

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PERDA DE PESO, INDICADORES DO METABOLISMO DE
CARBOIDRATOS E PRODUÇÃO DE CITOCINAS EM CÃES**

Márcio Antonio Brunetto
Médico Veterinário

JABOTICABAL- SÃO PAULO- BRASIL
Fevereiro – 2010

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PERDA DE PESO, INDICADORES DO METABOLISMO DE
CARBOIDRATOS E PRODUÇÃO DE CITOCINAS EM CÃES**

Márcio Antonio Brunetto
Médico Veterinário

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Clínica Médica).

JABOTICABAL- SP- BRASIL
FEVEREIRO – 2010

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MÁRCIO ANTONIO BRUNETTO – nascido em 14 de junho de 1978, na cidade de Xanxerê - SC, ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade do Estado de Santa Catarina em agosto de 1997, concluindo-o em julho de 2002. cursou o Programa de Aprimoramento em Medicina Veterinária, área Nutrição e Nutrição Clínica de Cães e Gatos do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal, nos anos de 2003 e 2004. Em Março de 2005 iniciou o curso de mestrado pelo programa de pós-graduação em Medicina Veterinária (Clínica Médica) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/UNESP), concluindo-o em março de 2006. Em março de 2006, iniciou o curso de doutorado pelo mesmo programa e instituição. Atuou como coordenador do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr Flávio Prada” da FCAV/Unesp, durante os anos de 2005 e 2006 e como professor responsável pelas disciplinas de Nutrição e Alimentação Animal e Bioquímica do curso de Medicina Veterinária da Fundação Educacional de Itajubá, Itajubá – MG, durante o ano de 2009.

*“Dedico este trabalho à minha mãe,
por seu amor incondicional, força de
vontade, coragem e pelo exemplo de
vontade de viver...”*

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, por mais esta oportunidade de aprendizado e crescimento pessoal...

À Minha família, pela base, educação e apoio em todas as etapas da minha vida...em especial a minha querida tia Neura....

Ao meu orientador Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, pela competência e pelo apoio e incentivo na realização deste trabalho...

Aos pós-graduandos Sandra e Fabiano pela grande ajuda na condução deste estudo, sem vocês com certeza teria sido muito mais difícil!...

Ao Professor Eduardo Ferriolli e à Dra Karina Pfrimer por toda a ajuda, atenção, aprendizado e boa vontade na condução das análises de composição corporal...

À equipe do laboratório de endocrinologia da FMRP/USP, especialmente ao técnico Zé Roberto....

À Fapesp, CNPq e Mogiana Alimentos S.A. pelo apoio financeiro à esta pesquisa...

À Juliana, popular “Jully” pelos três anos de convivência na nossa “mini república”, juntamente com os amigos peludos Batatinha, Petuquinha e Sofia...

Aos amigos do nosso laboratório: Eliana, Márcia, Juliana, Sandra, Fabiano, Gabi, Karina, Rodrigo, Ricardo, Luciana e demais pós-graduandos, pela amizade, convívio, troca de experiências e ajuda...

À funcionária Cláudia pela grande ajuda nas análises laboratoriais e pela amizade...

Aos amigos Edgar, Dani, Paula, Karla, Beto, Alex, Danilo, Fabrício, Valmir, Grazi, Sabryna, Soraia...

Aos proprietários dos cães que gentilmente concordaram em incluir seus animais e pacientemente seguiram os protocolos do estudo...

Aos cães obesos (Bela, Nala, Meggie, Gorda, Tuti, Tati, Porpeta, Ciciolina, Spike e Lilica) que participaram deste estudo e contribuíram para a melhoria de vida de outros cães com a mesma condição...

Aos bolsistas, estagiários e todas as pessoas que auxiliaram na condução deste estudo especialmente à Mayara e Amanda...

Muito obrigado!!!

SUMÁRIO

Lista de tabelas	v
Lista de figuras	viii
Lista de apêndices	ix
Lista de abreviaturas	x
Resumo	xi
Abstract	xii
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	1
2. OBJETIVOS	14
2.1. Geral	14
2.2. Específicos	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1. Animais	15
3.1.1. Grupo obeso (G1) e grupo obeso após perda de peso (G2)	15
3.1.2. Grupo controle (G3)	16
3.2. Preparação e avaliação da dieta experimental	17
3.3. Protocolo experimental	19
3.4. Hemogramas e dosagens bioquímicas séricas, enzimáticas e hormonais	21
3.5. Teste intravenoso de tolerância à glicose (TIVTG) e resposta insulínica	21
3.6. Resposta pós-prandial de glicose e insulina	22
3.7. Dosagem de leptina	23
3.8. Quantificação das citocinas TNF α e IL-6	23
3.9. Composição corporal	23
3.10. Procedimentos de cálculos e análise estatística dos resultados	24
4. RESULTADOS	27
4.1. Composição química e digestibilidade da dieta experimental	27
4.2. Hemogramas e dosagens bioquímicas séricas, enzimáticas e hormonais....	27
4.3. Composição corporal	27
4.4. Teste intravenoso de tolerância à glicose (TIVTG) e resposta insulínica	29
4.5. Teste pós-prandial de glicose e insulina.....	43
4.6. Quantificação de citocinas TNF α e IL-6.....	53
5. DISCUSSÃO	55
6. CONCLUSÕES	66
7. REFERÊNCIAS	67
8. APÊNDICES	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Informações referentes aos animais do grupo 1 (G1)	16
Tabela 2.	Composição química da dieta hipocalórica experimental	18
Tabela 3.	Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes, energia metabolizável e escore fecal dos cães mediante o consumo da dieta hipocalórica experimental (média \pm erro padrão da média).	19
Tabela 4.	Peso, escore de condição corporal e composição corporal dos cães dos três grupos experimentais	28
Tabela 5.	Concentração de glicose (média \pm erro padrão) mensurada durante o teste intravenoso de tolerância à glicose de cães obesos (G1), após a perda de 20% de peso (G2) e controle (G3).....	30
Tabela 6.	Áreas abaixo da curva da glicose sanguínea (AACG) de cães obesos (G1), após a perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste intravenoso de tolerância à glicose	32
Tabela 7.	Incremento de glicose sanguínea (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após a perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidos durante o teste intravenoso de tolerância à glicose	33
Tabela 8.	Áreas abaixo da curva do incremento de glicose sanguínea (AACIG) de cães obesos (G1), após a perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste intravenoso de tolerância à glicose	34
Tabela 9.	Concentração de insulina (média \pm erro padrão) mensurada durante o teste intravenoso de tolerância à glicose em cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3).....	36
Tabela 10.	Áreas abaixo da curva da insulina sérica (AACIns) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste intravenoso de tolerância à glicose	38
Tabela 11.	Incremento da insulina sérica (média \pm erro padrão) mensurada durante o teste intravenoso de tolerância à glicose em cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3).....	39

Tabela 12.	Áreas abaixo da curva do incremento de insulina sérica (AACInIns) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste intravenoso de tolerância à glicose.....	41
Tabela 13.	Valores (média \pm erro padrão) de glicemia basal, insulina basal, glicemia mínima, glicemia máxima, glicemia média, diferença entre a glicemia máxima e mínima e concentração de leptina basal de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidos durante o teste intravenoso de tolerância à glicose	42
Tabela 14.	Valores medianos (mínimo-máximo) de K, T1/2, $\Delta I/\Delta G$, PRI e PIT de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidos durante o teste intravenoso de tolerância à glicose	43
Tabela 15.	Glicemia (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina	45
Tabela 16.	Áreas abaixo da curva de glicose sanguínea (AACG) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina	46
Tabela 17.	Incrementos de glicose sanguínea (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidos durante o teste pós-prandial de glicose e insulina .	47
Tabela 18.	Áreas abaixo da curva do incremento da glicose sanguínea (AACIG) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina	48
Tabela 19.	Concentrações de insulina sérica (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina	49
Tabela 20.	Áreas abaixo da curva do incremento de insulina (AACInIns) (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina	50

Tabela 21.	Incrementos de insulina sérica (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidos durante o teste pós-prandial de glicose e insulina	51
Tabela 22.	Áreas abaixo da curva do incremento da insulina sérica (AACInIns) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina	52
Tabela 23.	Valores medianos (mín-max) das concentrações séricas das adipocitocinas TNF α e IL-6 de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3)	53

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Animais do G1 classificados como escore de condição corporal 9 e obesidade intensa	29
Figura 2.	Curva glicêmica de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtida durante o teste intravenoso de tolerância à glicose (média ± erro padrão).	31
Figura 3.	Curva do incremento de glicose dos cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtida durante o teste intravenoso de tolerância à glicose (média ± erro padrão) ..	35
Figura 4.	Concentrações séricas de insulina de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtida durante o teste intravenoso de tolerância à glicose (média ± erro padrão)...	37
Figura 5.	Curva do incremento de insulina de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtida durante o teste intravenoso de tolerância à glicose (média ± erro padrão) ..	40
Figura 6.	Valor de R^2 e equação de regressão encontrada entre as variáveis massa gorda e concentração sérica de leptina.....	54
Figura 7.	Valor de R^2 e equação de regressão encontrada entre as variáveis massa gorda e concentração sérica de TNF α	54

LISTA DE APÊNDICES

	Página
Apêndice 1 Escala de classificação do escore de condição corporal empregada no estudo.....	79
Apêndice 2. Valores de hemograma encontrados nos grupos experimentais obesos (G1) e controle (G3) no início do estudo	80
Apêndice 3. Valores dos exames bioquímicos encontrados nos grupos experimentais obesos (G1) e controle (G3) no início do estudo ...	81

LISTA DE ABREVIATURAS

AACG	Área abaixo da curva da glicose
AACIG	Área abaixo da curva do incremento da glicose
AACIn	Área abaixo da curva da insulina
AACInIns	Área abaixo da curva do incremento da insulina
AACI	Área abaixo da curva do incremento da glicose
AAFCO	Association of american feed control official
AOAC	Association of the official analitical chemists
CDA	Coeficiente de digestibilidade aparente
EB	Energia bruta
EEHA	Extrato etéreo hidrólise ácida
ENN	Extrato não-nitrogenado
FA	Fosfatase alcalina
FB	Fibra bruta
FDT	Fibra dietética total
g	Gramas
kcal	Kilocalorias
mg/dL	Miligramas por decilitro
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
NRC	National Research Council
PB	Proteína bruta
TIVTG	Teste intravenoso de tolerância à glicose

RESUMO

O aumento dos depósitos corporais de gordura está relacionado com profundas alterações de algumas funções fisiológicas que podem resultar em redução da tolerância à glicose e resistência insulínica. O presente estudo objetivou avaliar os efeitos da perda de peso sobre parâmetros bioquímicos, metabólicos, hormonais e de composição corporal em cães naturalmente obesos, em fase estática a pelo menos 12 meses e após a perda de 20% de peso corporal, em comparação com um grupo de cães em condição corporal ideal. O grupo 1 (G1) foi composto por 10 cães obesos com escore de condição corporal igual ou superior a 9 e com porcentagem de gordura corporal média igual a $45,72 \pm 1,51\%$. O grupo 2 (G2) foi composto pelos cães do G1 após a perda de 20% do peso inicial, que passou a apresentar $33,53 \pm 1,92\%$ de massa gorda ($p < 0,001$). No grupo 3 (G3), foram incluídos 10 cães da raça beagle, com escore de condição corporal entre 4 e 5, com porcentagem de gordura corporal média igual a $18,36 \pm 1,38\%$ ($p < 0,01$). A tolerância à glicose e a sensibilidade insulínica foram avaliados através do teste intravenoso de tolerância à glicose (TIVTG) e pelo teste pós-prandial de glicose e insulina (TPPGI) nos três grupos experimentais. A interação entre tempo e tratamento (grupo experimental) foi significativa para a glicemia ($p < 0,05$), sendo diferentes os grupos G1 x G3 e G2 apresentou valores de glicemia intermediários nos dois testes. No TIVTG, o pico da glicemia nos três grupos experimentais foi observado logo no primeiro minuto após a infusão da glicose. Nos tempos 1,0; 2,5 e 5,0 minutos os valores de glicemia foram estatisticamente menores para G3 em relação à G1. No TPPGI os G1 e G2 apresentaram secreção tardia de insulina, evidenciado por maior área abaixo da curva da insulina no intervalo de 60-360 minutos. Os animais obesos (G1) apresentaram maiores concentrações séricas circulantes das adipocitocinas leptina, TNF α e IL-6 que o G3 e esses valores reduziram significativamente após a perda de peso.

Palavras-chave: caninos, glicose, massa gorda, insulina, emagrecimento, adipocitocinas.

ABSTRACT

The increase of fat corporal deposits is related with deep alterations of some physiologic functions, which can result in reduction of glucose tolerance and insulin resistance. The present study intended to evaluate the effects of weight loss over different biochemical, metabolic, hormonal and corporal composition parameters in dogs naturally obese, in static phase for at least 12 months, and to compare them after loss of 20% of corporal weight with a group of dogs in ideal corporal condition. The group 1 (G1) was composed by 10 obese dogs with body condition score equal or superior to 9 and with mean corporal fat percentage equal to $45.72 \pm 1.51\%$. Group 2 (G2) was composed by the dogs of G1 after loss of 20% of initial weight, presenting at this moment $33.53 \pm 1.92\%$ of corporal fat ($p < 0.001$). In group 3 (G3), 10 beagle dogs were included, with body condition score between 4 and 5, mean percentage of corporal fat equal to $18.36 \pm 1.38\%$ ($p < 0.01$). Glucose tolerance and insulin sensibility were measured in the three groups through intravenous glucose tolerance test (TIVTG) and glucose and insulin postprandial test (TPPGI). The interaction between time and treatment (experimental group) was significant for the glycemia ($p < 0.05$), being different the groups G1 x G3 and G2 presented intermediate glycemia values in both tests. In TIVTG, the glycemic peak in the three experimental groups was observed in the first minute after the infusion of glucose. In moments 1.0; 2.5 and 5.0 minutes glycemia values were statistically lower to G3 in comparison to G1. In TPPGI the G1 and G2 groups presented later secretion of insulin, demonstrated for bigger insulin under the curve area from times 60-360 minutes. Obese animals (G1) presented higher serum concentrations of circulating adipokines, leptin, TNF- α and IL-6 than G3 and these values were significantly reduced after weight loss.

Keywords: canine, glucose, fat mass, insulin, weight loss, adipokines.

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

A obesidade tem aumentado em todo planeta, sendo classificada como um problema de saúde pública mundial (FRIEDMAN, 2003). A abundante oferta de alimentos palatáveis, calóricos e baratos, aliados aos hábitos sedentários, pode ser considerada o fator desencadeante desta epidemia (PI-SUNYER, 2003). Estima-se que, em 2020, dois terços do gasto global com doenças em seres humanos será atribuído a afecções crônicas não comunicáveis, conseqüentes ao sedentarismo e a excessiva ingestão calórica (CHOPRA e GALBRAITH, 2002).

Nos Estados Unidos, o sobrepeso é de 65% e a obesidade de 31% para a população humana adulta (ARONNE, 2002). Na Inglaterra, entre 1980 e 1990, a prevalência de obesidade dobrou (CHILDHOOD OBESITY, 2001). Os índices de obesidade entre as mulheres da região leste do Mediterrâneo e norte da África excede os dos EUA, e os do leste da Europa e América Latina são similares aos dos EUA (GRUMMER-STRAWN et al., 2000). Uma pesquisa realizada em 2002-2003 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em conjunto com o Ministério da Saúde, revelou que o Brasil tem cerca de 38,6 milhões de pessoas com peso acima do recomendado, o equivalente a 40,6% de sua população adulta. Deste total, 10,5 milhões são obesos (IBGE, 2005).

Em medicina veterinária, a obesidade já é considerada a afecção nutricional e metabólica mais comum nas sociedades desenvolvidas. Considera-se que seja a doença mais freqüente em cães e gatos na atualidade (GERMAN, 2009). Estima-se que cerca de 34,1% da população canina americana encontra-se em sobrepeso ou obesa (LUND et al., 2006). Na Austrália, encontrou-se uma prevalência que variou entre 23 a 41% dos cães (McGREEVY et al., 2005). No Brasil, há escassez de dados neste sentido, havendo um único estudo que foi realizado na cidade de São Paulo, no qual se encontrou uma prevalência de 16,5% de cães obesos (JERICÓ e SCHEFFER, 2002).

A obesidade é definida como um excesso de gordura corporal suficiente para prejudicar as funções fisiológicas do organismo. O ser humano é definido

como moderadamente obeso quando o peso real excede o peso ideal em 15 a 30%. Definições semelhantes foram propostas para cães e gatos e considera-se em sobrepeso o cão com mais de 15% de gordura corporal (BURKHOLDER e TOLL, 2000). Apesar de ser considerada uma doença essencialmente nutricional, na origem da obesidade existem fatores genéticos, sociais, culturais, metabólicos e endócrinos, que determinam um caráter multifatorial à afecção (LEWIS et al., 1994; MONTEIRO, 1999). Todos esses fatores produzem um desequilíbrio entre o consumo e o gasto energético, que conduz a um balanço energético positivo acumulado na forma de gordura, levando ao ganho de peso e mudanças na composição corporal (CASE et al., 1998; Mc CRORY et al., 2000).

O mecanismo desencadeante envolvido no desenvolvimento da obesidade tem sido alvo de muitos trabalhos em seres humanos e animais de laboratório. Apesar de intensa pesquisa, uma teoria unificada para o desenvolvimento da obesidade ainda não está definida. Os principais fatores apontados que podem predispor um cão ao excesso de peso são a raça, sexo, idade, castração, fatores genéticos, atividade física e densidade energética da dieta (NORRIS e BEAVER, 1993; DEFRETIN-LEGRAND, 1994; KIENZLE et al., 1998; MARKWELL e EDNEY, 2000; CARCIOFI et al., 2005; GERMAN, 2006; DIEZ e NGUYEN, 2006). Cães de meia idade a velhos são os mais predispostos, o intervalo de idade de maior prevalência se situa entre 5 a 10 anos (LEWIS et al., 1994; DIEZ e NGUYEN, 2006; LAFLAMME, 2006). A castração é um importante fator de risco para a obesidade em cães, possivelmente devido à diminuição da taxa metabólica basal após a gonadectomia e também pelo conseqüente sedentarismo, sendo as fêmeas mais predispostas do que os machos (GERMAN, 2006; DIEZ e NGUYEN, 2006). Fatores dietéticos como a alta densidade energética, quantidade de alimento, número de refeições, fornecimento de petiscos e sobras de mesa apresentam estreita relação com a gênese da obesidade (GERMAN, 2006). O nutriente que mais eleva o teor energético e a palatabilidade das rações é a gordura, que por sua vez é melhor digerida, utilizada e estocada que os carboidratos e proteínas (ROLLS, 2000). Apesar deste fato, a composição nutricional da dieta é menos importante que o consumo energético diário pelo

animal, que quando em excesso, independentemente do tipo de alimento, induz ao ganho de peso.

O acompanhamento do emagrecimento em cães obesos, baseando-se simplesmente nas pesagens e avaliação do escore de condição corporal, é bastante subjetivo e relativamente empírico na avaliação da qualidade da perda de peso dos animais, não refletindo adequadamente as alterações metabólicas propiciadas pela dieta e restrição alimentar empregadas. A disponibilização de exames de composição corporal, bioquímicos e hormonais fornece importantes informações quanto à suficiência do aporte nutricional empregado, melhora nas respostas glicêmica e insulínica e possíveis alterações no metabolismo basal dos animais. Desta maneira, pode-se avaliar de uma projeção mais ampla os impactos positivos ou negativos à saúde decorrentes do emprego de um programa de perda de peso.

A composição corporal pode ser determinada por meio de diferentes técnicas com diferentes graus de precisão e exatidão e a custos variados. O método da diluição de óxido de deutério ou da água deuterada se baseia na aplicação de uma dose conhecida de óxido de deutério no animal e na posterior determinação, por espectrometria de massa, do enriquecimento por deutério de uma amostra de água corpórea. Esta dosagem é realizada antes e algumas horas após a aplicação do óxido de deutério (habitualmente são coletadas amostras quatro horas após a aplicação). Neste tempo, a água enriquecida por deutério se distribui por todo o corpo e se equilibra com a água corpórea, estando o enriquecimento em fase de platô. Pela diferença de enriquecimento antes e após a administração da óxido de deutério, se determina a água corpórea total, com precisão (SCHOELLER et al., 1980).

