Goudoever, J. B. (2009). Validation of deuterium and oxygen¹⁸ in urine and saliva samples from children using on-line continuous-flow isotope ratio mass spectrometry. **Rapid Commun Mass Spectrom** v. 23, p. 3549 – 3554.

Tôrrres, C. L.; Backus, R. C.; Fascetti, A. J.; Rogers, Q. R. (2003). Taurine status in normal dogs fed a commercial diet associated with taurine deficiency and dilated cardiomyopathy. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 87, n. 9-10, p. 359-372.

Weber M, Bissot T, Servet E, Sergheraert R, Biourge V, German Aj. (2007). A high-protein, high-fiber diet designed for weight loss improves satiety in dogs. **J Vet Intern Med**. v.21 p.1203–1208.

Yamka, R. M.; Frantz, N. Z.; Friesen, K. G. (2007) Effects of 3 canine weight loss foods on body composition and obesity markers. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 5, n. 3, p. 125.