A determinação da composição corporal por este método se baseia no princípio da constante de hidratação da massa magra. Em mamíferos, 73,2% da massa magra corpórea é composta por água (PACE e RATHBUN, 1945). Dessa forma, pela quantificação da água corpórea, se calcula a massa magra total. De acordo com MUNDAY (1994), os teores de massa magra estimada variam entre 69,9% a 74,5% em cães e entre 72,2% a 73,2% em gatos. FERRIER et al. (2002)

citam que este método vem sendo utilizado em animais desde 1955, sendo considerado bastante preciso e de baixo custo relativo.

1.1 Tecido adiposo, função endócrina e inflamação

A obesidade, no seu conceito atual, tem sido vista como um estado inflamatório de baixa intensidade. Isso se deve ao fato de o tecido adiposo branco estar envolvido na produção de citocinas ou adipocinas, que resultam nesse processo inflamatório. Dentre elas, destaca-se o fator de necrose tumoral alfa (TNF α), citocina também conhecida por caquexina, produzida por macrófagos e adipócitos e a IL-6, com acentuada função catabólica das reservas energéticas orgânicas, que está envolvida na resistência insulínica em diabéticos (GAYET et al., 2004). Estes mesmos autores demonstraram que o desenvolvimento da obesidade em cães está associado com um aumento na concentração plasmática de insulina, TNF α , ácidos graxos não esterificados (NEFA) e fator de crescimento-1 semelhante à insulina (IGF1). Estas mudanças metabólicas e hormonais podem explicar, em parte, o declínio na sensibilidade à insulina.

A leptina é uma adipocina sintetizada pelo tecido adiposo em resposta à elevação da insulinemia pós-prandial. O aumento de tamanho dos adipócitos funciona como estímulo da secreção de leptina (MARTIN et al., 2001). Esta substância apresenta dois efeitos metabólicos importantes em resposta à elevação na glicemia: ativação dos neuroceptores do centro hipotalâmico da saciedade e elevação da termogênese. Estes eventos ocorrem simultaneamente, controlando o peso corporal dos animais. APPLETON et al. (2001), ao estudarem os efeitos do ganho de peso em gatos, observaram que o aumento do peso corporal e a subsequente elevação da concentração sérica de leptina não resultaram em diminuição da ingestão alimentar ou maior gasto energético. Este paradoxo tem sido observado em outras espécies e foi hipotetizado como consequência de uma “resistência leptínica” (MAFFEI et al., 1995; CONSIDINE et al., 1996).

Tem sido postulado o envolvimento da leptina em algumas das conseqüências decorrentes da obesidade, dentre elas a resistência à insulina. APPLETON et al. (2001) observaram que aumentos nas concentrações de leptina estão associados com a diminuição da sensibilidade insulínica em gatos, independente da quantidade de gordura corporal presente. Essas desordens podem ser revertidas ou amenizadas com a instituição de um programa de perda de peso, estabelecendo-se uma situação de balanço energético negativo, que pode ser conseguida por meio da diminuição da ingestão calórica, associada ou não ao aumento do gasto energético (CARCIOFI et al., 2005). Com isto o animal mobiliza seus estoques orgânicos de gordura (MARKWELL e BUTTERWICK, 1994).

1.2 Alterações clínicas associadas à obesidade

Os efeitos deletérios do excesso de peso sobre a saúde dos cães são bastante citados na literatura, mas pouco investigados. Recentes descobertas sobre as propriedades metabólicas do tecido adiposo e sobre sua capacidade em produzir hormônios atuantes em processos fisiológicos e fisiopatológicos, estão revolucionando conceitos sobre a biologia do adipócito (FONSECA-ALANIZ et al., 2006). Os aumentos dos depósitos corporais de gordura estão relacionados com profundas alterações de algumas funções fisiológicas (GAYET et al., 2004). No conceito atual, o tecido adiposo é considerado um órgão dinâmico que secreta vários fatores denominados adipocinas ou adipocitocinas. Estas, em sua grande maioria, estão associadas direta ou indiretamente a problemas cardiorrespiratórios, ortopédicos e desordens metabólicas como redução da tolerância à glicose, resistência insulínica, diabetes tipo 2 e dislipidemias (GRECO, 2002; GAYET et al., 2004; GERMAN, 2006; GERMAN et al., 2009). A seguir são descritos os possíveis efeitos da obesidade sobre os diferentes órgãos e sistemas, baseados em informações mais recentes obtidas da literatura específica para cães.

1.2.1 Hiperlipidemia

O termo hiperlipidemia refere-se ao aumento da concentração de lipídeos (colesterol, triglicérides ou ambos) séricos (ZICKER et al., 2000; JEUNETTE et al., 2005; JOHNSON, 2005; SCHENCK, 2006; XENOULIS e STEINER, 2009). O colesterol e triglicérides são os lipídeos séricos mais relevantes clinicamente. As desordens lipídicas são relativamente comuns na veterinária, principalmente nos cães, e estas condições podem ocorrer como resultado de um defeito primário no metabolismo de lipoproteínas ou como consequência de uma doença sistêmica adjacente (JOHNSON, 2005; SCHENK, 2006). Alguns estudos descreveram aumento significativo de triglicérides e colesterol plasmático em cães obesos (BARRIE et al., 1993; CHIKAMUNE et al., 1995; JEUNETTE et al., 2005), podendo isto resultar em uma maior concentração destes metabólitos em todas as frações das lipoproteínas circulantes (CHIKAMUNE et al., 1995). A mensuração do colesterol total e triglicérides reflete, de forma indireta, o conteúdo sérico das lipoproteínas e fornece informações do estado metabólico das gorduras. Nas situações em que estes metabólitos estão aumentados, subentende-se que uma ou mais lipoproteínas que carregam estes lipídios vão estar elevadas, sendo este tipo de avaliação a mais utilizada para se determinar anormalidades do metabolismo lipídico (JOHNSON, 2005). Embora seja bastante especulado que a obesidade pode alterar as concentrações de colesterol e triglicérides, existem poucas informações referentes à frequência destes achados e estas são, também, bastante discordantes.

Os possíveis efeitos deletérios da hiperlipidemia crônica sobre a saúde dos cães ainda são desconhecidos. A hipercolesterolemia tem sido associada a lesões oculares e a hipertrigliceridemia pode induzir pancreatite aguda segundo JEUNETTE et al. (2005), embora estes autores não tenham avaliado a fundo esta afirmação. Em contraste com humanos, a aterosclerose é rara em cães obesos e isso pode ser explicado em função do metabolismo lipídico da espécie, que se

caracteriza por apresentar maiores concentrações de lipoproteínas de alta densidade circulantes (HDL), o que os torna mais resistentes ao desenvolvimento de aterosclerose. Estudo recente demonstrou que somente valores de colesterolemia superiores a 750mg/dL predispõe os cães a desenvolverem aterosclerose e animais neste estado estão 53 vezes mais susceptíveis a desenvolverem diabetes mellitus e 51 vezes mais predispostos ao hipotireoidismo (HESS et al., 2003). Outro estudo classificou os valores de colesterol entre 300 – 500 mg/dL como pouco elevados; 500-750mg/dL como moderadamente elevados e acima de 750 mg/dL como severamente elevados (WHITNEY, 1992). Pesquisa recente (BRUNETTO et al., 2009) determinou a concentração sérica de lipídeos em 30 cães obesos atendidos pela rotina do Serviço de Nutrição Clínica de Cães e Gatos, do HVGLN – FCAV/Unesp, sendo estes diagnosticados como obesos a partir da escala de escore corporal de nove pontos, descrita por Laflamme (1997) e também pela determinação da composição corporal pelo método de diluição de isótopos de deutério. Os resultados demonstraram que nenhum animal apresentou aumento importante de colesterol, o valor mais alto encontrado foi de 486,5mg/dL. A média encontrada para o grupo total (ECC 8 e 9) foi de 281,96mg/dL, sendo o valor mínimo de 135,25mg/dL e o máximo de 486,5mg/dL e a média do grupo com ECC 9 foi de 374,53 mg/dL, o que indica uma hipercolesterolemia leve e classifica os cães obesos como um grupo de baixo risco a desenvolver aterosclerose.

1.2.2 Alterações ortopédicas

A obesidade é considerada o principal fator de risco para as enfermidades ortopédicas nos animais de companhia, especialmente nos cães. Um estudo demonstrou que o peso corporal é fator predisponente a ocorrência de fraturas condilares do úmero, ruptura de ligamento cruzado cranial e discopatias intervertebrais em cães da raça Cocker Spaniel (BROWN et al., 1996). Outros estudos demonstraram não somente importante associação entre obesidade e

osteoartrite (KEALY et al., 1997; KEALY et al., 2000) como também redução dos sinais clínicos com a perda de peso (IMPELLIZZERRI et al., 2000).

1.2.3 Alterações cardiovasculares

Em humanos, dentre os fatores de risco para a doença cardiovascular associados à obesidade podem-se destacar a hipertensão, dislipidemia, resistência à insulina, glicemia de jejum alterada, intolerância à glicose e o diabetes, como desfecho final. Dentre os distúrbios cardiovasculares descritos, estes variaram desde circulação hiperdinâmica e alterações estruturais cardíacas subclínicas até a insuficiência cardíaca. Em contrapartida, existem poucas informações a respeito dos efeitos cardiovasculares decorrentes da obesidade nos animais de companhia. Em um estudo com mais de 8000 cães, verificou-se que somente os animais com obesidade severa demonstraram aumento da incidência de desordens cardiovasculares, no entanto, a natureza exata do distúrbio cardíaco e sua correlação com a obesidade não foram avaliadas (EDNEY & SMITH, 1986).

Os efeitos deletérios da obesidade sobre a função cardíaca dos seres humanos, diferentemente dos cães, já estão bem descritos na literatura e são caracterizados por alterações hemodinâmicas, estruturais e funcionais cardíacas que se desenvolvem mesmo na ausência de hipertensão sistêmica ou de cardiopatia pré-existente. Entretanto, essas anormalidades estão relacionadas principalmente aos obesos mórbidos, ao passo que na obesidade de grau moderado a severo esses achados são incertos. Além disso, a duração e a severidade da obesidade são os fatores mais importantes no desenvolvimento das alterações que culminam, ao longo do tempo, com a insuficiência cardíaca congestiva no homem (ATKINS, 1999; ALPERT, 2001).

Cães obesos com escore de condição corporal igual a 8 podem apresentar discreta dilatação atrial esquerda sem alteração da dimensão ventricular, mas com discreta hipertrofia excêntrica, o que pode ser secundário a leve sobrecarga de volume devido ao aumento da demanda metabólica em indivíduos obesos. No

entanto, a função sistólica e diastólica avaliadas pelo ecodopplercardiograma não são alteradas pela obesidade (PEREIRA NETO, 2005; PEREIRA NETO, 2009).

O termo cardiomiopatia da obesidade em humanos aplica-se quando as alterações estruturais e hemodinâmicas cardíacas levam à insuficiência cardíaca congestiva, ocorrendo tipicamente em pessoas com obesidade severa crônica (ALPERT, 2001). No entanto, demonstrou-se que cães com excesso de peso dificilmente desenvolvem cardiomiopatia da obesidade, como ocorre em humanos, apenas apresentam algumas alterações estruturais decorrentes da sobrecarga de volume - já descritas - o que não resulta em insuficiência cardíaca congestiva, de forma que cães obesos não apresentaram predisposição para o desenvolvimento de anormalidades cardíacas graves, como ocorre com os seres humanos (PEREIRA NETO, 2005; PEREIRA NETO e CAMACHO, 2007; PEREIRA NETO, 2009).

1.2.3.1 Hipertensão

Os mecanismos da hipertensão associados à obesidade humana são complexos. O aumento da atividade simpática parece ser um dos principais mecanismos envolvidos na hipertensão do obeso. Porém, existem estudos envolvendo animais e homens em que a função simpática diminuída e aumentada já foram demonstradas. Em cães, a correlação entre a obesidade e hipertensão é bastante controversa. A elevação da pressão sanguínea depende das condições que levam ao aumento do débito cardíaco e da resistência vascular. Cães podem ser hipertensos (ROCCHINI et al., 1989) ou apenas possuírem valores mais elevados da pressão arterial, mas dentro da normalidade, em relação àqueles com peso corporal ideal (PEREIRA NETO, 2005; PEREIRA NETO et al., 2010). Todavia, deve-se considerar que a presença e a intensidade das alterações estruturais e funcionais cardíacas dependem e são proporcionais ao tempo de instalação e convivência com as modificações hemodinâmicas e grau de severidade da obesidade (ROCHA et al., 2007). Uma revisão recente do Colégio

Americano de Medicina Interna Veterinária sobre as possíveis causas de hipertensão em cães e gatos apontou que a obesidade possui poucos efeitos na elevação da pressão arterial (BROWN et al., 2007).

1.2.4 Alterações respiratórias

A avaliação da função pulmonar, como também as importantes disfunções do sistema respiratório na obesidade, tem sido muito estudada no homem (GIBSON, 2000; OLSAN e ZWILLICH, 2005) e em menor frequência nos cães (BACH et al., 2007; PEREIRA NETO, 2009). No entanto, são vagas as informações que descrevem detalhadamente a patofisiologia da obesidade sobre a função respiratória dos cães. A obesidade é um fator de risco importante no desenvolvimento do colapso de traquéia em cães (WHITE e WILLIAMS, 1994). Adicionalmente, também exacerba outras doenças respiratórias, incluindo a paralisia de laringe e a síndrome da obstrução das vias aéreas dos cães braquicefálicos, devido ao aumento do depósito de tecido adiposo na face, região malar, língua, faringe, região superior e inferior da laringe, pescoço e tórax (HENDRICKS, 1992; GERMAN, 2006).

BACH e colaboradores (2007) verificaram aumento da resistência expiratória, ou seja, da limitação ao fluxo de ar durante hiperpnéia, comparado a respiração espontânea em repouso em cães retrievers obesos. Além disso, constataram que a capacidade residual funcional diminuía conforme aumentava o grau de obesidade nos cães avaliados, podendo ter contribuído para a elevação da resistência expiratória, uma vez que são índices inversamente proporcionais. Em geral, os indivíduos obesos apresentam discretas alterações na troca de gases arteriais com leve redução da pressão parcial de oxigênio arterial (PaO_2) que, na maioria das vezes, não progridem nem levam a doença respiratória (MANCINI, 2001; BACH et al., 2007).

PEREIRA NETO (2009), ao avaliar os gases arteriais em cães, observou valores inferiores da pressão parcial arterial de oxigênio nos cães obesos

comparado aos cães com peso corporal ideal, porém dentro da faixa de normalidade entre 80 a 110 mmHg, não caracterizando uma situação de hipoxemia, a qual é definida quando a PaO_2 é menor que 80 mmHg (HASKINS, 1996). Após a perda de peso corporal, o valor da PaO_2 aumentou significativamente, o que permite sugerir melhora na eficiência pulmonar em oxigenar o sangue nos cães sem o excesso de peso. Achados semelhantes foram observados por BACH et al. (2007) em cães moderadamente obesos a obesos mórbidos, que também não apresentaram hipoxemia. No entanto, no estudo desses autores os valores da PaO_2 não diferiram dos valores do grupo de cães não-obesos.

No que concerne à avaliação da mecânica e dinâmica respiratória dos cães obesos, verifica-se significativa diminuição do volume corrente e dos tempos inspiratório e expiratório com aumento da frequência respiratória, caracterizando padrão respiratório rápido e de baixa amplitude comumente observado em seres humanos obesos. Essa alteração pode estar associada ao aumento da resistência respiratória total e redução tanto da complacência da parede torácica, como também pulmonar, aumentando o trabalho respiratório e, com isso, limitando a capacidade ventilatória máxima (MANCINI, 2001; PEREIRA NETO, 2009).

A redução do peso corporal dos cães obesos contribui para a elevação do volume corrente e dos tempos inspiratório e expiratório e diminuição da frequência respiratória (PEREIRA NETO, 2009), o que pode ser justificado pela melhora na ventilação pulmonar devido ao aumento da complacência pulmonar e diminuição da resistência respiratória (HALAKA et al., 2000).

1.2.5 Resistência insulínica e diabetes mellitus

O *diabetes mellitus* é classificado de acordo com a forma de ocorrência da doença à semelhança do verificado em humanos, incluindo o tipo 1 e o tipo 2, com base nos mecanismos patofisiológicos e alterações patogênicas que afetam as células beta. O DM do tipo 1 é caracterizado pela destruição ou perda de células

beta com insuficiência progressiva e eventualmente completa de insulina. A maioria dos casos necessita de tratamento com insulina no momento do diagnóstico (FELDMAN e NELSON, 2004). O tipo 2 é caracterizado pela resistência à insulina e células beta disfuncionais. A quantidade de insulina secretada pode estar aumentada, diminuída ou normal, comparada com cães normais. No entanto, ela é insuficiente para superar a resistência à insulina nos tecidos periféricos. Os diabéticos do tipo 2 podem ser tanto insulino-dependentes como não insulino-dependentes, dependendo da severidade da resistência à insulina e do status funcional das células beta. Tanto o tipo 1 quanto o tipo 2 são reconhecidos em cães e gatos (KIRK et al., 1993). Nestes animais, ela é normalmente classificada em *diabetes mellitus* insulino-dependente (DMID) ou *diabetes mellitus* não insulino-dependente (DMNID) (NELSON, 2003).

Não existem estudos bem documentados que demonstrem convincentemente que o DM tipo 2 é uma doença significativa em cães. Embora a obesidade cause resistência à insulina, a mesma não é um fator de risco reconhecido para a DM canina (CATCHPOLE et al., 2005). No entanto, ela predispõe o animal a desenvolver pancreatite, responsável por 28% dos casos de DM (RAND et al., 2004).

A forma mais comumente reconhecida clinicamente no cão é a DMID. Virtualmente todos os cães e cerca de 50 a 70% dos gatos apresentam este tipo de DM (NELSON, 2003). Em gatos, a DM tipo 2 ocorre com frequência e está intimamente relacionada à obesidade (KIRK et al., 1993). Os gatos machos são mais acometidos que as fêmeas, e a doença ocorre em idade mais avançada (mais que 10 anos). A esterilização também pode ser considerada um fator de risco para esta afecção (PANCIERA et al., 1990).

1.3 Dieta para perda de peso

Aventa-se que as principais características dos alimentos destinados à perda de peso devem ser a baixa densidade energética, concentrações mais elevadas

de proteínas e fibras alimentares e o emprego de amido de assimilação lenta (CARCIOFI et al., 2005; GERMAN, 2006). Eleva-se, ainda, as concentrações de algumas vitaminas e minerais que auxiliam no metabolismo de gorduras e carboidratos. Esta recomendação geral, no entanto, carece de comprovação e estudos em diversos aspectos, especialmente quanto às concentrações nutricionais mais adequadas para serem utilizadas.

O aumento das concentrações protéicas da dieta parece ser bastante importante. O que se pretende no regime é promover um déficit calórico sem déficit protéico no animal (VASCONCELLOS et al., 2009). As proteínas são as moléculas mais abundantes nas células vivas, constituindo 50 a 75% do seu peso seco. Desempenham funções estruturais, bioquímicas, imunológicas e endócrinas (CASE et al., 1998).

Deficiência de proteína pode ocorrer tanto pela quantidade insuficiente do nutriente na dieta quanto pela deficiência de um único aminoácido (POND et al., 1995). Esta pode ocasionar perda de massa muscular, emaciação, hipoproteinemia, lipidose hepática, perda na qualidade da pelagem, prejuízo na função imunológica, infertilidade, entre outros. Deste modo, um déficit duplo, de proteínas e energia durante a perda de peso pode comprometer a saúde do animal.

A literatura apresenta diversos estudos que avaliaram diferentes dietas e protocolos para perda de peso e sua correlação com variados parâmetros bioquímicos e hormonais em cães obesos, porém quase todos induziram obesidade em condição experimental, tendo esta se estabelecido por curto período de tempo. Não foram encontrados na literatura científica trabalhos que tenham avaliado a perda de peso, composição corporal, tolerância a glicose, sensibilidade insulínica, leptinemia e concentrações de TNF α e IL-6 em cães com obesidade naturalmente adquirida e crônica. A presente proposta avaliou os efeitos da perda de peso sobre indicadores bioquímicos, metabólicos, hormonais e de composição corporal em cães domiciliados naturalmente obesos, em fase estática de obesidade há pelo menos 12 meses, o que reflete de forma mais fidedigna o que ocorre com os animais domiciliados que estão acima do peso. A

pesquisa comparou os diferentes indicadores com os de um grupo de animais em condição corporal ideal e que nunca foram obesos.

2. OBJETIVOS

2.1- Geral:

Avaliar os efeitos da perda de 20% de peso em cães obesos sobre diferentes indicadores do metabolismo dos carboidratos e respostas inflamatória e hormonal.

2.2- Específicos:

Comparar indicadores bioquímicos e hormonais de cães com obesidade pronunciada, dos mesmos cães após perda de 20% de peso corporal e de animais que nunca foram obesos, com vista a avaliar:

-As concentrações séricas de leptina plasmática, correlacionando-as com a composição corporal e com os indicadores do metabolismo dos carboidratos;

-As concentrações séricas de TNF α e IL-6, correlacionando-as com a composição corporal e com os indicadores do metabolismo dos carboidratos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais empregados neste estudo estão de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (CBEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) desta instituição (protocolo nº 017665-07).

3.1 Animais

3.1.1 Grupo obeso (G1) e grupo obeso após perda de peso (G2)

Foram utilizados 10 cães obesos, provenientes da rotina de atendimento do Serviço de Nutrição Clínica do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel - DCCV-FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal. A seleção destes animais foi feita pelo método de classificação por escore de condição corporal (ECC), descrita por LAFLAMME et al. (1997), a qual se encontra apresentada no apêndice 1. O percentual de gordura corporal foi determinado pela técnica de água corporal total por diluição de isótopos de deutério, descrita por FERRIER et al. (2001). Foram considerados obesos e utilizados no estudo animais com mais de 38% de gordura corporal e ECC = 9. Estes foram previamente avaliados, sendo para isto realizado exame físico, hemograma e perfil bioquímico sérico. As informações referentes aos animais deste grupo estão apresentadas na tabela 1. Após perda de 20% do peso corporal, estes cães passaram a compor o grupo 2 (G2). Durante todo o período experimental, os cães foram mantidos em seus domicílios, sendo manejados por seus proprietários.

Tabela 1: Informações referentes aos animais do grupo 1 (G1).

Animal	Raça	Sexo	Idade (anos)	Peso inicial (kg)	Condição sexual	ECC
1	labrador	F	6	43,60	CT	9
2	labrador	F	6	47,40	CT	9
3	srd	F	11	20,28	CT	9
4	rottweiler	F	9	50,00	CT	9
5	srd	F	8	18,45	CT	9
6	beagle	M	4	20,18	NCT	9
7	srd	F	7	11,20	CT	9
8	labrador	F	8	50,60	NCT	9
9	srd	F	10	40,40	CT	9
10	srd	M	10	17,75	CT	9

ECC= escore de condição corporal; F= fêmea; M= macho; CT: castrado (a); NCT: não-castrado (a); srd= sem raça definida.

3.1.2 Grupo controle (G3)

Este grupo foi composto por dez cães adultos, cinco machos e cinco fêmeas, beagles, não castrados, com idade entre dois e cinco anos, peso médio de 10,7kg \pm 0,25kg e ECC entre 4 e 5, que nunca foram obesos, pertencentes ao canil do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Professor Dr. Flávio Prada” da FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal. A

avaliação destes animais foi realizada apenas no início do experimento. Estes foram alimentados com dieta industrializada, categoria premium para cães em manutenção¹.

3.2 Preparação e avaliação da dieta experimental

A dieta utilizada no estudo foi produzida pela Mogiana Alimentos S.A (Guabi), Campinas - SP. Sua digestibilidade foi determinada pelo método de coleta total de fezes sem coleta de urina, segundo protocolo e procedimento de cálculo preconizados pela AAFCO (2004). O período experimental teve duração de 10 dias, sendo 5 dias de adaptação seguidos de 5 dias de coleta total de fezes e urina. Para a realização do teste utilizou-se 6 cães adultos da raça beagle, com peso médio de 12 ± 1 kg, previamente submetidos a exames clínico, sanguíneo e coproparasitológico que atestaram seu estado de saúde. Os cães foram alimentados de forma a atender suas necessidades energéticas (NRC, 2006), sendo a quantidade de alimento dividida em duas refeições, oferecidas às 8 e 17 horas. Durante o período experimental, os cães foram mantidos em gaiolas metabólicas de inox (1m x 1m x 1m) com aparato para coleta separada de fezes e urina.

As fezes foram colhidas pela manhã e a tarde, individualmente em sacos plásticos identificados, pesadas e armazenadas a -15°C . Ao término deste período, as fezes foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se uma amostra única por animal. Foram, então, secas em estufa com ventilação forçada a 55°C durante 72 horas e moídas em moinho de facas com peneira de 1mm para as análises laboratoriais. As amostras de rações foram moídas da mesma forma, antes de serem levadas para análise.

Nas amostras de ração e fezes foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo hidrólise ácida (EEA) e fibra bruta (FB) de acordo com AOAC (2004). Os extrativos não

¹ Sabor & Vida - Cães adultos (Mogiana alimentos S.A., Campinas, Brasil).

nitrogenados (ENN) foram calculados pela diferença entre a matéria seca e a soma da matéria mineral, fibra bruta, proteína bruta e extrato etéreo hidrólise ácida. A energia bruta da dieta e fezes foi determinada em bomba calorimétrica adiabática.

Determinou-se a qualidade fecal por meio do escore, no momento da colheita das fezes. Foram atribuídas notas de 0 a 5, sendo: 0 = fezes líquidas; 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3 = fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4 = fezes bem formadas e consistentes e que não aderem ao piso; 5 = fezes bem formadas, duras e secas (CARCIOFI et al., 2008). A composição química da dieta, os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes, energia metabolizável e escore fecal médio encontram-se apresentados nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2: Composição química da dieta hipocalórica experimental¹.

Nutriente	% sobre a matéria seca
Umidade	3,74
Proteína bruta	32,0
Extrato etéreo em hidrólise ácida	9,54
Extrativos não-nitrogenados	37,04
Fibra bruta	9,25
Matéria mineral	8,43

¹- Ingredientes: farinha de vísceras de frango, farelo de glúten de milho, farinha de peixe, quirera de arroz moída, casca de soja moída, fígado em pó, celulose microcristalina, lentilha, clara de ovo em pó, sorgo integral moído, ovo integral em pó, gordura de frango, sal, cloreto de potássio, premix vitamínico-mineral e antioxidante.

Tabela 3: Coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes, energia metabolizável e escore fecal dos cães mediante o consumo da dieta hipocalórica experimental (média ± erro padrão da média).

Item	
<i>Coeficiente de digestibilidade</i>	
Matéria seca (%)	68,97 ± 0,84
Matéria orgânica (%)	72,28 ± 0,79
Proteína bruta (%)	85,53 ± 0,71
Extrato etéreo (%)	86,67 ± 0,51
Extrativos não nitrogenados (%)	75,81 ± 1,13
Energia metabolizável (kcal/100g)	278 ± 0,02
Escore fecal	3,8 ± 0,75

3.3 Protocolo experimental

Os cães foram submetidos à protocolo de perda de peso previamente testado (CARCIOFI et al., 2005). A restrição energética empregada nos cães submetidos ao programa de perda de peso foi estimada pela seguinte fórmula:

$$NE = (PM)^{0,75} \times 75 \text{ kcal}$$

Onde:

NE = necessidade energética diária, em kcal por dia;

PM = peso meta, calculado como o peso corporal atual menos 20%.

A quantidade diária de alimento fornecido para cada animal foi determinada considerando-se a energia metabolizável encontrada para a dieta experimental e as necessidades energéticas para emagrecimento de cada cão. O alimento foi oferecido duas vezes ao dia pelos proprietários, mediante pote medida fornecido para o estudo. Os animais foram pesados a cada 15 ou 20 dias, conforme a

disponibilidade dos proprietários, para acompanhamento da perda de peso e realização de possíveis ajustes, caso fossem necessários. Também foram incluídas no protocolo de perda de peso caminhadas diárias de 30 minutos, conforme a disponibilidade de tempo dos proprietários. Assim que os animais perderam 20% do peso inicial, passaram a integrar o grupo 2 (G2).

À medida que os cães atingiram o peso corporal ideal calculado, foram retirados do programa de perda de peso e reavaliados. As avaliações realizadas nos animais encontram-se no Quadro 1.

Quadro 1. Parâmetros avaliados no experimento.

Exames/ Grupos	Hemograma	FA, ALT, AST, Uréia, Creatinina, Bilirrubina, PT total, Albumina	Colesterol total, HDL, Triglicerídeos totais	Teste intravenoso de tolerância a glicose, Reposta glicêmica pós- prandial	Leptina, TNF-α, IL-6 e IL-2	Composição corporal
Início (G1 e G3)	X	X	X	X	X	X
20% perda peso (G2)	X	X	X	X	X	x

FA= fosfatase alcalina; ALT= alanino aminotransferase; AST= aspartato aminotransferase; PT= proteína;

3.4 Hemograma e dosagens bioquímicas séricas, enzimáticas e hormonais

Foram colhidas amostras de aproximadamente 10 mL de sangue venoso dos animais, diretamente da veia jugular. Exceto para a realização do hemograma, para o qual uma alíquota de 1 mL de sangue foi colocada em tubo de ensaio contendo EDTA como anti-coagulante, todos os demais exames foram realizados a partir de amostras de soro sanguíneo dos cães. As colheitas foram realizadas com os animais em jejum de 12 horas.

3.5 Teste intravenoso de tolerância à glicose (TIVTG) e resposta insulínica

Para a execução destas avaliações, os animais tiveram a veia cefálica do antebraço canulada com cateter venoso periférico, momentos antes ao início do teste. Após jejum de 12 horas, uma solução de glicose a 50% foi injetada via intravascular na dose de 500 miligramas por quilograma de peso corporal, infundida em aproximadamente 1 minuto, seguida de lavagem do cateter com solução salina estéril a 0,9%. Nos tempos zero (antes da infusão de glicose) e 1; 2,5; 5; 7,5; 10; 15; 30; 45; 60; 90 e 120 minutos após a infusão foram colhidas alíquotas de 0,5mL de sangue em tubos contendo EDTA fluoretado para a determinação da glicemia e 1,5mL para a determinação da concentração sérica de insulina. Este procedimento baseou-se na metodologia empregada por Nelson et al. (1990) e Appleton et al. (2001).

A determinação da glicose sanguínea foi realizada pelo sistema enzimático “GOD - ANA” para analisador semi-automático, utilizando “kits da LABTEST[®]”² no

² LABQUEST, Labtest Diagnóstico S.A

Laboratório de Clínica Experimental do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal. As amostras de soro para dosagem de insulina foram congeladas imediatamente após a coleta e extração, a -20°C . Estas foram dosadas por radioimunoensaio, utilizando “kits Coat a Count” com anticorpo específico para cães e o I^{125} como hormônio traçador, seguindo as recomendações do fabricante^{®3}, no Laboratório de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Campus de Ribeirão Preto. Para o conhecimento da variabilidade do método, realizou-se um intra-ensaio empregando-se uma amostra controle e cinco repetições, obtendo-se um coeficiente de variação de 3,45%.

3.6 Resposta pós-prandial de glicose e insulina

Para a execução destas avaliações, no dia seguinte ao TIVTG, os animais tiveram a veia cefálica do antebraço canulada com cateter venoso periférico. Após jejum alimentar de 12 horas, foram colhidas amostras (2mL) de sangue para a determinação da glicemia e insulinemia basais. Imediatamente após este procedimento, os animais foram expostos por um período de 15 minutos a uma quantidade de arroz cozido que equivalesse a dose de 6g de amido por kg de peso corporal, segundo metodologia descrita por Carciofi et al. (2008). As amostras de sangue foram colhidas nos tempos zero (antes) e aos 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 300 e 360 minutos após o consumo total do alimento. Os procedimentos de colheita, processamento e análises laboratoriais das amostras foram os mesmos do item 3.5.

3.7 Dosagem de leptina

³ DPC- Diagnostic Products Corporation Los Angeles, CA

Após jejum alimentar de 12 horas, coletaram-se 3mL de sangue dos cães para a dosagem de leptina. Após a colheita das amostras, procedeu-se e a separação do soro e estes foram congeladas a -20°C. A leptina foi dosada em amostras de soro por radioimunoensaio, utilizando se kits multiespécies (leptin RIA, Linco Resarch Incorporation). Este kit foi desenvolvido para a dosagem de leptina em várias espécies animais e o seu uso em cães foi validado por Iwase et al. (2000). O coeficiente de variação do método foi de 5,53%. Estas análises foram conduzidas no Laboratório de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Campus de Ribeirão Preto, no final do estudo.

3.8 Quantificação das citocinas TNF α e IL-6

Após jejum alimentar de 12 horas, coletaram-se 3mL de sangue dos cães. Após a colheita das amostras, procedeu-se a separação do soro e estas foram congeladas a -20°C. As citocinas TNF- α e IL-6 foram dosadas pelo painel de citocinas MILLIPLEX™MAP (CCYTO-90K, MILLIPORE, Billerica, Massachusetts, EUA), validada para cães. As amostras e padrões foram incubados com as microesferas acopladas a um anticorpo específico. Após lavagem, adicionou-se o anticorpo biotilado de detecção. Então, realizou-se a incubação com estreptavidina-PE. As amostras foram lidas no sistema de *array* líquido – MILLIplex (Luminex 200, Luminex Corporation, St. Charles, Missouri, EUA). Os coeficientes de variação do intra e inter-ensaio, fornecidos pelo fabricante, foram respectivamente de 11,8% e 19,1% para TNF α , 3,7% e 16,0% para IL-6. As análises foram conduzidas no laboratório técnico da Gênese, São Paulo – SP.

3.9 Composição corporal

A composição corporal foi determinada pelo método de diluição de isótopos de deutério. Os animais ficaram em jejum alimentar por 12 horas e hídrico por duas horas antes do início desta avaliação. No dia anterior a realização deste teste, preparou-se uma solução constituída por deutério ($^2\text{H}_2\text{O}^4$) e solução fisiológica em concentração de 10%. Foi injetado 1mL por kg de peso corporal desta solução por via subcutânea. Amostras de sangue (8mL) foram coletadas da veia jugular nos tempos 10 minutos antes e 4 horas após à injeção de $^2\text{H}_2\text{O}$. Estas foram processadas para extração de soro e armazenadas a -20°C em tubos coletores de plástico, com tampa rosqueável, vedados com parafilme. As análises foram realizadas no Laboratório de Espectrometria de Massa da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, seguindo a metodologia descrita por Ferrier et al. (2001). Após a quantificação da água corpórea, procedeu-se os cálculos de massa gorda e massa magra corpórea.

3.10 Procedimentos de cálculos e análise estatística dos resultados

No TIVTG, para cada animal, foram analisadas as concentrações basais de glicose e insulina, suas concentrações ao longo do tempo, o tempo em minutos necessário para que a concentração da glicose caísse pela metade na corrente sangüínea ($T_{1/2}$), o coeficiente de desaparecimento da glicose por minuto (K), o pico de resposta da insulina (PRI), a área abaixo da curva de insulina e glicose, o incremento de insulina (ΔI) e glicose (ΔG), a área abaixo da curva do incremento de insulina e glicose e o índice insulinogênico ($\Delta I/\Delta G$). Os incrementos de glicose e insulina foram calculados subtraíndo-se o valor basal de cada animal dos demais valores observados durante os 120 minutos de teste. As áreas abaixo da curva (AAC) foram calculadas para o intervalo total, que compreendeu os 120 minutos de teste, dos 0 aos 7,5 minutos (AAC 0-7,5); dos 0 aos 15 minutos (AAC 0-15), dos 0 aos 45 minutos (AAC 0-45), dos 0 aos 60 minutos (AAC 0-60) e dos 60 aos 120 minutos (AAC 60-120) após a infusão de glicose. Essa divisão teve

⁴ 9,9% $2\text{H}/\text{H}$, Leman, Saint-Quentin-em-Yvelines, França

como intuito facilitar a observação de respostas imediatas e tardias nos diferentes grupos experimentais. As AAC foram calculadas por meio de integrações numéricas pelo método trapezoidal. Os resultados foram obtidos utilizando-se o programa Prisma (2005). O valor de K foi calculado a partir das concentrações de glicose sangüínea obtidas entre os tempos 15 e 45 minutos. Esse intervalo foi escolhido porque o padrão da curva glicêmica ao longo desse intervalo apresentou um comportamento mais retilíneo quando comparados aos demais intervalos de tempo. Regressões lineares entre os diversos intervalos de tempo foram realizadas para se verificar em qual deles a curva glicêmica apresentava-se mais retilínea. O cálculo do índice insulínogênico ($\Delta I/\Delta G$) de cada animal foi realizado dividindo-se o maior valor do incremento de insulina (ΔI) pelo maior valor do incremento de glicose (ΔG) (KANEKO, 1997). O cálculo de K foi obtido a partir da seguinte fórmula (KANEKO, 1997):

$$K = \frac{\ln T_1 - \ln T_2}{T_2 - T_1} \times 100 \text{ (\% por minuto)}$$

Onde:

K= Porcentagem de desaparecimento da glicose em minutos

T1 e T2= Correspondem ao intervalo de tempo escolhido

LnT1= Log Neperiano da concentração de glicose no Tempo 1

LnT2= Log Neperiano da concentração de glicose no Tempo 2

O valor de $T_{1/2}$ foi calculado a partir do valor de K, de acordo com a seguinte relação (KANEKO, 1997):

$$T_{1/2} = 0,693 / K \times 100 \text{ (minutos)}$$

Onde:

$T_{1/2}$ = O tempo em minutos necessário para que a concentração da glicose caia pela metade na corrente sangüínea; K = valor de k calculado para o animal.

As respostas pós-prandial de glicose e insulina de todos os animais foram calculadas e comparadas quantos aos valores absolutos e respectivos

incrementos em cada tempo de observação. Foram calculadas as áreas abaixo da curva (AAC) para o intervalo total, que compreendeu os 360 minutos de teste (AAC 0-360), dos 0 aos 60 minutos (AAC 0-60); dos 0 aos 120 minutos (AAC 0-120), dos 0 aos 240 minutos (AAC 0-240), dos 60 aos 120 minutos (AAC 60-120), dos 60 aos 240 minutos (AAC 60-240) e dos 60 aos 360 minutos (AAC 60-360) após o consumo do arroz. As AAC foram calculadas por meio de integrações numéricas pelo método trapezoidal. Os resultados foram obtidos utilizando o programa Prisma (2005).

Para a análise estatística, comparações entre grupos foram previamente estabelecidas. Foram comparados G1 versus G2; G1 versus G3 e G2 versus G3. Estas foram realizadas pelo teste t-Student, para as variáveis que atenderam as suposições de normalidade dos dados. As variáveis que não atenderam esta suposição foram analisadas pelo teste não paramétrico de Wilcoxon. Para a comparação de G1 versus G2 (cães obesos versus os mesmos cães após emagrecimento) foi utilizado o teste t-Student para dados pareados. Quando as comparações foram efetuadas entre G1 versus G3 e G2 versus G3 (cães obesos versus cães controle e cães que emagreceram versus cães controle), foi utilizado o teste t-Student para dados não pareados. Valores de $p < 0,05$ foram considerados como significantes (ZAR, 1999). A concentração de glicose sangüínea, incremento de glicose, insulina sérica e incremento de insulina em cada um dos tempos da curva foram analisados por meio de análise de variância de medidas repetidas no tempo. Adotou-se um fator grupo com três níveis entre os animais e um fator tempo com 11 níveis dentro dos animais, com 10 animais em cada grupo. As comparações múltiplas foram feitas pelo teste de Tukey e valores de $p < 0,05$ foram considerados como significantes (ZAR, 1999). A relação entre porcentagem de massa gorda dos cães e os diversos parâmetros estudados foi estabelecida por meio da Correlação de Pearson, estabelecidas sobre os resíduos das variáveis. Os resultados foram obtidos utilizando-se o programa SAS, sendo todas as variáveis previamente testadas quanto à normalidade do resíduo pelo método de Shapiro- Wilk (SCHLOTZHAUER e LITTELL, 1997).

4 - RESULTADOS

4.1 Composição química e digestibilidade da dieta experimental

O alimento apresentou composição química compatível para uso em protocolos de perda de peso (Tabela 2). Os coeficientes de digestibilidade do alimento foram adequados, a energia metabolizável baixa e as fezes produzidas pelos cães de boa consistência (Tabela 3).

4.2 Hemograma e dosagens bioquímicas séricas

Os resultados dos exames hematológicos (G1 e G2) e bioquímicos realizados nos animais dos três grupos experimentais estão apresentados nos apêndices 2 e 3. Os valores de referência adotados foram os descritos por KANEKO (1997).

4.3 Composição Corporal

Os animais selecionados para compor o G1 apresentaram escore corporal 9 (em escala de 1 a 9 pontos) no momento da avaliação, indicando obesidade pronunciada (Figura 1). Ao exame de composição corporal, a porcentagem de massa gorda média foi superior a 45%. Esses animais estavam com excesso de peso há no mínimo menos 12 meses, segundo registro de peso informado pelos proprietários. A dieta e manejo empregados resultaram em taxa de perda de peso semanal de $0,70 \pm 0,05\%$ e os cães atingiram 22% de redução do peso em $30 \pm 2,50$ semanas. Houve redução da massa gorda em quilogramas ($p < 0,001$) e manutenção da massa magra em quilogramas ($p > 0,05$) na comparação entre G1 e G2, resultando em alterações na composição corporal. Mesmo com o

emagrecimento, G2 ainda apresentou importante porcentagem de massa gorda, havendo diferenças na composição corporal entre G2 e G3 ($p < 0,001$).

Os valores de massa gorda e massa magra dos grupos estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Peso, escore de condição corporal e composição corporal dos cães dos três grupos experimentais.

Item	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
Peso (kg)	33,48±4,72 ^A	26,86±3,95 ^B	10,74±0,46 ^C
ECC ¹	9,0±0,00 ^A	8,1±0,27 ^A	4,6±0,16 ^B
MG (%)	45,72±1,51 ^A	33,53±1,92 ^B	18,17±1,83 ^C
MM (%)	54,27±1,51 ^A	66,43±1,92 ^B	81,63±1,83 ^C
MG (kg)	15,31±2,40 ^A	8,59±1,52 ^B	1,96±0,21 ^C
MM (kg)	18,17±2,98 ^A	18,27±3,46 ^A	8,78±0,44 ^B

¹- ECC = escore de condição corporal (Laflamme et al., 1997).

A, B, C - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste t-Student ($p < 0,05$), sendo teste t-pareado para G1 vs G2 e teste t para amostras independentes para G1 vs G3 e G2 vs G3.



Figura 1: Animais do G1 classificados como escore de condição corporal 9 e obesidade pronunciada.

4.4 Teste intravenoso de tolerância à glicose (TIVTG) e resposta insulínica

Durante o TIVTG foram avaliados os seguintes indicadores sanguíneos: concentrações basais de glicose e insulina e suas concentrações ao longo do tempo; tempo em minutos necessário para que a concentração da glicose caísse pela metade na corrente sanguínea ($T_{1/2}$); coeficiente de desaparecimento da glicose por minuto (K); pico de resposta insulínica (PRI); área abaixo da curva de insulina e glicose (AACIns; AACG); incremento de insulina (ΔI) e glicose (ΔG), área abaixo da curva do incremento de insulina e glicose (AACInIns; AACIG) e o índice insulínico ($\Delta I/\Delta G$). Os resultados obtidos no presente estudo estão apresentados nas tabelas 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14 e ilustrados nas Figuras 2, 3, 4 e 5.

Tabela 5: Concentração de glicose (média \pm erro padrão) mensurada durante o teste intravenoso de tolerância à glicose de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3).

Tempo (minutos)	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
Glicose sanguínea (mg/dL)			
0	75,86 \pm 4,84 ^{Aa}	73,75 \pm 2,63 ^{Aa}	74,82 \pm 2,84 ^{Aa}
1	539,25 \pm 32,02 ^{Ab}	483,82 \pm 57,42 ^{Ab}	372,88 \pm 28,72 ^{Bb}
2,5	448,35 \pm 40,09 ^{Ab}	332,49 \pm 36,84 ^{Ab}	298,27 \pm 36,17 ^{Bb}
5,0	398,83 \pm 45,48 ^{Ab}	278,73 \pm 33,92 ^{Ab}	227,47 \pm 13,51 ^{Bb}
7,5	285,38 \pm 18,38 ^{Ab}	256,55 \pm 33,24 ^{Ab}	207,77 \pm 9,37 ^{Ab}
10	267,01 \pm 16,16 ^{Ab}	218,82 \pm 23,74 ^{Ab}	197,00 \pm 8,74 ^{Ab}
15	238,62 \pm 19,68 ^{Ab}	226,19 \pm 23,95 ^{Ab}	160,43 \pm 7,37 ^{Aa}
30	150,28 \pm 12,72 ^{Aa}	167,12 \pm 16,02 ^{Ab}	91,33 \pm 8,02 ^{Aa}
45	87,28 \pm 8,30 ^{Aa}	92,39 \pm 6,90 ^{Aa}	75,76 \pm 2,97 ^{Aa}
60	78,78 \pm 6,37 ^{Aa}	72,90 \pm 7,36 ^{Aa}	84,97 \pm 10,39 ^{Aa}
90	78,88 \pm 4,62 ^{Aa}	62,69 \pm 4,92 ^{Aa}	83,12 \pm 3,77 ^{Aa}
120	72,84 \pm 4,58 ^{Aa}	66,31 \pm 5,63 ^{Aa}	83,78 \pm 2,78 ^{Aa}

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

^{a, b} - Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

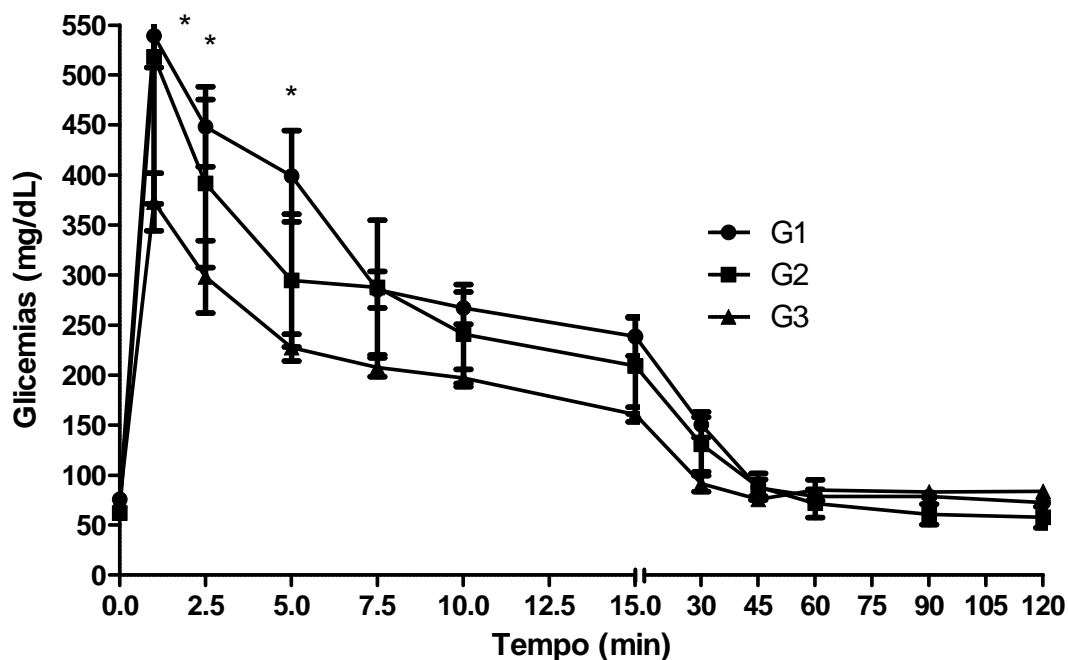


Figura 2: Curva glicêmica de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste intravenoso de tolerância à glicose (média \pm erro padrão). * Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$).

A interação entre tempo e tratamento (grupo experimental) foi significativa para a glicemia ($p < 0,01$), sendo diferentes os grupos G1 x G3 e G2 x G3. A glicemia basal dos cães (tempo 0) não diferiu entre os tratamentos avaliados ($p > 0,05$). O pico glicêmico nos três grupos experimentais foi observado logo no primeiro minuto após a infusão de glicose. Nos tempos 1 minuto, 2,5 minutos e 5,0 minutos, os valores de glicemia foram estatisticamente menores para G3 em relação à G1 e G2. A partir do tempo 15 minutos para G3 e 30 minutos para G1 e G2 a glicemia já havia retornado aos valores basais. Os resultados das AAC da glicemia estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6: Áreas abaixo da curva da glicose (AACG) sanguínea de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste intravenoso de tolerância à glicose.

Intervalo	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
	AACG (mg/dL/min)		
0-120 min	15505,36±711,33 ^A	14042,80±1031,26 ^{AB}	12700,00±413,20 ^B
0-7,5 min	3007,90±218,86 ^A	2427,36±276,27 ^{AB}	1928,50±116,61 ^B
0-15 min	4920,36±240,09 ^A	4140,20±417,23 ^{AB}	3328,00±151,92 ^B
0-45 min	9618,81±510,84 ^A	8917,20±716,70 ^{AB}	6469,60±182,06 ^B
0-60 min	10864,18±571,65 ^A	10128,20±768,83 ^{AB}	7675,20±229,284 ^B
60-120 min	4640,90±267,59 ^A	3932,20±319,35 ^{AB}	5025,30±228,29 ^A

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste t-Student ($p < 0,05$), sendo teste t-pareado para G1 vs G2 e teste t para amostras independentes para G1 vs G3 e G2 vs G3.

O grupo G3 apresentou menor AAC da glicose do que G1 e G2 em todos os períodos avaliados ($p < 0,05$), com exceção do intervalo 60-120 minutos ($p = 0,289$). Os maiores valores de AAC observados em G1 demonstram maior glicemia nos obesos e nos animais emagrecidos. Os incrementos de glicose obtidos a partir do TIVTG para cada grupo experimental estão apresentados na Tabela 7 e ilustrados na Figura 3.

A análise do incremento não revelou diferenças estatísticas entre grupos ($p > 0,05$), apenas entre tempos para um mesmo grupo ($p < 0,05$). As AAC do incremento de glicose no TIVTG encontram-se na Tabela 8.

Tabela 7: Incrementos de glicose sanguínea (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidos durante o teste intravenoso de tolerância à glicose.

Tempo (minutos)	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
Incrementos de glicose sanguínea (mg/dL)			
0	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}
1	463,40 \pm 34,34 ^{Ab}	426,07 \pm 55,06 ^{Ab}	306,67 \pm 28,71 ^{Ab}
2,5	372,50 \pm 42,30 ^{Ab}	271,74 \pm 34,78 ^{Ab}	223,44 \pm 37,18 ^{Ab}
5,0	322,97 \pm 45,67 ^{Ab}	218,04 \pm 30,67 ^{Ab}	152,65 \pm 12,90 ^{Ab}
7,5	183,58 \pm 32,31 ^{Ab}	195,80 \pm 31,54 ^{Ab}	132,94 \pm 8,47 ^{Aa}
10	191,16 \pm 14,72 ^{Ab}	158,07 \pm 21,38 ^{Aa}	122,18 \pm 7,50 ^{Aa}
15	162,77 \pm 17,90 ^{Ab}	165,44 \pm 22,33 ^{Ab}	85,60 \pm 6,41 ^{Aa}
30	74,43 \pm 13,55 ^{Aa}	106,37 \pm 14,14 ^{Aa}	16,51 \pm 7,94 ^{Aa}
45	11,42 \pm 9,25 ^{Aa}	31,65 \pm 6,15 ^{Aa}	0,94 \pm 3,08 ^{Aa}
60	2,93 \pm 6,74 ^{Aa}	12,15 \pm 6,78 ^{Aa}	10,15 \pm 9,44 ^{Aa}
90	3,03 \pm 5,16 ^{Aa}	1,94 \pm 4,20 ^{Aa}	8,30 \pm 4,09 ^{Aa}
120	-3,01 \pm 4,03 ^{Aa}	5,56 \pm 4,51 ^{Aa}	8,96 \pm 3,11 ^{Aa}

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

^{a, b} - Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 8: Áreas abaixo da curva do incremento de glicose (AACIG) sanguínea dos cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste intravenoso de tolerância à glicose.

Intervalo	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
	AACIG (mg/dL/min)		
0-120 min	7269,22±707,73 ^A	6696,00±957,74 ^{AB}	3998,50±274,39 ^B
0-7,5 min	2221,11±145,07 ^A	1690,95±292,49 ^{AB}	1377,93±113,41 ^B
0-15 min	3635,56±249,50 ^A	3111,00±358,58 ^{AB}	2216,10±143,70 ^B
0-45 min	6246,67±579,01 ^A	6184,60±592,19 ^{AB}	3150,90±150,38 ^B
0-60 min	6457,67±579,66 ^A	6560,80±623,08 ^{AB}	3246,60±156,20 ^B
60-120 min	7319,78±735,30 ^A	3932,20±319,35 ^{AB}	3815,30±235,04 ^B

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste t-Student ($p < 0,05$), sendo teste t-pareado para G1 vs G2 e teste t para amostras independentes para G1 vs G3 e G2 vs G3.

As AAC do incremento de glicose também demonstraram menores valores para G3 em relação a G1 ($p < 0,05$), apresentando em geral o grupo G2 valores intermediários.

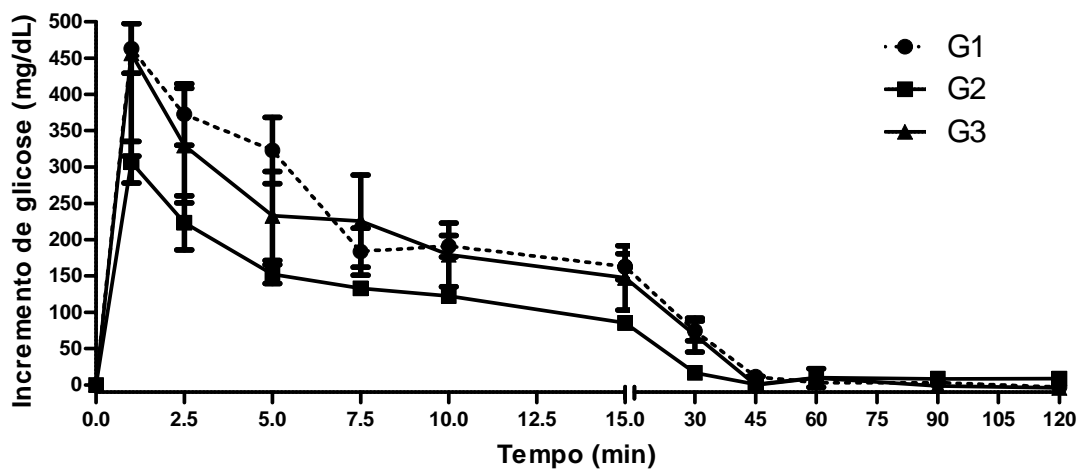


Figura 3: Curva do incremento de glicose dos cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtida durante o teste intravenoso de tolerância à glicose (média \pm erro padrão).

Na tabela 9 estão apresentados os valores de insulina sérica encontrados durante o teste intravenoso de tolerância à glicose para os três grupos experimentais. Estes resultados estão ilustrados na figura 4. Houve interação entre grupo e tempo ($p < 0,01$). Os valores de insulina diferiram entre grupos em seu valor basal, sendo menores para G2 e G3 em relação a G1 e nos tempos 15 e 30 minutos, menores para G3 em comparação a G1 e G2 ($p < 0,05$).

Tabela 9: Concentração de insulina (média \pm erro padrão) mensurada durante o teste intravenoso de tolerância à glicose em cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3).

Tempo (minutos)	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
	Insulina sérica (μUI/dL)		
0	4,26 \pm 1,10 ^A	1,93 \pm 1,13 ^B	1,48 \pm 0,86 ^B
1	45,16 \pm 14,15 ^{Ab}	33,9 \pm 15,06 ^{Aa}	48,14 \pm 17,63 ^{Ab}
2,5	47,95 \pm 38,80 ^{Ab}	32,5 \pm 14,18 ^{Aa}	43,40 \pm 14,73 ^{Ab}
5,0	48,15 \pm 5,2 ^{Ab}	33,3 \pm 9,87 ^{Aa}	40,04 \pm 12,86 ^{Ab}
7,5	53,01 \pm 7,85 ^{Ab}	40,1 \pm 13,66 ^{Aa}	41,43 \pm 16,27 ^{Ab}
10	69,52 \pm 12,59 ^{Ab}	45,1 \pm 14,60 ^{Aa}	40,17 \pm 12,64 ^{Ab}
15	84,07 \pm 15,53 ^{Ab}	52,5 \pm 23,57 ^{Aa}	36,36 \pm 10,49 ^{Ba}
30	41,57 \pm 8,57 ^{Aa}	32,2 \pm 23,25 ^{Aa}	2,51 \pm 0,72 ^{Ba}
45	6,58 \pm 1,79 ^{Aa}	8,1 \pm 4,63 ^{Aa}	1,61 \pm 0,66 ^{Aa}
60	3,74 \pm 1,50 ^{Aa}	3,1 \pm 1,63 ^{Aa}	1,30 \pm 0,62 ^{Aa}
90	3,33 \pm 1,77 ^{Aa}	1,5 \pm 0,77 ^{Aa}	1,62 \pm 0,63 ^{Aa}
120	2,77 \pm 1,37 ^{Aa}	0,90 \pm 0,3 ^{Aa}	1,16 \pm 0,63 ^{Aa}

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

^{a, b} - Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

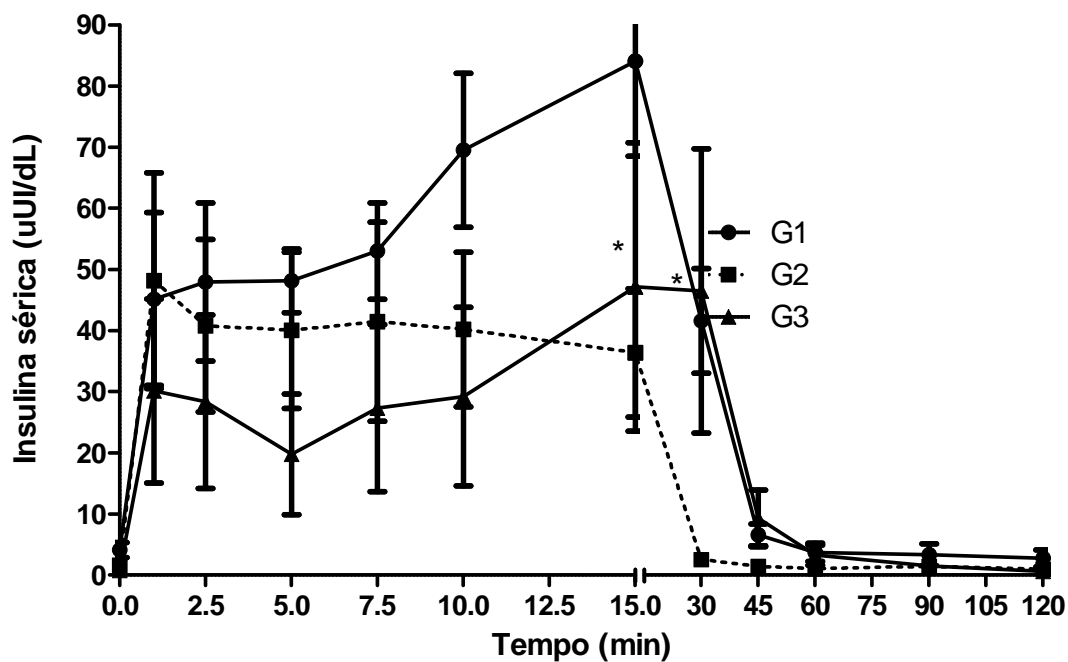


Figura 4: Concentrações séricas de insulina de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste intravenoso de tolerância à glicose (média \pm erro padrão). *Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$).

Na tabela 10 estão apresentados os valores da AAC da insulina. A secreção inicial de insulina foi maior para G1 em relação a G3, demonstrada pela maior AAC de insulina até os 60 minutos ($p < 0,05$). A secreção tardia (AAC 60-120) e total (AAC 0-120), no entanto, foram semelhantes entre grupos.

Tabela 10: Áreas abaixo da curva da insulina sérica (AACIns) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste intravenoso de tolerância à glicose.

Intervalo	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
	AACIns (μ UI/dL/min)		
0-120 min	2163,30 \pm 515,48 ^A	2267,22 \pm 354,44 ^A	999,73 \pm 320,38 ^A
0-7,5 min	341,11 \pm 63,27 ^A	310,18 \pm 58,31 ^A	294,50 \pm 101,53 ^A
0-15 min	878,28 \pm 153,93 ^A	816,44 \pm 147,18 ^{AB}	587,96 \pm 192,33 ^B
0-45 min	2182,00 \pm 350,56 ^A	2017,62 \pm 333,66 ^{AB}	909,23 \pm 282,63 ^B
0-60 min	2259,44 \pm 363,28 ^A	2074,11 \pm 330,78 ^{AB}	927,47 \pm 290,12 ^B
60-120 min	197,93 \pm 95,60 ^A	120,22 \pm 354,44 ^A	72,22 \pm 34,85 ^A

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste t-Student ($p < 0,05$), sendo teste t-pareado para G1 vs G2 e teste t para amostras independentes para G1 vs G3 e G2 vs G3.

Na tabela 11 estão apresentados os incrementos de insulina obtidos durante o TIVTG para cada grupo experimental. Estes dados estão ilustrados na Figura 5. De maneira geral, a análise estatística do incremento de insulina resultou semelhante ao verificado para insulina.

Tabela 11: Incremento da insulina sérica (média \pm erro padrão) mensurada durante o teste intravenoso de tolerância à glicose em cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3).

Tempo (minutos)	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
Incremento da insulina sérica (μUI/dL)			
0	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}
1	44,24 \pm 13,36 ^{Ab}	25,17 \pm 7,02 ^{Aa}	46,50 \pm 16,89 ^{Ab}
2,5	45,80 \pm 12,31 ^{Ab}	28,55 \pm 9,98 ^{Aa}	39,16 \pm 13,25 ^{Ab}
5,0	46,36 \pm 4,74 ^{Ab}	30,19 \pm 6,91 ^{Aa}	38,40 \pm 11,99 ^{Ab}
7,5	50,59 \pm 7,49 ^{Ab}	37,45 \pm 9,36 ^{Aa}	39,79 \pm 15,46 ^{Ab}
10	68,84 \pm 12,28 ^{Ab}	43,13 \pm 9,91 ^{Aa}	38,54 \pm 11,90 ^{Ab}
15	83,69 \pm 15,23 ^{Ab}	48,21 \pm 16,43 ^{Aa}	34,73 \pm 9,92 ^{Ba}
30	37,66 \pm 8,84 ^{Aa}	30,47 \pm 16,03 ^{Aa}	0,88 \pm 0,63 ^{Aa}
45	0,59 \pm 2,38 ^{Aa}	8,78 \pm 3,60 ^{Aa}	-0,21 \pm 0,46 ^{Aa}
60	-0,65 \pm 1,53 ^{Aa}	2,41 \pm 1,26 ^{Aa}	-0,63 \pm 0,44 ^{Aa}
90	-1,20 \pm 1,70 ^{Aa}	0,41 \pm 0,68 ^{Aa}	-0,19 \pm 0,49 ^{Aa}
120	-1,74 \pm 1,55 ^{Aa}	-0,03 \pm 0,20 ^{Aa}	-0,73 \pm 0,52 ^{Aa}

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

^{a, b} - Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

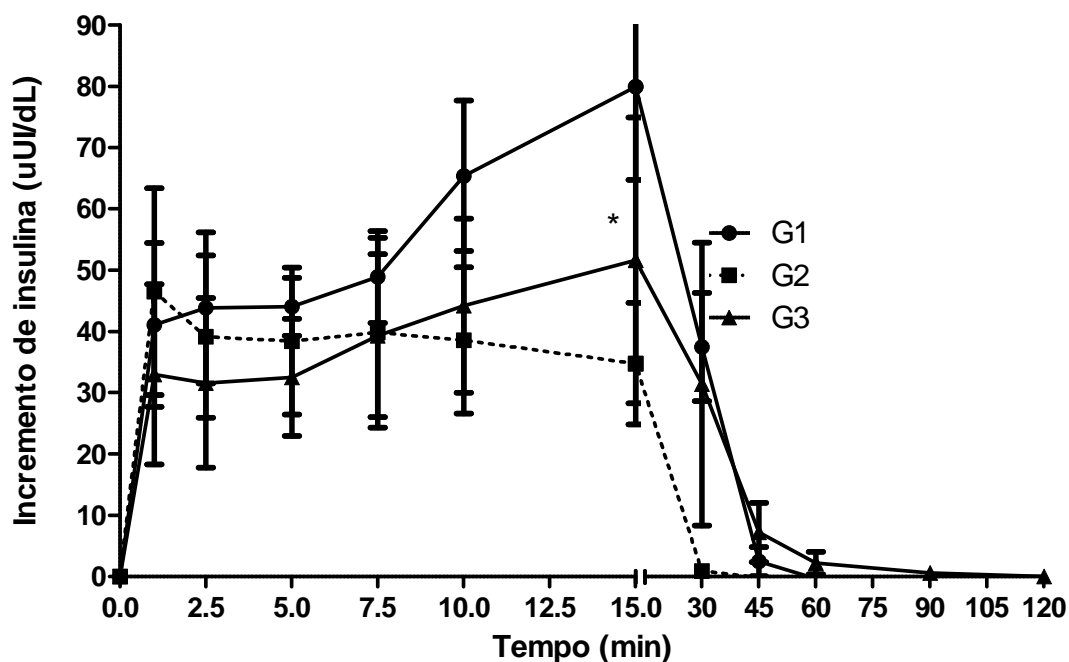


Figura 5: Curva do incremento de insulina de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtida durante o teste intravenoso de tolerância à glicose (média \pm erro padrão).

Na tabela 12 estão apresentadas as AAC dos incrementos de insulina obtidos durante o TIVTG. Verificou-se maior secreção total de insulina pelo grupo G1 em relação ao G3 ($p < 0,05$). Apenas a secreção inicial de insulina (AAC 0-7,5) não variou, sendo todas as demais AAC do incremento de insulina maiores para G1 em relação a G3 ($p < 0,05$).

Tabela 12: Áreas abaixo da curva do incremento de insulina sérica (AACInIns) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste intravenoso de tolerância à glicose.

Intervalo	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
	AACInIns (μ UI/dL/min)		
0-120 min	2267,22 \pm 354,44 ^A	1580,62 \pm 518,41 ^{AB}	922,21 \pm 272,62 ^B
0-7,5 min	310,17 \pm 58,51 ^A	210,85 \pm 63,41 ^A	282,20 \pm 95,48 ^A
0-15 min	816,44 \pm 147,18 ^A	539,81 ^A \pm 150,94 ^B	563,35 \pm 180,73 ^B
0-45 min	2017,62 \pm 333,66 ^A	1425,56 \pm 513,65 ^{AB}	849,13 \pm 255,81 ^B
0-60 min	2074,11 \pm 330,78 ^A	1511,82 \pm 519,09 ^{AB}	862,53 \pm 258,87 ^B
60-120 min	1340,22 \pm 354,44 ^A	689,36 \pm 40,45 ^B	922,21 \pm 272,62 ^B

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste t-Student ($p < 0,05$), sendo teste t-pareado para G1 vs G2 e teste t para amostras independentes para G1 vs G3 e G2 vs G3.

Nas tabelas 13 e 14 estão apresentados os índices referentes à interpretação do TIVTG e os valores de leptina. Maiores valores de glicemia máxima, média e diferença mínima-máxima, bem como de leptina, foram verificados para G1 em relação a G3 ($p < 0,05$), apresentando G2 valores intermediários ($p > 0,05$). Em relação à leptina, no entanto, G2 também foi diferente de G1 ($p < 0,05$).

Tabela 13: Valores (média \pm erro padrão) de glicemia basal, insulina basal, glicemia mínima, glicemia máxima, glicemia média, diferença entre a glicemia máxima e mínima e concentração de leptina basal de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidos durante o teste intravenoso de tolerância à glicose.

Parâmetro	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
Glicemia basal (mg/dL)	75,34 \pm 4,98 ^A	65,26 \pm 5,63 ^A	74,82 \pm 2,84 ^A
Insulina basal (μ UI/dL)	4,26 \pm 1,10 ^A	1,93 \pm 1,13 ^B	1,48 \pm 0,86 ^B
Glicemia mínima (mg/dL)	64,82 \pm 5,69 ^A	52,48 \pm 7,60 ^A	68,87 \pm 2,38 ^A
Glicemia máxima (mg/dL)	518,20 \pm 26,04 ^A	541,14 \pm 130,60 ^{AB}	398,33 \pm 28,64 ^B
Glicemia média (mg/dL)	219,15 \pm 10,84 ^A	189,31 \pm 34,83 ^{AB}	163,13 \pm 5,92 ^B
Dif máx-min (mg/dL)	453,37 \pm 29,22 ^A	488,66 \pm 127,51 ^{AB}	329,46 \pm 29,72 ^B
Leptina (pg/mL)	12,76 \pm 1,20 ^A	2,86 \pm 0,45 ^B	3,16 \pm 1,11 ^B

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste t-Student ($p < 0,05$), sendo teste t-pareado para G1 vs G2 e teste t para amostras independentes (G1 vs G3 e G2 vs G3)..

Os resultados de K, T1/2, $\Delta I/\Delta G$, PRI e PIT não apresentaram distribuição normal ($p < 0,05$) sendo, portanto, avaliados pelo método de Wilcoxon (Tabela 14). A taxa de remoção de glicose, avaliada pelo K e T1/2, não variou entre grupos ($p > 0,05$). Já o índice insulínico e o pico de resposta da insulina (PRI) foram maiores para G1, comparando com G2 e G3 ($p < 0,05$).

Tabela 14: Valores medianos (mínimo-máximo) de K, T1/2, $\Delta I/\Delta G$, PRI e PIT de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidos durante o teste intravenoso de tolerância à glicose.

	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
K (%)	3,58 ^A (2,49-6,69)	2,59 ^A (0,30-14,62)	3,11 ^A (2,35-6,62)
T1/2 (minutos)	19,52 ^A (10,35-27,79)	26,70 ^A (4,73-29,87)	19,44 ^A (10,46-29,41)
$\Delta I/\Delta G$	0,14 ^A (0,09-0,17)	0,10 ^B (0,09-0,12)	0,09 ^B (0,03-0,56)
PRI ($\mu\text{UI/mL}$)	71,90 ^A (56,40-108,70)	18,00 ^B (15,00-73,00)	31,95 ^B (13,40-15,00)
PIT (minutos)	15,00 ^A (1,00-30,00)	10,00 ^{AB} (7,50-15,00)	1,75 ^B (1,00-15,00)

K = porcentagem de desaparecimento da glicose por minuto; T1/2 = tempo necessário, em minutos, para que a concentração da glicose caia pela metade na corrente sanguínea; $\Delta I/\Delta G$ = índice insulínico; PRI = Pico da resposta insulínica, em $\mu\text{UI/mL}$. PIT = Pico da resposta insulínica em minutos

A, B - Medianas seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Wilcoxon ($p < 0,05$).

4.5 Teste pós-prandial de glicose e insulina

Os resultados de glicose obtidos durante a resposta pós-prandial de glicose à ingestão de arroz demonstraram que houve interação entre o grupo e tempo

($p < 0,001$). G1 apresentou maior glicemia que G2 e G3 no tempo zero (basal) e a partir dos 120 minutos após consumo do arroz ($p < 0,05$). Adicionalmente, G1 apresentou maior glicemia que G2 nos tempos 5 e 10 minutos ($p < 0,05$). Na avaliação no tempo, em relação à glicemia basal verificou-se diferença apenas para G1, com maiores glicemias nos tempos 240, 300 e 360 minutos ($p < 0,05$).

Os resultados obtidos neste teste encontram-se apresentados nas tabelas 15 a 22.

Tabela 15: Glicemia (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina.

Tempo (minutos)	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
	Glicose sanguínea (mg/dL)		
0	90,34 \pm 6,01 ^{Aa}	67,0 \pm 3,33 ^{Ba}	68,28 \pm 3,37 ^{Ba}
5	88,81 \pm 5,98 ^{Aa}	69,00 \pm 5,20 ^{Ba}	73,39 \pm 3,41 ^{ABa}
10	85,30 \pm 5,77 ^{Aa}	62,00 \pm 4,51 ^{Ba}	74,72 \pm 3,72 ^{ABa}
15	79,39 \pm 5,32 ^{Aa}	64,00 \pm 5,98 ^{Aa}	75,49 \pm 2,54 ^{Aa}
30	81,42 \pm 4,64 ^{Aa}	67,00 \pm 6,13 ^{Aa}	73,60 \pm 3,72 ^{Aa}
45	84,27 \pm 7,07 ^{Aa}	70,83 \pm 5,48 ^{Aa}	78,96 \pm 2,83 ^{Aa}
60	88,50 \pm 6,66 ^{Aa}	67,74 \pm 6,14 ^{Ba}	78,21 \pm 2,69 ^{ABa}
120	96,78 \pm 8,06 ^{Aa}	76,80 \pm 8,34 ^{Ba}	74,12 \pm 3,20 ^{Ba}
180	105,99 \pm 8,96 ^{Aa}	79,61 \pm 9,66 ^{Ba}	79,56 \pm 3,76 ^{Ba}
240	109,57 \pm 6,17 ^{Ab}	82,71 \pm 9,62 ^{Ba}	74,52 \pm 3,21 ^{Ba}
300	109,46 \pm 10,34 ^{Ab}	82,02 \pm 9,50 ^{Ba}	73,42 \pm 2,49 ^{Ba}
360	108,20 \pm 6,22 ^{Ab}	79,26 \pm 10,43 ^{Ba}	71,13 \pm 2,35 ^{Ba}

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

^{a, b} - Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na tabela 16 estão apresentadas as áreas abaixo da curva de glicose dos três grupos experimentais. Da mesma forma que as glicemias, as áreas abaixo da

curva da glicose dos grupos G2 e G3 foram menores que às do grupo G1 em todos os intervalos avaliados ($p < 0,05$).

Tabela 16: Áreas abaixo da curva de glicose (AACG) sanguínea de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina.

Intervalo	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
	AACG (mg/dL/min)		
0-360	38835±2106,75 ^A	27900±1638,88 ^B	27118,10±878,21 ^B
0-60	5308±288,09 ^A	3986,11±237,57 ^B	4541,10±160,64 ^B
0-120	11365±585,55 ^A	8277,55±518,39 ^B	9110,90±298,71 ^B
0-240	20051±3480,73 ^A	17914,33±1230,72 ^B	18343,50±631,02 ^{AB}
60-120	6057±306,94 ^A	4291,44±283,47 ^B	4570,00±153,91 ^B
60-240	19632±1016,17 ^A	15553,44±232,64 ^B	13802,60±475,82 ^B
60-360	33527±1828,85 ^A	23914,67±1429,10 ^B	22577,00±730,24 ^B

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste t-Student ($p < 0,05$), sendo teste t-pareado para G1 vs G2 e teste t para amostras independentes (G1 vs G3 e G2 vs G3).

Os incrementos de glicose obtidos durante este teste encontram-se apresentados na tabela 17. Houve interação entre tempo e grupo ($p < 0,001$). Diferenças foram encontradas nos tempos 240, 300 e 360 minutos, com maiores incrementos de glicose para G1 em comparação a G2 e G3 ($p < 0,05$).

Tabela 17: Incrementos de glicose sanguínea (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidos durante o teste pós-prandial de glicose e insulina.

Tempo (minutos)	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
Incremento da glicose sanguínea (mg/dL)			
0	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}
5	-1,52 \pm 1,93 ^{Aa}	0,64 \pm 3,44 ^{Aa}	5,10 \pm 2,56 ^{Aa}
10	-5,03 \pm 2,49 ^{Aa}	-7,04 \pm 2,06 ^{Aa}	6,43 \pm 2,45 ^{Aa}
15	-10,95 \pm 12,68 ^{Aa}	-6,07 \pm 3,41 ^{ABa}	7,20 \pm 2,32 ^{Ba}
30	-8,92 \pm 13,57 ^{Aa}	-4,98 \pm 3,28 ^{Aa}	5,32 \pm 2,58 ^{Aa}
45	-6,06 \pm 12,06 ^{Aa}	-1,86 \pm 2,85 ^{Aa}	10,67 \pm 2,30 ^{Aa}
60	-1,84 \pm 10,63 ^{Aa}	-4,97 \pm 3,33 ^{Aa}	9,93 \pm 2,9 ^{Aa}
120	6,44 \pm 10,41 ^{Aa}	4,12 \pm 5,55 ^{Aa}	5,84 \pm 1,97 ^{Aa}
180	15,65 \pm 9,43 ^{Aa}	6,93 \pm 7,11 ^{Aa}	11,27 \pm 2,50 ^{Aa}
240	19,23 \pm 13,16 ^{Aa}	9,03 \pm 7,40 ^{Ba}	6,24 \pm 2,92 ^{Ba}
300	19,12 \pm 12,97 ^{Aa}	9,21 \pm 7,70 ^{Ba}	5,13 \pm 3,05 ^{Ba}
360	17,87 \pm 12,22 ^{Aa}	6,60 \pm 8,01 ^{Ba}	2,84 \pm 2,63 ^{Ba}

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

^{a, b} - Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As AAC do incremento de glicose estão apresentadas na tabela 18. Nesta análise, os animais obesos (G1) apresentaram maiores áreas abaixo da curva que

os G3 nos intervalos de 0-360 minutos, 0-240 minutos, 60-240 minutos e 60-360 minutos ($p < 0,05$).

Tabela 18: Áreas abaixo da curva do incremento da glicose sanguínea (AACIG) de cães obesos (G1), após a perda de 20% (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina.

Intervalo	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
	AACIG (mg/dL/min)		
0-360	10601±3006 ^A	4094,374±1044,19 ^{AB}	3072,30±470,25 ^B
0-60	925,50±394,35 ^A	381,75±75,20 ^A	507,05±84,52 ^A
0-120	2255,71±871,26 ^A	784,65±5189,28 ^A	1049,05±140,27 ^A
0-240	6167,11±1896,58 ^A	2174,23±738,73 ^{AB}	2125,42±289,65 ^B
60-120	1330,27±485,76 ^A	406,14±136,78 ^A	542±82,89 ^A
60-240	5241,78±1534,82 ^A	1911,84±690,71 ^{AB}	1618,52±214,61 ^B
60-360	9675,22±2624,66 ^A	3742,37±1017,03 ^{AB}	2565,40±404,98 ^B

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste t-Student ($p < 0,05$), sendo teste t-pareado para G1 vs G2 e teste t para amostras independentes (G1 vs G3 e G2 vs G3).

Na tabela 19 estão apresentados os resultados de insulina sérica obtidos durante a avaliação pós-prandial dos animais. Houve interação entre tempo e tratamento para a concentração de insulina sérica pós-prandial ($p < 0,01$). Diferenças estatísticas foram encontradas nos tempos 180, 240, 300 e 360 minutos, com maiores valores de insulina sérica para G1 em comparação a G3 ($p < 0,05$), tendo o grupo G2 apresentado valores intermediários ($p > 0,05$).

Tabela 19: Concentrações de insulina sérica (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina.

Tempo (minutos)	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
	Insulina sérica (μUI/dL/min)		
0	9,01 \pm 3,95 ^{Aa}	4,22 \pm 1,42 ^{Aa}	2,00 \pm 0,53 ^{Aa}
5	36,00 \pm 23,80 ^{Aa}	11,58 \pm 3,50 ^{Aa}	9,50 \pm 2,23 ^{Aa}
10	21,78 \pm 9,75 ^{Aa}	5,92 \pm 1,31 ^{Aa}	4,60 \pm 1,25 ^{Aa}
15	12,82 \pm 4,29 ^{Aa}	5,40 \pm 1,28 ^{Aa}	9,90 \pm 2,50 ^{Aa}
30	13,56 \pm 3,19 ^{Aa}	9,88 \pm 1,85 ^{Aa}	10,80 \pm 3,25 ^{Aa}
45	17,48 \pm 5,19 ^{Aa}	11,22 \pm 7,34 ^{Aa}	7,80 \pm 2,00 ^{Aa}
60	19,86 \pm 6,84 ^{Aa}	20,34 \pm 3,34 ^{Aa}	13,10 \pm 5,60 ^{Aa}
120	27,71 \pm 15,74 ^{Aa}	10,04 \pm 8,34 ^{Aa}	6,00 \pm 1,44 ^{Aa}
180	36,91 \pm 17,59 ^{Aa}	24,28 \pm 10,92 ^{ABa}	8,60 \pm 2,39 ^{Ba}
240	49,68 \pm 14,74 ^{Ab}	27,60 \pm 1,44 ^{ABa}	4,10 \pm 1,44 ^{Ba}
300	41,44 \pm 9,92 ^{Ab}	17,08 \pm 2,94 ^{ABa}	3,50 \pm 1,23 ^{Ba}
360	37,24 \pm 8,17 ^{Aa}	26,00 \pm 2,80 ^{ABa}	1,80 \pm 10,44 ^{Ba}

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

^{a, b} - Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na tabela 20 estão apresentados os resultados das áreas abaixo da curva da insulina. Verificou-se maior AAC da insulina em praticamente todos os

intervalos avaliados para G1, em relação a G3 ($p < 0,05$), tendo o grupo G2 apresentado valores intermediários ou semelhantes à G1 no intervalo 60-360 ($p > 0,05$).

Tabela 20: Áreas abaixo da curva do incremento de insulina (AACIns) (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina.

Intervalo	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
	AACIns (μUI/dL/min)		
0-360	12111,89 \pm 3861,18 ^A	6752,00 \pm 1342,48 ^{AB}	2335,60 \pm 636,56 ^B
0-60	2743,30 \pm 1491,20 ^A	1054,10 \pm 372,27 ^{AB}	552,40 \pm 139,85 ^B
0-120	2481,26 \pm 1029,18 ^A	1533,10 \pm 351,33 ^{AB}	1125,30 \pm 330,02 ^B
0-240	7017,59 \pm 2951,61 ^A	4119,20 \pm 1155,12 ^{AB}	1946,40 \pm 536,76 ^B
60-120	1427,00 \pm 663,58 ^A	911,40 \pm 252,66 ^A	573,00 \pm 197,01 ^A
60-240	5993,33 \pm 2591,09 ^A	3497,40 \pm 1063,89 ^{AB}	1394,00 \pm 401,27 ^B
60-360	10401,14 \pm 3579,82 ^A	6130,40 \pm 1259,81 ^A	1783,20 \pm 502,63 ^B

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste t-Student ($p < 0,05$), sendo teste t-pareado para G1 vs G2 e teste t para amostras independentes (G1 vs G3 e G2 vs G3)..

Os resultados de incremento de insulina encontram-se na tabela 21. Houve interação entre tempo e tratamento para o incremento de insulina sérica pós-prandial ($p < 0,01$). Diferenças estatísticas foram encontradas nos tempos 240 e 300 minutos, com maiores incrementos de insulina para G1 em comparação a G3 ($p < 0,05$), tendo o grupo G2 apresentado valores intermediários ($p > 0,05$).

Tabela 21: Incrementos de insulina sérica (média \pm erro padrão) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidos durante o teste pós-prandial de glicose e insulina.

Tempo (minutos)	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
Incremento de insulina sérica (μUI/dL/min)			
0	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}	0,00 \pm 0,00 ^{Aa}
5	26,99 \pm 19,97 ^{Aa}	7,46 \pm 3,63 ^{Aa}	7,60 \pm 2,18 ^{Aa}
10	12,77 \pm 6,10 ^{Aa}	1,70 \pm 1,87 ^{Aa}	2,70 \pm 1,04 ^{Aa}
15	3,81 \pm 2,00 ^{Aa}	1,18 \pm 2,35 ^{Aa}	7,90 \pm 2,53 ^{Aa}
30	4,54 \pm 2,38 ^{Aa}	5,66 \pm 2,54 ^{Aa}	8,86 \pm 3,25 ^{Aa}
45	8,47 \pm 2,21 ^{Aa}	7,00 \pm 3,12 ^{Aa}	5,82 \pm 3,12 ^{Aa}
60	10,84 \pm 3,78 ^{Aa}	16,12 \pm 8,31 ^{Aa}	11,09 \pm 1,52 ^{Aa}
120	18,70 \pm 12,98 ^{Aa}	5,82 \pm 2,86 ^{Aa}	4,04 \pm 5,16 ^{Aa}
180	27,90 \pm 14,02 ^{Aa}	20,06 \pm 8,82 ^{Aa}	6,65 \pm 1,38 ^{Aa}
240	40,67 \pm 11,83 ^{Ab}	23,38 \pm 11,50 ^{ABa}	2,10 \pm 1,09 ^{Ba}
300	32,43 \pm 9,83 ^{Ab}	12,86 \pm 3,37 ^{ABa}	1,60 \pm 0,86 ^{Ba}
360	28,23 \pm 6,93 ^{Aa}	21,78 \pm 5,52 ^{Aa}	-0,2 \pm 0,33 ^{Aa}

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

^{a, b} - Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na tabela 22 estão apresentados os resultados das áreas abaixo da curva do incremento de insulina. Verificou-se maior AAC0-360 do incremento de insulina para G1 e G2, em relação a G3 ($p < 0,05$). Este aumento não foi devido à secreção

inicial de insulina, que não diferiu no intervalo 0-240 ($p>0,05$), mas sim em sua secreção tardia, como verificado pela maior AAC 60-360 de G1 e G2 em relação a G3 ($p<0,05$).

Tabela 22: Áreas abaixo da curva do incremento da insulina sérica (AACInIns) de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3) obtidas durante o teste pós-prandial de glicose e insulina.

Intervalo	Grupos Experimentais		
	G1	G2	G3
	AACInIns ($\mu\text{UI/dL/min}$)		
0-360	10768,41 \pm 2568,17 ^A	5374,60 \pm 1498,10 ^A	1689 \pm 486,27 ^B
0-60	526,43 \pm 152,87 ^A	457,70 \pm 113,98 ^A	436,00 \pm 122,17 ^A
0-120	1336,96 \pm 594,33 ^A	1133,66 \pm 392,50 ^A	895,40 \pm 284,46 ^A
0-240	5176,06 \pm 2032,23 ^A	3248,20 \pm 1233,43 ^A	1494,60 \pm 446,29 ^A
60-120	899,22 \pm 434,57 ^A	675,96 \pm 285,97 ^A	459,40 \pm 171,45 ^A
60-240	4526,71 \pm 1900,27 ^A	2790,40 \pm 1133,93 ^A	1058,60 \pm 329,21 ^A
60-360	9519,22 \pm 2359,43 ^A	4971,00 \pm 1397,55 ^A	1253,10 \pm 369,65 ^B

^{A, B} - Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste t-Student ($p<0,05$), sendo teste t-pareado para G1 vs G2 e teste t para amostras independentes (G1 vs G3 e G2 vs G3)..

4.6 Quantificação das citocinas TNF α e IL-6

Na tabela 23 estão apresentadas as medianas e os valores mínimos e máximos de TNF α e IL-6 verificados para os grupos G1, G2 e G3.

Tabela 23: Valores medianos (mín-max) das concentrações séricas das adipocitocinas TNF α e IL-6 de cães obesos (G1), após perda de 20% de peso (G2) e controle (G3).

Adipocitocina	G1	G2	G3
TNF α (pg/mL)	5,65 (4,70-6,90) ^A	3,22 (3,20-3,30) ^B	3,20 (3,20-3,30) ^B
IL-6 (pg/mL)	4,20 (3,20-18,80) ^A	3,40 (3,20-7,30) ^B	3,20 (3,20-7,82) ^B

^{A, B} - Medianas seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Wilcoxon ($p < 0,05$).

Verificou-se durante o estudo, redução da concentração sanguínea de TNF α e IL6, no G2 em relação a G1 ($p < 0,05$). Ao final do emagrecimento, os valores de G2 não diferiram dos de G3 ($p > 0,05$).

Nas figuras 7 e 8 estão representados os gráficos da análise de regressão encontradas entre as variáveis massa gorda e concentração sérica de leptina e massa gorda e concentração sérica de TNF α encontradas neste estudo.

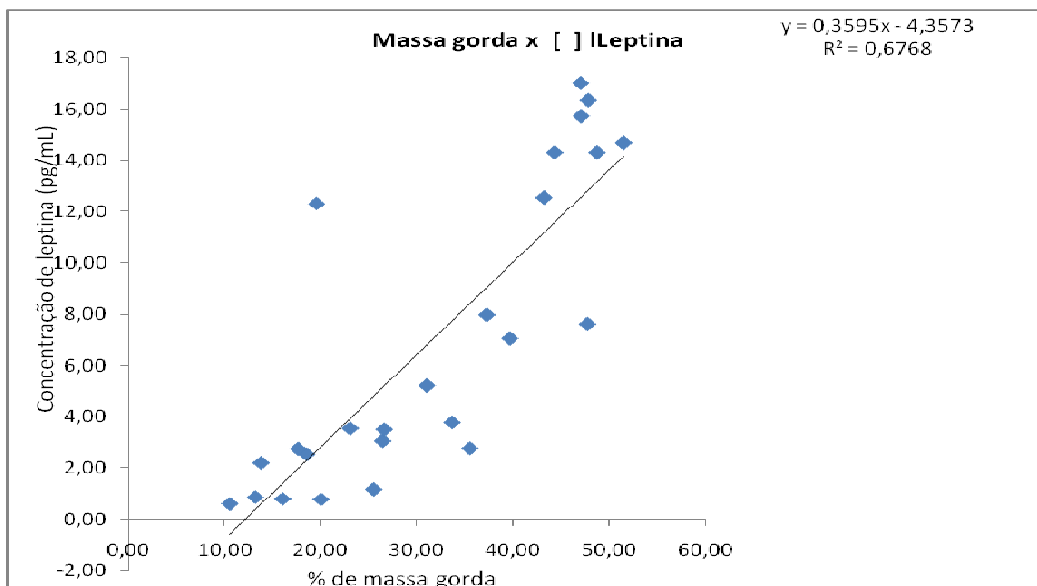


Figura 6: Valor de R^2 e equação de regressão encontrada entre as variáveis massa gorda e concentração sérica de leptina.

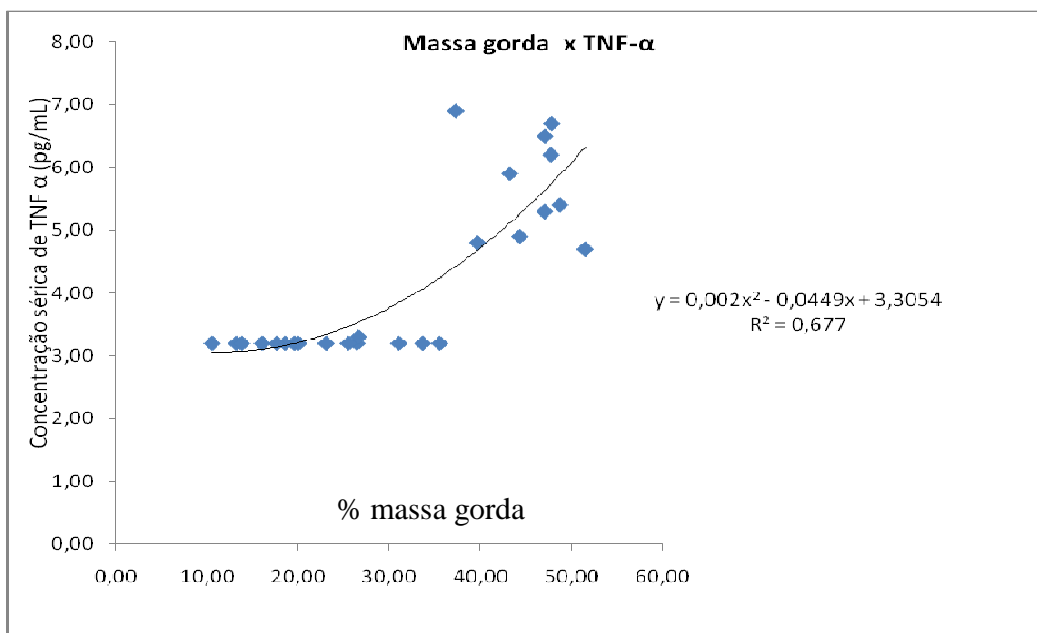


Figura 7: Valor de R^2 e equação de regressão encontrada entre as variáveis massa gorda e concentração sérica de TNF α .

5. DISCUSSÃO

Ao longo do estudo, os cães submetidos ao programa de perda de peso apresentaram consumo satisfatório da dieta utilizada, o que demonstra boa palatabilidade, mesmo com baixos teores de gordura em sua composição. A qualidade das fezes produzida foi adequada, não havendo relato de alterações em nenhum momento do período experimental. Durante o emagrecimento, os cães foram pesados e avaliados a cada 20 dias e nenhuma alteração clínica foi constatada. A porcentagem de perda de peso corporal média por semana ficou abaixo de 1%, sendo o recomendável para cães entre 1 e 2% (LAFLAMME et al., 1997). No entanto, menores taxas de perda de peso resultam em maiores chances de manutenção do peso após o regime (LAFLAMME e KUHLMAN, 1995). Outros trabalhos com animais de proprietário também resultaram em taxa semanal inferior a 1% (CARCIOFI et al., 2005; GERMAN et al., 2007; BRUNETTO et al., 2007a). Estes estudos encontraram 0,75%, 0,85% e 0,80% respectivamente, resultados muito semelhantes aos da presente pesquisa.

A menor porcentagem de perda de peso dos cães de proprietário (domiciliados) pode ser explicada pelos seguintes fatores. O primeiro refere-se a indisponibilidade dos proprietários em cumprir o protocolo terapêutico estabelecido, fornecendo mais calorias do que o programado para os animais. Estudo anterior comparou as taxas de perda de peso de animais domiciliados com as de animais mantidos em canil de laboratório, empregando-se a mesma dieta e protocolo de avaliação. A taxa de perda de peso dos animais sob condições controladas foi significativamente superior à dos animais de proprietário e o tempo para atingir o peso meta foi significativamente inferior (BRUNETTO et al., 2007a). Outro fator que pode ter influenciado a taxa de perda são as diferenças entre as necessidades energéticas de animais domiciliados e a dos mantidos em canil. Um estudo demonstrou que cães de canil apresentam uma maior constante de atividade física, que pode se refletir em necessidade energética de manutenção até 20% maior e, dessa forma, a resposta à restrição alimentar será superior (CENTER, 2003). Um terceiro fator importante que pode influenciar a velocidade

da perda de peso é o tamanho corporal. Uma pesquisa realizada por nosso grupo demonstrou que cães de raças grandes ou gigantes apresentam uma menor taxa de perda de peso semanal (BRUNETTO et al., 2007b). Na presente pesquisa, 50% dos animais possuíam grande porte, ou seja, peso superior a 40 kg e assim demoraram mais para atingir o peso meta estabelecido no início do estudo.

Todos os animais do G1 apresentavam escore corporal 9, indicando obesidade mórbida. Ao exame de composição corporal, a porcentagem de massa gorda média foi superior a 45%, também classificando-os como obesos. Estes animais estavam obesos há pelo menos 12 meses, o que é muito importante, pois, conforme já descrito, tanto o grau de obesidade como o período de tempo no estado obeso têm sido apontados como fatores importantes na interpretação da intolerância à glicose e resistência insulínica ao TIVTG (FETTMAN et al., 1998). O emagrecimento dos animais do G1 resultou em perda média de 22,0% de peso corporal. Houve redução expressiva da massa gorda e a massa magra se elevou de 54% para 66%. Isto caracteriza uma importante perda de gordura com manutenção de massa magra, levando a uma expressiva alteração da composição corporal dos cães. Os animais do G3, no entanto, apresentaram menor porcentagem de massa gorda e maior teor de massa magra que G2, persistindo, desta forma, diferenças na composição corporal do grupo que emagreceu e do grupo normal. De qualquer forma, a alteração na composição corporal verificada em G2 levou a modificações importantes em alguns parâmetros glicêmicos, na concentração de insulina, leptina e das citocinas TNF α e IL-6, tornando-os diferentes do G1 e mais semelhantes ao G3 em alguns aspectos.

Além da avaliação da função das células beta pancreáticas, o teste intravenoso de tolerância à glicose pode ser usado para avaliar os efeitos do hipertireoidismo, da sedação, da administração de acetato de megestrol e depleção de taurina em gatos (SPARKES et al., 1996). Esta técnica tem sido rotineiramente utilizada em pesquisas para avaliar a tolerância à glicose tanto em gatos magros como em obesos e com menor frequência em cães (MATTHEEUWS et al., 1984a; MATTHEEUWS et al., 1984b; NELSON et al., 1990; BIOURGE et al., 1997;

FETTMAN et al., 1997; LINK & RAND, 1998; APPLETON et al., 2001b; BRENNAN et al., 2004).

O teste necessita de padronização para a obtenção de respostas adequadas. APPLETON et al. (2001a) relataram que variações na metodologia, como o local de colocação do cateter (via central ou periférica), as quantidades (doses) de glicose administradas por via venosa, os tempos de tomada de resultados e os cálculos utilizados para a determinação dos valores de K e $T_{1/2}$, prejudicam a comparação de resultados entre os estudos. Apesar dessas limitações, o TIVTG é considerado um método sensível de avaliação da função das células β e apresenta vantagens quando comparado a outros procedimentos (HOENIG et al., 2002b).

O TIVTG revelou valores de concentrações de glicose semelhantes nos cães obesos em relação a esses mesmos animais após perda de 20% de peso e diferentes em relação aos cães controle, nos tempos 1,0; 2,5 e 5,0 minutos. O mesmo padrão foi observado na comparação entre os animais emagrecidos e os cães controle. A maior glicemia verificada nos animais obesos e animais emagrecidos pode ser notada, também, pela maior AAC de glicose inicial (0-7,5 minutos), segundo intervalo (0-15 minutos), terceiro intervalo (0-45 minutos), na primeira hora (0-60 minutos) e total (0-120 minutos). Já na segunda hora, a AAC de glicose (60-120) foi semelhante entre G1 e G3 e entre G2 e G3.

O único estudo encontrado na literatura que utilizou o emprego do TIVTG em cães com obesidade naturalmente adquirida, como na presente pesquisa, foi descrito por MATTHEEUWS e colaboradores (1984a). Estes autores dividiram um grupo de 36 cães obesos atendidos no Hospital Escola da Universidade de Ghent, (Ghent, Bélgica) em três subgrupos, de acordo com o grau de obesidade. Esta foi estimada a partir da porcentagem de sobrepeso calculada sobre o peso corporal ideal para cada raça e sexo, uma forma bastante subjetiva de avaliação, pois, sabe-se que dentro da mesma raça de cães podem ocorrer grandes variações de porte e isso não necessariamente significa deposição de tecido adiposo. O emprego deste tipo de avaliação fica inviável para os cães sem raça definida, situação bastante freqüente em alguns países como o Brasil. Além disso, os

autores não submeteram os animais à um programa de perda de peso, o que dificulta a discussão dos resultados ora apresentados. A escassêz de estudos que empregaram o TIVTG em cães de rotina pode ser atribuído em parte, a falta de autorização dos proprietários dos animais para a realização deste procedimento (GERMAN et al., 2009).

Em estudo com felinos, NELSON et al. (1990) compararam um grupo de gatos magros com outros obesos e observaram que os últimos apresentaram maior glicemia aos 30, 45 e 60 minutos após a infusão de glicose. APPLETON et al. (2001b) verificaram que após ganho médio de 44% de peso corporal, gatos apresentaram aumento significativo da concentração de glicose em todos os tempos de avaliação durante o TIVTG, com exceção do basal. FETTMAN et al. (1998) também não verificaram alteração da glicemia basal com o ganho de peso, mas observaram, em fêmeas, diminuição da glicemia basal após perda de 20% de peso, o que não foi verificado pelos autores supracitados e nem por GONÇALVES (2006) ao avaliar gatos com obesidade adquirida.

Após o emagrecimento, os cães apresentaram glicemias intermediárias a G1 e G3 em todos os tempos avaliados. A perda de 22% de peso corporal não provocou redução considerável da glicemia e os valores desse indicador foram semelhantes estatisticamente àqueles determinados em animais obesos, no início do estudo e nos animais normais. A AAC de glicose do grupo G2 também foi intermediária à de G1 e de G3 em todos os intervalos de tempo avaliados. Uma possível explicação para este achado pode ser o grau de obesidade dos animais incluídos no estudo (45%), cuja perda média de 22% pode ter sido insuficiente para normalizar os parâmetros glicêmicos. De acordo com critérios de alguns autores, estes animais ainda se enquadram como obesos ou em sobrepeso (LEWIS et al., 1994).

A falta de estudos que avaliaram os efeitos da perda de peso sobre parâmetros glicêmicos em cães obesos dificultam a discussão destes resultados, pois o esperado seria uma redução da glicemia, como ocorre em humanos e em ratos, tendendo a se aproximar aos valores dos cães normais. No entanto, valores intermediários entre os grupos G1 e G3 podem indicar uma tendência a

normalização, o que poderia ter sido alcançado caso o programa de perda de peso tivesse se prolongado. Outro aspecto importante se refere ao tempo de avaliação após a perda de peso. No presente estudo, os animais foram avaliados logo após a perda de 22% do peso inicial. Talvez, esse curto período de tempo fosse insuficiente para que os parâmetros glicêmicos se normalizassem e se igualassem aos do grupo G3. Cabe ressaltar que os animais do grupo G2 foram submetidos a uma fase de manutenção do peso atingido e serão futuramente reavaliados para esclarecimento dessa dúvida.

O emagrecimento promoveu redução das concentrações basais de insulina, embora os valores ainda fossem superiores aos dos cães controle. A AAC da insulina do grupo G2 foi intermediária no intervalo total da primeira hora (0-60 minutos). A secreção total de insulina, determinada pela AAC do incremento de insulina total (0-120) foi semelhante para os três grupos. Embora não tenha sido encontrada diferença estatística em todos os tempos, a produção e liberação de insulina foi maior nos animais obesos, em praticamente todos os intervalos avaliados no teste. No entanto, o mais importante a se considerar é que intolerância à glicose não foi verificada no grupo de animais obesos incluídos neste estudo, da mesma forma que não foi verificada por MATTHEUWS e colaboradores (1984a) no grupo de animais com adiposidade intermediária (37% acima do peso ideal). Estes autores encontraram intolerância a glicose somente no grupo de animais que estavam com peso corporal 67% acima do ideal, baseado em equações matemáticas.

A classificação de um indivíduo quanto a tolerância à glicose é baseada nos valores de K, $T_{1/2}$ e nas concentrações deste carboidrato nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos obtidas durante o TIVTG (LINK e RAND, 1997; APPLETON et al., 2001a). Os resultados do presente estudo indicam que os grupos experimentais foram compostos por animais com tolerância normal à glicose (KANEKO, 1997), pois tanto o K e $T_{1/2}$ foram semelhantes. Era de se esperar menor tolerância à glicose em G1, em função destes animais apresentarem massa gorda média de 45%. Estes, no entanto, apesar de terem apresentado maior glicemia no início da curva, aos 7,5 minutos já apresentavam valores semelhantes a G3, o que indica

que a taxa de remoção deste açúcar do sangue foi normal. Tolerância à glicose prejudicada é um fenômeno que pode acometer animais magros e obesos. APPLETON et al. (2001b) verificaram que o ganho de peso em gatos com tolerância à glicose normal não alterou os valores de $T\frac{1}{2}$ e insulina basal, mas elevou as AAC totais de glicose e insulina no TIVTG. Já os animais com tolerância à glicose prejudicada, após ganho de peso apresentaram maior insulina basal e $T\frac{1}{2}$, além da elevação das AAC de glicose e insulina.

O pico de resposta insulínica (PRI), ou seja, a intensidade do aumento e o índice insulinogênico ($\Delta I/\Delta G$) foram maiores no grupo G1, o que também sugere uma maior produção de insulina pelos animais obesos. O índice insulinogênico apresentou correlação positiva ($R=0,39$; $p=0,05$) com a porcentagem de massa gorda. MATTHEEUWS et al. (1984b) encontraram em cães obesos relação positiva e significativa entre o grau de obesidade e os parâmetros insulínicos obtidos no TTGIV. Da mesma forma, outro trabalho do mesmo grupo de pesquisa demonstrou a partir de regressões lineares que o fator obesidade influenciava a secreção total de insulina em cães não diabéticos e diabéticos (MATTHEEUWS et al. 1984a). LARSON et al. (2003) em um estudo com cães da raça Labrador, observaram que a gordura corporal correlacionou-se de forma significativa e negativa com a sensibilidade à insulina ($R=0,67$) e de forma positiva com a AAC de insulina ($R=0,71$) e com o pico da glicose ($R=0,50$).

Melhora na resposta glicêmica e insulínica com o emagrecimento de gatos foi demonstrada por FETTMAN et al. (1997). Os autores notaram que a perda de 17,5% de peso corporal melhorou os parâmetros glicêmicos e insulínicos ao TIVTG. Por outro lado, BIOUSGE et al. (1997) observaram após perda de peso de 30% em gatos, piora da tolerância à glicose e prejuízo da resposta insulínica. Essas alterações metabólicas ocorreram, provavelmente, devido à imposição de um regime de perda de peso inadequado, que incluiu redução drástica de aproximadamente 80% da energia metabolizável ingerida, o que levou à rápida perda de peso (cinco a seis semanas), acompanhada, inclusive, de alguns casos de lipidose hepática. Os gatos apresentaram, também, uma perda elevada de peso, maior do que a imposta por FETTMAN et al (1997). Desta forma, pode-se

verificar que a intensidade da restrição calórica, e a conseqüente velocidade de perda de peso, pode levar a profundos efeitos metabólicos no organismo animal. Perdas adequadas, como as verificadas por FETTMAN et al. (1997), melhoraram a resposta à glicose, enquanto perda muito rápida e de maior amplitude demonstraram efeitos opostos. No presente estudo, embora a taxa de perda de peso tenha sido inferior a recomendada pela literatura, a perda semanal de 0,70% do peso corporal pode ter sido importante para amenizar ou evitar alterações metabólicas drásticas. Além da dieta adequada, uma taxa de perda de peso mais lenta, associada à atividade física, podem ser considerados os fatores responsáveis pela manutenção da massa magra, que foi evidenciado no exame de composição corporal.

Estas diferenças entre experimentos sugerem a importância de se estudar mais detalhadamente os efeitos metabólicos do emagrecimento em cães e gatos, de modo a definir-se questões como velocidade e quantidade de redução de peso adequadas. O desenvolvimento e aplicação da técnica do clamp de glicose representam seguramente o maior avanço no estudo *in vivo* da resistência à insulina. Esta técnica permite ao investigador examinar a sensibilidade tecidual à insulina, tanto em músculo como em fígado, bem como a resposta de célula beta à glicose em situações de constância de glicemia e insulinemia. DEFロンZO et al. (1979) desenvolveram a técnica do clamp de glicose com suas duas principais variações. A determinação da sensibilidade à insulina pelo clamp é baseada no conceito de que, em condições constantes nas concentrações de glicemia e hiperinsulinemia, a quantidade de glicose consumida pelos tecidos seria igual à quantidade de glicose infundida durante um teste no qual a glicemia é mantida dentro de limites constantes e normais. O teste pressupõe a completa supressão da produção hepática de glicose (GELONEZE e TAMBASCIA, 2006). No entanto, o emprego deste tipo de avaliação em animais de rotina é bastante limitado, pois para a realização deste procedimento é necessário que os animais sejam submetidos à anestesia geral. Pacientes obesos apresentam maior risco de intercorrências durante o plano anestésico do que cães com escore corporal normal (GERMAN, 2006).

BAILHACHE et al. (2001) e BLANCHARD et al. (2004) encontraram melhora da sensibilidade insulínica com o emprego da técnica de clamp em cães da raça beagle, ao comparar os mesmos animais antes e após o ganho médio de 35% de peso, demonstrando a influência da obesidade sobre os mecanismos de resistência insulínica. No segundo estudo, os animais foram posteriormente emagrecidos e houve melhora da sensibilidade insulínica com a perda de peso, próximo aos valores anteriores à engorda.

Com relação ao teste pós-prandial de glicose e insulina, foi possível observar diferenças entre os animais obesos e demais grupos na resposta glicêmica nos primeiros dez minutos de avaliação, voltando a se diferenciar a partir dos 60 minutos até o final da curva. Nas AAC do incremento da glicose também foi possível detectar maior glicemia nos obesos em todos os intervalos avaliados, sendo esta avaliação mais sensível do que o TTIVG em detectar essas variações. Além disso, este teste foi útil para demonstrar que cães obesos apresentam um aumento da secreção de insulina tardia, evidenciado a partir da AAC da insulina, no intervalo de 60-360 minutos. Não foram encontrados outros trabalhos semelhantes na literatura para comparação desses resultados, mas as informações aqui encontradas sugerem que esta pode ser uma avaliação interessante a ser feita no paciente obeso.

O aumento dos depósitos corporais de gordura está relacionado com profundas alterações de algumas funções fisiológicas que podem resultar em redução da tolerância à glicose e resistência insulínica. À caracterização do tecido adiposo, fundamentalmente como um órgão de armazenamento de energia, vêm sendo acrescida, nos últimos 10 anos propriedades distintas (GUIMARÃES et al., 2007). A descoberta da leptina e outras substâncias secretadas pelos adipócitos, acrescentou às clássicas e reconhecidas funções do tecido adiposo o papel de órgão multifuncional, produtor e secretor de inúmeros peptídeos e proteínas bioativas, denominadas adipocitocinas. Este conceito emergente define para o tecido adiposo importante função endócrina, mantendo intensa comunicação com os demais órgãos e sistemas orgânicos (HAUNER, 2004). As adipocitocinas podem interferir em uma variedade de processos fisiológicos, entre eles, o

controle da ingestão alimentar, homeostase energética, sensibilidade à insulina, angiogênese, proteção vascular e coagulação sanguínea (HAVEL, 2004).

A leptina (do grego *Leptos*= magro) é uma proteína de 167 aminoácidos, produto do gene *ob*, que foi inicialmente clonado e seqüenciado em camundongos e que se expressa principalmente no tecido adiposo branco. O gene *ob* está presente, bem como sua sequência está bastante conservada, em diversas espécies de vertebrados, incluindo o cão e o gato. Os teores circulantes são proporcionais à massa adiposa, apresentando-se elevados em cães obesos (ISHIOKA et al., 2002; DIEZ et al., 2004; JEUNETTE et al., 2005; ISHIOKA et al., 2006; GAYET et al., 2008). Esta adipocitocina interage com diferentes sistemas neuroendócrinos centrais, envolvidos no controle da ingestão de alimentos, incluindo, por exemplo, o neuropeptídeo Y (NPY), sintetizado no núcleo arqueado do hipotálamo, que constitui um importante estimulador da ingestão de alimentos (CAMPFIELD et al., 1995). A leptina apresenta também importante papel inibitório sobre a secreção de insulina, através da ativação dos canais de potássio dependentes de ATP ou via interação com a sinalização da proteína AMP quinase. No presente estudo, os resultados encontrados confirmam as informações existentes na literatura. O grupo de animais obesos apresentou concentrações séricas superiores desta adipocitocina e estes valores se aproximaram aos encontrados nos animais controle, após a perda de peso. Esta informação indica que a perda de massa gorda resulta em redução da produção de leptina. Isto pôde ser evidenciado pela análise de correlação, onde a concentração de leptina sérica apresentou estreita relação com o teor de massa gorda ($R=0,48$; $p=0,01$) e com a AAC da insulina dos dois testes empregados neste estudo ($R=0,44$; $P=0,04$), sugerindo maior produção de insulina pelo pâncreas no paciente obeso, com o propósito de manutenção da normoglicemia. No entanto, GERMAN e colaboradores (2009) não encontraram concentrações mais elevadas desta adipocitocina em cães obesos e segundo os próprios autores, este achado pode ter sido em função da metodologia empregada.

O fator de necrose tumoral alfa (TNF α) representa um produto de macrófagos relacionado a distúrbios metabólicos e processos crônicos de

inflamação. As primeiras informações acerca das ações biológicas associadas ao TNF α definiam um envolvimento na resistência à insulina, perda de peso e anorexia (GUIMARÃES et al., 2007). Entretanto, investigações mais recentes têm revelado vínculo molecular mais estreito entre o TNF α e obesidade, verificando-se que a expressão desta adipocitocina está aumentada no tecido adiposo e diminui com a perda de peso corporal em humanos, o que resulta em melhora da sensibilidade insulínica (FRUHBECK et al., 2001). Um trabalho recente demonstrou em cães maior expressão desta citocina no tecido adiposo (GAYET et al., 2007). Maiores concentrações plasmáticas em cães de canil experimental, em que se induziu obesidade (GAYET et al., 2004), e em animais de rotina, naturalmente obesos, este fato também foi evidenciado (GERMAN et al., 2009), semelhante aos resultados encontrados na presente pesquisa. A perda de peso resultou em redução das concentrações plasmáticas de TNF α (GAYET et al., 2004; GERMAN et al., 2009), o que sugere benefícios à saúde. Por outro lado, LAFLAMME et al. (2009) não encontraram diferenças entre cães obesos e magros, avaliados a partir da rotina clínica. Os autores utilizaram o método de classificação por escore de condição corporal, incluindo animais de escore 8 e 9, o que pode indicar menor grau de obesidade e também, uma forma subjetiva de avaliação. No presente estudo, foi possível demonstrar correlação entre teor de massa gorda e concentração de TNF α circulantes ($R= 0,67$), corroborando os achados de GERMAN e colaboradores (2009). Dessa forma, a perda de massa gorda foi efetiva em diminuir a secreção de insulina pelo pâncreas e a concentração de TNF α , mas não foi suficiente para melhorar de forma significativa os parâmetros glicêmicos nos animais após o emagrecimento.

Alguns autores sugerem que o tecido adiposo humano produz quantidades elevadas de interleucina-6 (IL-6). Essa secreção pode representar cerca de 10 a 30% dos teores circulantes dessa citocina multifuncional, também produzida por outros diferentes tipos de células (CAMPFIELD et al., 1995). Evidências demonstraram que o tecido adiposo visceral produz e secreta três vezes mais IL-6 do que o tecido adiposo subcutâneo (FRIEND et al., 1997). O impacto metabólico produzido pelo aumento da expressão de IL-6 nos depósitos

corporais de gordura pode ser de crucial importância na patogenia da obesidade (NOGOKAKI et al., 1995). Índícios recentes indicam que a IL-6 exerce ação direta sobre a sensibilidade à insulina, alterando a sinalização insulínica em hepatócitos, mediante a inibição do receptor de insulina dependente de autofosforilação, o que promove desse modo, resistência à ação do hormônio no tecido (GUIMARÃES et al., 2007). Em cães obesos, poucos estudos quantificaram as concentrações circulantes desta adipocitocina. GERMAN e colaboradores (2009) encontraram maiores concentrações em cães obesos e posterior redução com o emagrecimento, no entanto esta diferença não foi significativa. No presente estudo, maiores concentrações circulantes de IL-6 pôde ser observada nos cães obesos, quando comparado aos cães que emagreceram e aos controles. Esse aumento de IL-6 circulante apresentou correlação positiva e significativa com o TNF α sérico ($R= 0,60$; $p= 0,001$). Dessa forma, pode-se sugerir que a redução de massa gorda resultou em menor produção e liberação das adipocitocinas TNF α e IL-6 e conseqüente redução na necessidade de produção de insulina pelo pâncreas, em função de uma possível melhora na ação desse hormônio.

6. CONCLUSÕES

Nas condições do presente estudo, pôde-se concluir que:

- 1) A obesidade acarreta alterações no metabolismo de carboidratos dos cães e também se caracteriza como um estado inflamatório leve e crônico;
- 2) A perda de 20% de peso, constituído em sua maior parte como gordura, foi insuficiente para normalizar o metabolismo de carboidratos, avaliados através do teste intravenoso de tolerância à glicose;
- 3) O emagrecimento resultou na redução das concentrações séricas circulantes das adipocitocinas leptina, TNF α , e IL-6 e assim, contribuiu na melhora da sensibilidade insulínica evidenciada pela redução das concentrações desse hormônio na corrente circulatória.
- 4) O teste pós-prandial de glicose e insulina demonstrou-se mais sensível que o teste de tolerância intravenoso à glicose em detectar diferenças nos parâmetros glicêmicos entre os grupos, bem como na liberação tardia de insulina.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALPERT, M. A. Obesity cardiomyopathy: pathophysiology and evolution of the clinical syndrome. **American Journal of Medical Sciences**, v.321, p.225-236, 2001.

APPLETON, D. J. et al. Determination of reference values for glucose tolerance , insulin tolerance , and insulin sensitivity tests in clinically normal cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, p. 630-636, 2001a.

APPLETON, D. J. et al. Insulin sensitivity decreases with obesity, and lean cats with low insulin sensitivity are at greatest risk of glucose intolerance with weight gain. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 3, p. 211-228, 2001b.

ARONNE, L. J. Obesity as a disease: Etiology, treatment and management considerations for the obese patient. **Obesity Research**, v.10, p.95S-96S, 2002.

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. **Official Publications 2004**. Association of American Feed Control Officials, 2004.

ATKINS, C. E. Cardiac manifestations of systemic and metabolic disease. In: FOX, P.R. et. al. **Textbook of Canine and Feline Cardiology: principles and clinical practice**. 2. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999. p. 757-780.

BACH, J. F. et al. Association of expiratory airway dysfunction with marked obesity in healthy adult dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 68, p. 670-675, 2007.

BAILHACHE, B. E. et al. An insulin-resistant hypertriglyceridaemic normotensive obese dog model: assessment of insulin resistance by the euglycaemic hyperinsulinaemic clamp in combination with the stable isotope technique. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 87, p. 86-95, 2001.

BARRIE, J. et al. Plasma cholesterol and lipoprotein concentrations in the dog: effect of age, breed, gender and endocrine disease. **Journal of Small Animal Practice**, v. 34, p. 507–512, 1993.

BIOURGE, V. C. et al. Effects of weight gain and subsequent weight loss on glucose tolerance and insulin response in healthy cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 11, p. 86-91, 1997.

BLANCHARD, G. et al. Rapid weight loss a high-protein low-energy diet allows the recovery of ideal body composition and insulin sensitivity in obese dogs. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2148S-2150S, 2004.

BROWN, S. et al. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 542-558, 2007.

BRUNETTO, M. A. et al. Análise de correspondência entre obesidade e hiperlipidemia em cães. **Ciência Rural**, 2009 (submetido).

BRUNETTO, M. A. et al. Taxas de perda de peso em cães obesos domiciliados e de canil submetidos a um mesmo protocolo de perda de peso. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, p. 26-28, 2008a.

BRUNETTO, M. A. et al. Efeito do tamanho corporal sobre a taxa de perda de peso em cães obesos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, p. 24-26, 2008b.

BRENNAN, C. L. et al. GLUT4 but not GLUT1 expression decreases early in the development of feline obesity. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 26, p. 291-301, 2004.

BROWN, D. C. et al. Body weight as a predisposing factor for humeral condylar fractures, cranial cruciate rupture and intervertebral disc disease in Cocker Spaniels. **Veterinary Compendium Orthopedic**, v. 9, p. 75-78, 1996.

BURKHOLDER, W. J.; TOLL, P. W. Obesity. In: HAND, M. S.; THATCHER, D. D.; REMILLARD, R. L.; ROUDEBUSH, P. (Ed). **Small Animal Clinical Nutrition**. 4ed. Marceline: Walsworth, 2000. p. 401-26.

CAMPFIELD, L. A. et al. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. **Science**, v. 269, p. 546-549.

CARCIOFI, A. C. et al. A weight loss protocol and owners participation in the treatment of canine obesity. **Ciência Rural**, v. 35, p. 1331-1338, 2005.

CARCIOFI, A. C. et al. Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 92, p. 326-336, 2008.

CASE, L. P.; CAREY, D. P.; HIRAKAWA, D. A. Desenvolvimento e tratamento da obesidade. In: CASE, L. P.; CAREY, D. P.; HIRAKAWA, D. A. **Nutrição Canina e Felina**: manual para profissionais. Harcourt: Brace, 1998. p. 247-268.

CATCHPOLE, B. et al. Canine diabetes mellitus: can old dogs teach us new tricks? **Diabetologia**, v. 48, p. 1948-1956, 2005.

CENTER, S. Obesity prevention. **Pet Food Industry**, v. 45, p.12-17, 2003.

CHIKAMUNE, T. et al. Serum lipid and lipoprotein concentrations in obese dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 57, p. 595–598, 1995.

Childhood obesity: an emerging public-health problem. **Lancet**, 357, 2001.

CHOPRA, M.; GALBRAITH, S. D. H. A global response to a global problem: the epidemic of overnutrition. **Bulletin World of Health Organization**, v. 80, p. 952-958, 2002.

CONSIDINE, R. V. et al. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **New England Journal of Medicine**, v. 334, p. 292-295, 1996.

DEFRETIN-LEGRAND, V. Energy requirements of cats and dogs- what goes wrong? **International Journal of Obesity**, v. 18, p. 8-13, 1994.

DEFRONZO, R. A.; TOBIN, J. D.; ANDRES, R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. **American Journal of Physiology and Endocrinology Metabolism**, v. 237, p. E214 - E223, 1979.

DIEZ, M.; NGUYEN, P. Obesity: Epidemiology, Pathophysiology and Management of the Obese Dog. In: PIBOT, P.; BOURGE, V.; ELLIOTT, D. A. **Encyclopedia of Canine Clinical Nutrition**. Airmargues: Diffo Print, 2006, p. 2-57.

DIEZ, M. et al. Evolution of blood parameters in experimental obese beagle dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, p. 166-171, 2004.

FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W. Diabetes Mellitus In: _____ **Canine and Feline Endocrinology and Reproduction**. 3 ed., Philadelphia: Saunders, 2004. p. 339-391.

FERRIER, L. et al. Evaluation of body composition in dogs by isotopic dilution using a low-cost technique, Fourier-transform infrared spectroscopy. **Journal of Nutrition**, v.132, p.1725S-1727S, 2002.

FONSECA-ALANIZ, M. H. et al. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 50, p. 216-229, 2006.

FETTMAN, M. J. Effects of weight gain and loss on metabolic rate, glucose tolerance, and serum lipids in domestic cats. **Research in Veterinary Science**, v. 64, p. 11-16, 1998.

FETTMAN, M. J. et al. Effects of neutering on bodyweight, metabolic rate and glucose tolerance of domestic cats. **Research in Veterinary Science**, v. 62, p. 131-136, 1997.

FRIED, S. K. et al. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 83, p. 847-50, 1998.

FRIEDMAN, J. M. A war on obesity, not the obese. **Science**, v. 299, p. 856, 2003.

GAYET, C. et al. Insulin resistance and changes in plasma concentration of TNF, IGF1, and NEFA in dogs during weight gain and obesity. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 88, p. 157-165, 2004.

GAYET, C. et al. The effects of obesity-associated insulin resistance on mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptor- γ target genes, in dogs. **British Journal of Nutrition**, v. 98, p. 497-503, 2007.

GELONEZE, B.; TAMBASCIA, M. A. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**. v. 50, p. 208 – 215, 2006.

GERMAN, A. J. The Growing Problem of Obesity in Dogs and Cats. **Journal of Nutrition**, v.136, p.1940S–1946S, 2006.

GERMAN, A. J. et al. Dietary energy restriction and successful weight loss in obese client-owned dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 1174-1180, 2007.

GERMAN, A. J. et al. Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 27, p. 214-226, 2009.

GIBSON, G. J. Obesity: respiratory function and breathlessness. **Thorax**, v. 55 (1), p. 541-544, 2000.

GRECO, D. S. Life is shorter, if you eat desert first: clinical implications of the purina 448 study. In :**THE PURINA PET INSTITUTE SYMPOSIUM**. 2002, St. Louis: Nestlé Purina.

GRUMMER-STRAWN, L. et al. Obesity in women from developing countries. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, p.247-252, 2000.

GUIMARÃES, D. E. D. et al. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. **Revista de Nutrição**, v. 20(5), p. 549-559, 2007.

HALAKA, K. et al. Effect of weight loss and body position on pulmonary function and gas exchange abnormalities in morbid obesity. **Internal Journal of Obesity**, v. 19, p. 343-346, 1995.

HAUNER, H. The new concept of adipose tissue function. **Physiology Behavior**, v. 83, p. 653-658, 2004.

HAVEL, P. J. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. **Diabetes**, v. 53 (Sup. 1), p. S143-151, 2004.

HENDRICKS, J. C. Brachycephalic airway syndrome. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 22, p. 145-1153, 1992.

HESS, R. S. et al. Association between diabetes mellitus, hypothyroidism or hyperadrenocorticism, and atherosclerosis in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.17, p.489-494, 2003.

HOENIG, M. et al. Influence of glucose dosage on interpretation of intravenous glucose tolerance tests in lean and obese cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, p. 529-532, 2002.

IMPELIZZERI, J. A. et al. Effect of weight reduction on clinical signs of lameness in dogs with hip osteoarthritis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 216, p. 1089-1091, 2000.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatístico (IBGE). Obesidade em notícia. Disponível em <http://www.abeso.org.br/noticias_2004.htm>. Acesso em 31 de agosto de 2005.

ISHIOKA, K. et al. Experimental and clinical studies on plasma leptin in obese dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 64, p. 349-353, 2002.

IWASE, M. et al. Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay of canine leptin. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 62, p. 207-209, 2000.

JERICÓ, M. M; SCHEFFER, K. C. Aspectos epidemiológicos dos cães obesos na cidade de São Paulo. **Clínica Veterinária**, v. 37, p. 25-29, 2002.

JEUSETTE, I. C. et al. Influence of obesity on plasma lipid and lipoprotein concentrations in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, p. 81–86, 2005.

JEUSETTE, I. C. et al. Effects of chronic obesity and weight loss on plasma ghrelin and leptin concentrations in dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 79, p. 169-175, 2005.

JOHNSON, M. C. Hyperlipidemia Disorders in Dogs. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 27, p. 361-370, 2005.

JOHNSON, M. M.; PETERS, J.P. Technical note: an improved method to quantify nonesterified fatty acids in bovine plasma. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 753-756, 1993.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. K.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 5 ed., New York: Elsevier, 1997, p. 177- 208.

KEALY, R. D. et al. Five-year longitudinal study on limited food consumption and development of osteoarthritis in coxofemoral joints of dogs. **Journal of the American Veterinary Association**, v. 210, p. 222-225, 1997.

KEALY, R. D. et al. Evaluation of the effect of limited food consumption on radiographic evidence of osteoarthritis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 217, p. 1678-1680, 2000.

KIENZLE, E.; BERGLER, R.; MANDERNACH, A. A comparison of the feeding behavior and the human-animal relationship in owners of normal and obese dogs. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 2779S-2782S, 1998.

KIRK, C. A. et al. Diagnosis of naturally acquired type-I and type-II diabetes mellitus in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, p. 463-467, 1993.

LAFLAMME, D. P. Understanding and Managing Obesity in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of the North America**, v. 36, p. 1283–1295, 2006.

LAFLAMME, D. P. et al. Evaluation of weight loss protocols for dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 33, p. 253-259, 1997.

LAFLAMME, D. P.; KUHLMAN, G. The effect of weight loss regime on subsequent weight maintenance in dogs. **Nutrition Research**, v. 15, p. 1019-1028, 1995.

LAFHAMME, D. P. Comparison of adipokine concentrations and markers of inflammation in obese versus lean dogs. **International Journal of Applied Research Veterinary Medical**, v. 7, p. 196-205, 2009.

LARSON, B. T. et al. Improved glucose tolerance with lifetime diet restriction favorably affects disease and survival in dogs. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 2887S -2892S, 2003.

LEWIS, L. D.; MORRIS, M. L.; HAND, M. S. Obesity. In: LEWIS, L. D.; MORRIS, M. L.; HAND, M. S. **Small Animal Clinical Nutrition III**. Kansas: Mark Morris Institute, 1994. v. 6, p. 1-39.

LINK, K. R.; RAND, J. S. Reference values for glucose tolerance and glucose tolerance status in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, p. 492-496, 1998.

LUKASKI, H. C. et al. Validation of tetrapolar bioelectric impedance method to assess human body composition. **Journal of Applied Physiology**, v. 60, p. 1327-1332, 1986.

LUND, E. M. et al. Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US Veterinary Practices. **International Journal of Applied Research Veterinary Medical**, v. 4, p. 177-186, 2006.

MAFFEI, M. et al. Leptin levels in humans and rodents: measurement of plasma leptin and *ob* RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nature Medicine**, v. 1, p. 1155-1161, 1995.

MARKWELL, P. J.; EDNEY, A. T. B. The obese animal. In: WILLS, J., KELLY, N. **Manual of Companion Animal Nutrition & Feeding**. Cheltenham: BSAVA, 2000. p. 108-115.

MARKWELL, P. J.; BUTTERWICK, R. F. Obesity. In: WILLS, J. M.; SIMPSON, K. W. **The waltham book of clinical nutrition of the dog & cat**. Oxford: Pergamon, 1994. p. 131-148.

MARTIN, L. et al. Leptin, body fat content and energy expenditure in intact and gonadectomized adult cats: a preliminary study. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 85, p. 189 – 194, 2001.

MATTHEEUWS, D. et al. Glucose tolerance and insulin response in obese dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 20, p. 287-293, 1984a.

MATTHEEUWS, D. et al. Diabetes mellitus in dogs: relationship of obesity to glucose tolerance and insulin response. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, p. 98-103, 1984b.

McCRORY, M. A. et. al. Dietary determination of energy intake and weight regulation in healthy adults. **Journal of Nutrition**, v. 130, suppl.2, p. 276S-279S, 2000.

McGREEVY, P. D. et al. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian Veterinary Practices and the risk factors involved. **Veterinary Records**, v. 156, p. 695-702, 2005.

MONTEIRO, J. B. R. **Curso de atualização em obesidade**: do seu aparecimento ao seu controle nutricional. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999, 78p.

MUNDAY, H. S. Assessment of body composition in cats and dogs. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 18, Suppl.1, p. S14-21, 1994.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, NRC. **Nutrient requirements of dogs**. Washington: National Academy Press, 2006, 398p.

NELSON, R. W. et al. Glucose tolerance and insulin response in normal weight and obese cats. **American Journal Veterinary Research**, v. 51, p. 1357-1361, 1990.

NELSON, R. W. Disorders of the endocrine pancreas. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Small Animal Internal Medicine**, 3 ed., Missouri: Mosby, 2003, p. 729-777.

NOGOGAKI, K. et al. Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. **Endocrinology**, v. 136, p. 2143-2149, 1995.

NORRIS, M. P.; BEAVER, B. V. Application of behavior therapy techniques to the treatment of obesity in companion animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, p. 728-730, 1993.

OLSON, A. L.; ZWILLICH, C. The obesity hypoventilation syndrome. **The American Journal of Medicine**, v. 118, p. 948-056, 2005.

PACE, N.; RATHBUN, E. N. The body water and chemically combined nitrogen content in relation to fat content. **Journal of Biological Chemistry**, v. 158, p. 685-691, 1945.

PANCIERA, D. L. et al. Epizootiologic patterns of diabetes mellitus in cats: 333 cases (1980-1986). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 197, p. 1504-1508, 1990.

PEREIRA NETO, G. B. Efeitos da correção da obesidade sobre os parâmetros cardiorrespiratórios em cães. 2009, 115f. **Tese (Doutorado em Clínica Médica Veterinária)** – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

PEREIRA NETO, G. B. et al. Effects of weight loss on the cardiac parameters of obese dogs. **Brazilian Veterinary Research**, v. 30, p. 167-171, 2010.

PEREIRA NETO, G. B.; CAMACHO, A. A. Alteraciones cardiovasculares debidas a obesidad en perros. In: BELERENIAN, G; MUCHA, C. J; CAMACHO, A. A.; GRAU, J. M. **Afecciones Cardiovasculares en Pequeños Animales**. 2ed. Buenos Aires:Inter-médica, p. 303-308, 2007.

PI-SUNYER, X. A clinical view of the obesity problem. **Science**, v. 299, p. 859-860, 2003.

POND, W. G., CHURCH, D. C., POND, K. R. **Basic Animal Nutrition and Feeding**. 4. ed. John Wiley, New York, 1995.

RAND, J. S. et al. Canine and feline diabetes mellitus: nature or nurture? **Journal of Nutrition**, v. 34, p. 2072S-2080S, 2004.

ROCCHINI, A. P. et. al. Pathogenesis of weight – related changes in blood pressure in dogs. **Hypertension**, v. 13, p. 922-928, 1989.

SCHENCK, P. Canine hyperlipidemia: causes and nutritional management. In: PIBOT, P.; BIOURGE, V.; ELLIOTT, D. A. **Encyclopedia of Canine Clinical Nutrition**. Airmargues: Diffo Print, 2006, p. 222-250.

RAND, J. S. et al. Canine and feline diabetes mellitus: nature or nurture. **Journal of nutrition**, v. 134, p. 2072S-2080S, 2004.

SCHLOTZHAUER, S.; LITTELL, R.C. **SAS System for Elementary Statistical Analysis**. 2nd ed. Cary: Sas institute. 1997. p. 456.

SCHOELLER, D. A. et al. Total body water measurements in humans with ¹⁸O and ²H labeled water. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 33, p. 2686-2693, 1980.

VASCONCELLOS, R. S. et al. Protein intake during weight loss influences the energy required for weight loss and maintenance in cats. **Journal of Nutrition**. v.139, p. 855–860, 2009.

GONÇALVES, K. N. V. Efeito do tratamento da obesidade sobre a glicemia e insulinemia de gatos. 2006, 85f. **Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária)** – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

XENOULIS, P. G.; STEINER, J. M. Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs. **Veterinary Journal**. (prelo). 2009.

ZAR, J. H. Multiple comparisons. In: ZAR, J. H. (Ed) **Bioestatistical Analysis**. 4 ed. Prentice Hall: New Jersey, 1999, p. 663.

ZICKER, S. C.; FORD, R. B.; NELSON, R. W. Endocrine and lipid disorders. In: HAND, M. S.; THATCHER, C. D.; REMILLARD, R. L. **Pocket Companion to Small Animal Clinical Nutrition**. Topeka: Mark Morris Institute, 2000, p. 762.


WHITE, R. A. S.; WILLIAMS, J. M. Tracheal collapse in the dog – is there really a role for surgery? A survey 100 cases. **Journal of Small Animal Practice**, v. 34, p. 191-196, 1994.

WHITNEY, M. S. Evaluation of hyperlipidemias in dogs and cats. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery**, v. 7, p. 292-300, 1992.

8. APÊNDICES

Apêndice 1: Escala de classificação do escore de condição corporal empregada no estudo.

BODY CONDITION SYSTEM

TOO THIN	1	Ribs, lumbar vertebrae, pelvic bones and all bony prominences evident from a distance. No discernible body fat. Obvious loss of muscle mass.		
	2	Ribs, lumbar vertebrae and pelvic bones easily visible. No palpable fat. Some evidence of other bony prominence. Minimal loss of muscle mass.		
	3	Ribs easily palpated and may be visible with no palpable fat. Tops of lumbar vertebrae visible. Pelvic bones becoming prominent. Obvious waist and abdominal tuck.	 	
IDEAL	4	Ribs easily palpable, with minimal fat covering. Waist easily noted, viewed from above. Abdominal tuck evident.	 	
	5	Ribs palpable without excess fat covering. Waist observed behind ribs when viewed from above. Abdomen tucked up when viewed from side.		
TOO HEAVY	6	Ribs palpable with slight excess fat covering. Waist is discernible viewed from above but is not prominent. Abdominal tuck apparent.	 	
	7	Ribs palpable with difficulty; heavy fat cover. Noticeable fat deposits over lumbar area and base of tail. Waist absent or barely visible. Abdominal tuck may be present.		
	8	Ribs not palpable under very heavy fat cover, or palpable only with significant pressure. Heavy fat deposits over lumbar area and base of tail. Waist absent. No abdominal tuck. Obvious abdominal distention may be present.		
	9	Massive fat deposits over thorax, spine and base of tail. Waist and abdominal tuck absent. Fat deposits on neck and limbs. Obvious abdominal distention.		


The **BODY CONDITION SYSTEM** was developed at the Nestlé Purina Pet Care Center and has been validated as documented in the following publications:

Mawby D, Bartges JW, Moyers T, et. al. *Comparison of body fat estimates by dual-energy x-ray absorptiometry and deuterium oxide dilution in client owned dogs.* *Compendium* 2001; 23 (9A): 70

Laflamme DP. *Development and Validation of a Body Condition Score System for Dogs.* *Canine Practice* July/August 1997; 22:10-15

Kealy, et. al. *Effects of Diet Restriction on Life Span and Age-Related Changes in Dogs.* *JAVMA* 2002; 220:1315-1320

Call 1-800-222-VETS (8387), weekdays, 8:00 a.m. to 4:30 p.m. CT

 Nestlé PURINA

Fonte: Laflamme, D. P. (1997).

Apêndice 2: Valores de hemograma encontrados nos grupos experimentais obesos (G1) e controle (G3) no início do estudo.

Animais	He (μL)	Le (μL)	Hb g/dL	Ht (%)	Contagem diferencial							
					BAS	EOS	MIE	MET	NB	NS	LINF	MON
Grupo Obeso (G1)												
1	$6,75 \times 10^6$	$6,0 \times 10^3$	16,6	47	0	10	-	-	3	69	17	1
2	$7,38 \times 10^6$	$9,8 \times 10^3$	23,9	54	0	11	-	-	3	42	43	1
3	$7,30 \times 10^6$	$6,5 \times 10^3$	17,5	48	0	3	-	-	1	76	20	0
4	$7,74 \times 10^6$	$7,3 \times 10^3$	19,4	55	0	4	-	-	5	73	16	2
5	$6,84 \times 10^6$	$6,1 \times 10^3$	15,6	45	0	2	-	-	0	81	17	0
6	$7,28 \times 10^6$	$6,2 \times 10^3$	17,8	49	0	2	-	-	1	51	46	0
7	$7,7 \times 10^6$	$9,1 \times 10^3$	17,4	45	0	0	-	-	3	89	8	0
8	$6,7 \times 10^6$	$8,7 \times 10^3$	14,4	42,3	0	4	-	-	1	65	28	2
9	$6,7 \times 10^6$	$8,3 \times 10^3$	15,6	44,5	0	1	-	-	2	91	6	0
10	$6,9 \times 10^6$	$9,4 \times 10^3$	16,1	46,4	2	6	-	-	1	41	50	0
Grupo controle (G3)												
1	$6,0 \times 10^6$	$5,2 \times 10^3$	16,2	47	0	5	-	-	3	73	19	0
2	$6,1 \times 10^6$	$6,6 \times 10^3$	16,2	44	0	2	-	-	1	75	21	1
3	$6,4 \times 10^6$	$6,6 \times 10^3$	16,7	48	0	5	-	-	5	67	22	1
4	$5,6 \times 10^6$	$9,1 \times 10^3$	15	40	0	4	-	-	3	75	18	0
5	$7,2 \times 10^6$	$6,7 \times 10^3$	18	50	0	4	-	-	1	67	28	0
6	$7,6 \times 10^6$	$6,7 \times 10^3$	18	55	0	2	-	-	2	62	34	0
7	$6,1 \times 10^6$	$6,3 \times 10^3$	15	43	0	0	-	-	4	70	22	1
8	$6,4 \times 10^6$	$6,3 \times 10^3$	16	46	0	2	-	-	1	69	28	0
9	$6,7 \times 10^6$	$7,2 \times 10^3$	17	48	0	5	-	-	6	77	11	1
10	$6,6 \times 10^6$	$7,8 \times 10^3$	14,9	42,3	0	2	-	-	6	63	29	0

He= Hemácias; Le= Leucócitos; Hb= Hemoglobina; Ht= Hematócrito; BAS= Basófilos; EOS= Eosinófilos; MIE= Mielócitos; MET= Metamielócitos; NB= Neutrófilos Bastonados; NS= Neutrófilos Segmentados; LINF= Linfócitos; MON= Monócitos.

Apêndice 3: Valores dos exames bioquímicos encontrados nos grupos experimentais obesos (G1) e controle (G3) no início do estudo.

Exames bioquímicos													
	ALT	AST	CREA	FA	URÉIA	COL	PROT	ALB	GGT	BIL.D	BIL.T	TRIG	HDL
Grupo Obeso (G1)													
1	83,81	36,67	1,21	41,40	11,33	482,85	7,50	3,30	15,3	0,10	0,28	35,09	198,0
2	31,43	41,90	0,73	49,70	15,33	319,00	8,25	3,10	7,65	0,07	0,17	101,7	197,0
3	41,90	26,19	1,05	33,10	10,66	151,70	8,35	3,10	7,65	0,10	0,17	65,96	137,0
4	57,62	31,43	0,84	49,80	11,33	486,50	8,20	3,80	7,65	0,10	0,17	118,6	201,0
5	41,9	36,67	0,84	99,50	16,66	273,35	7,80	2,96	7,65	0,20	0,23	50,53	176,0
6	47,14	47,14	1,15	33,10	11,33	135,25	6,60	2,96	7,65	0,07	0,23	41,40	126,0
7	26,19	26,19	1,47	49,70	11,33	338,80	6,90	3,16	7,65	0,15	0,23	65,26	178,0
8	15,71	15,71	1,05	58,00	24,00	214,60	7,70	3,31	7,65	0,10	0,15	87,72	145,0
9	68,00	47,14	1,05	33,10	14,66	318,20	8,10	3,33	7,65	0,10	0,13	35,09	145,0
10	47,00	31,43	0,94	24,80	13,33	334,10	7,70	3,28	7,65	0,15	0,17	61,05	152,0
Grupo controle (G3)													
1	36,67	31,43	0,78	107,8	8,66	192,8	6,45	2,96	7,65	0,07	0,10	28,77	164,0
2	73,00	31,43	0,84	49,70	17,33	242,0	6,90	2,47	7,65	0,07	0,10	37,89	123,0
3	47,00	36,67	0,64	49,70	18,66	332,5	7,30	2,92	7,65	0,13	0,20	51,23	156,0
4	26,00	31,43	0,57	33,10	15,33	192,8	7,30	3,04	7,65	0,10	0,18	37,89	90,0
5	47,00	47,14	0,94	82,90	15,33	360,2	6,70	3,09	7,65	0,10	0,21	39,30	157,0
6	52,00	52,38	0,84	82,90	22,00	464,0	8,10	2,20	7,65	0,17	0,17	61,05	152,0
7	20,95	36,67	0,84	107,8	16,00	305,0	7,00	2,92	7,65	0,15	0,18	40,70	151,0
8	52,38	31,43	1,21	49,75	23,33	250,5	6,70	2,86	7,65	0,07	0,21	35,79	133,0
9	41,90	41,90	1,05	82,92	20,00	263,0	6,70	2,71	7,65	0,07	0,18	39,30	137,0
10	31,43	20,95	0,68	199,0	13,33	395,5	7,20	3,05	7,65	0,07	0,23	46,31	178,0

ALT= Alaninaaminotransferase; AST= aspartatoaminotransferase; CREA= Creatinina; FA= Fosfatase alcalina; COL= Colesterol total; PROT= Proteína total; ALB= Albumina; GGT= Gama-glutamilttransferase; BIL.D= Bilirrubina direta; BIL.T= Bilirrubina total; TRIG= Triglicérides totais.